

# La biologie moléculaire dans les cancers du larynx est-elle prédictive ?



S. BENYAHIA, S. AHNIA,  
Y. IKHLEF, F. CHETTIBI,  
D. DJENNAOUI,  
Service ORL et CCF,  
CHU Mustapha Bacha, Alger

## Résumé

L'identification de biomarqueurs fiables et utiles au diagnostic, au suivi et au traitement des cancers des VADS constitue un axe de recherche indispensable pour améliorer le pronostic des patients. Les critères histopathologiques et cliniques, paraissent insuffisants pour poser l'indication d'une radiothérapie post opératoire ou pour détecter une récurrence. D'où l'intérêt des biomarqueurs dans les cancers des VADS. Dans la littérature, plusieurs marqueurs pronostiques potentiels ont été identifiés, mais aucun n'a encore été validé en pratique clinique. **Matériel et méthode :** C'est une étude rétrospective concernant 40 cas de néoplasie du larynx et du pharyngo-larynx survenus durant une période d'étude de 4 ans allant de Janvier 2012 à Décembre 2015, pris en charge dans le cadre d'un protocole de préservation d'organe type TPF à raison de 03 cures de chimiothérapie, suivies de radiothérapie potentialisée pour les bons répondeurs. **Résultat :** la recherche du HPV par PCR a été faite chez nos 40 patients, et elle a été négative dans 100% des cas. Pour l'EGFR ; on note l'absence de marqueurs dans 8,1% des biopsies analysées en IHC, dans 32,4 % des cas on retrouve une intensité très forte, et dans 59,4 % des cas, on note une faible intensité. La recherche de la protéine p53 a été effectuée chez tous nos patients, on a retrouvé une très forte intensité dans 40,5 % des cas ; 21,7 % avec une très faible intensité et une absence de protéines dans 37.8 % des cas. **Conclusion :** Même si la recherche est encore active pour identifier des biomarqueurs utiles pour la prise en charge des cancers du larynx, les résultats de celle-ci restent décevants en dehors des thérapeutiques d'immunothérapie qui sont des traitements émergents dont les résultats demandent à être confirmés.

### >>> Mots-clés :

Biologie moléculaire, HPV, EGFR, protéine P53, tumeur du pharyngo-larynx.

## Abstract

The identification of reliable biomarkers that are useful for diagnosing, monitoring and treating cancers of VADS is an essential research axis to improve the prognosis of patients. The histopathological and clinical criteria appear to be insufficient to suggest radiotherapy postoperatively or to detect recurrence. Hence the interest of biomarkers in cancers of VADS. In the literature, several potential prognostic markers have been identified, but none has yet been validated in clinical practice. **Material and Method :** This is a retrospective study of 40 cases of laryngeal and pharyngeal laryngeal neoplasia during a 4-year study period from January 2012 to December 2015, supported as part of a protocol TPF type organ preservation at the rate of 03 courses of chemotherapy followed by potentiated radiotherapy for good responders. **Results :** HPV PCR testing was done in our 40 patients and was negative in 100 % of cases. For EGFR; the absence of markers in 8.1% of the biopsies analyzed in IHC, in 32.4 % of the cases we find a very strong intensity, and in 59.4 % of the cases we note a low intensity. The search for the p53 protein was done in all 40 patients, we found a very high intensity in 40.5 % of cases ; 21.7 % with very low intensity and no protein in 37.8% of cases. **Conclusion :** Although research is still active to identify biomarkers that are useful for the management of laryngeal cancers, the results of this research remain disappointing, apart from immunotherapy therapeutics, which are emerging treatments whose results require to be confirmed.

### >>> Key-words :

Molecular biology, HPV, EGFR, P53 protein, pharyngolaryngeal tumor.

## Introduction :

L'identification de biomarqueurs fiables et utiles au diagnostic, au suivi et au traitement des cancers des VADS constitue un axe de recherche indispensable pour améliorer le pronostic des patients.

Contrairement à d'autres cancers comme la prostate (dosage des PSA) [1], le cancer du côlon (dosage ACE) [2], il n'existe aucun biomarqueur pour le diagnostic et le suivi des cancers des VADS.

Même si l'on obtient 80 % de réponses objectives chez des patients traités par chimiothérapie, seuls 45% sont répondeurs complets, soit plus d'un malade sur deux n'est pas traité de façon optimale (Faivre et Teman 2004) [3].

Les critères histopathologiques pris isolément, paraissent insuffisants pour poser l'indication d'une radiothérapie post opératoire ; en cas de radiothérapie post opératoire, quel type de traitement doit être proposé au patient ? Quels territoires traiter et à quelles doses ? Faut-il y associer une chimiothérapie ? La clinique et l'analyse histopathologique permettent de répondre partiellement à ces questions. D'où l'intérêt des biomarqueurs dans les cancers des VADS [4].

De nombreux marqueurs biologiques corrélés au stade tumoral, au degré de différenciation tumorale, à l'envahissement ganglionnaire et à la présence de métastases viscérales sont identifiés dans la littérature [5].

## Méthode :

C'est une étude rétrospective concernant 40 cas de néoplasie du larynx et du pharyngo-larynx survenus durant une période d'étude de 4 ans allant de Janvier 2012 à Décembre 2015, traités au service ORL et CCF du centre hospitalo-universitaire du CHU Mustapha Bacha.

Notre étude a inclus tous les patients pris en charge dans le cadre d'un protocole de préservation d'organe type TPF à raison de 03 cures de chimiothérapie, suivies de radiothérapie potentialisée pour les bons répondeurs.

**Méthodologie :** Les patients ont été suivis à la consultation par un examen clinique, nasofibroscope et radiologique. Pour une meilleure analyse des dossiers des malades, nous avons mis au point une fiche d'exploitation permettant l'étude de :

- Facteurs de risque ;
- Type histologique ;
- Marqueurs biologiques recherchés ;
- Résultat.

## Résultat et analyse :

### a. Facteurs de risques :

Notre étude se porte sur les cas recensés durant une période de 4 ans ce qui nous permet de constater une nette prédominance masculine, soit 37 hommes pour 3 femmes. Nous avons constaté que sur les 40 patients recensés, 24 d'entre eux étaient tabagiques contre 16 non-fumeurs ; nous avons également rapporté 23 cas d'anciennes intoxications à l'alcool, un seul patient consommait encore de l'alcool au moment du diagnostic, et 16 personnes n'ont jamais été exposés à l'alcool.

Terrain	Effectif
Tabac + alcool	20
Tabac sans alcool	6
Alcool sans tabac	1
Pas de tabac / Pas d'alcool	13

Tableau 1 : facteurs de risque (alcool + tabac)

### b. Type histologique :

Nous avons retrouvé 21 cas de carcinome bien différencié, 16 cas de carcinome moyennement différencié, et 03 carcinomes peu différenciés.

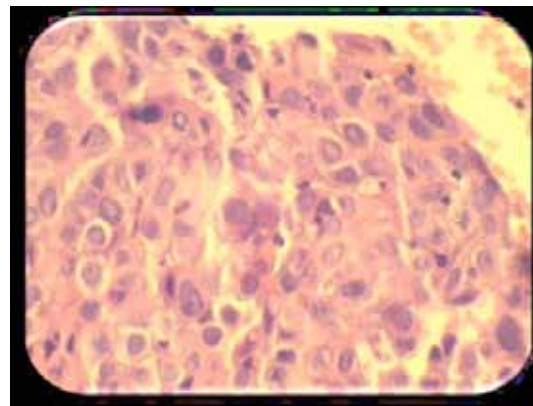


Figure 1 : HE ; carcinome épidermoïde bien différencié

### c. Marqueurs biologiques :

- **HPV** : La recherche du HPV par PCR a été faite chez nos 40 patients et elle a été négative dans 100 % des cas.
- **EGFR** : Absence de marqueurs dans 8,1% des biopsies analysées en IHC ; dans 32,4 % des cas on retrouve une intensité très forte, et dans 59,4 % des cas on note une faible intensité.
- **Protéine p53** : La recherche de la protéine p53 a été effectuée chez tous nos patients, on a retrouvé une très

forte intensité dans 40,5 % des cas ; 21.7 % avec une très faible intensité et une absence de protéines dans 37.8 % des cas.

### Discussion :

Malgré une surveillance clinique rapprochée et l'éducation des patients sur les signes fonctionnels d'alerte que représentent l'odynophagie, l'otalgie réflexe, la dysphonie, le diagnostic est fait à un stade tardif (stades III, IV) (Sjögren EV, 2006151)<sup>[6]</sup> ; et le nombre de rechutes de la maladie ou de second cancer reste élevé (recommandations pour le suivi des patients pour un cancer des VADS).

Pour une population donnée, les oncologues ORL savent que deux patients ayant une tumeur avec un stade clinique traité de la même façon peuvent avoir une évolution et donc un pronostic radicalement opposé : l'un évolue favorablement et l'autre non. La clinique seule est incapable d'établir un pronostic pour chaque patient.

Partant de ces constatations certaines équipes, dont la nôtre, se sont tournées vers la biologie, d'abord pour mieux comprendre la cancérogenèse des cancers des VADS, puis rechercher un ou plusieurs marqueurs biologiques qui puissent être utilisés pour :

- Le dépistage des rechutes tumorales ou des seconds cancers ;
- Prédire la réponse à un traitement tel que la chimiothérapie ;
- Établir un pronostic en matière de cancérogenèse des cancers des VADS.

Deux grands types de modifications ont été identifiés à l'échelon cellulaire. Ce sont les modifications génétiques et les altérations épigénétiques<sup>[7]</sup>.

Depuis une dizaine d'années, l'épigénétique des cancers quelle que soit leur nature, suscite un intérêt grandissant auprès de la communauté scientifique et médicale. Un tel engouement pour cette thématique est lié à la mise en évidence d'une corrélation étroite entre des modifications épigénétiques telles que la méthylation de l'ADN et l'inactivation des gènes suppresseurs de tumeur, qui conduit à un processus de tumorigénèse comparable à celui induit par les modifications génétiques. Leur mise en évidence fait appel à des techniques : de biologie moléculaire nécessitant l'extraction d'ADN ou d'ARN du tissu tumoral, d'hybridation in situ.

L'ensemble des anomalies impliquées dans la cancérogenèse représentent des marqueurs moléculaires ou bio-marqueurs pour les cancers des VADS. Ces biomarqueurs

doivent être utilisables pour les patients et par des cliniciens à une grande échelle.

Dans la littérature, plusieurs marqueurs pronostiques potentiels ont été identifiés, mais aucun n'a encore été validé en pratique clinique.

En effet, le fait que ces marqueurs soient étudiés la plupart du temps séparément ; ne permet pas de connaître l'impact relatif de chaque marqueur dans le pronostic des cancers des VADS.

Toutefois, certains critères fondamentaux doivent être respectés avant de confirmer l'intérêt clinique d'un biomarqueur et donc de passer du stade de la recherche préclinique, au stade de l'application clinique quotidienne, c'est-à-dire utilisable pour les patients et par les cliniciens à une grande échelle.

Ces critères sont (Shin et al. 1994148 [8] ; Hammond & Taube. 2002149 [9] ; Westra & Califano. 2004150)<sup>[10]</sup> :

- La population étudiée doit correspondre à la population pour laquelle l'utilisation de ce biomarqueur a un intérêt clinique. Dans le cadre d'une étude des carcinomes des VADS, les modalités d'exposition aux toxiques (tabac et/ou alcool), les localisations tumorales, les stades cliniques des patients inclus doivent être représentatifs de la population à traiter.

- Le biomarqueur doit pouvoir être détecté à des stades précoces du développement tumoral.

- Les étapes du recueil et de stockage des prélèvements, comme les techniques biologiques pour étudier le biomarqueur doivent être parfaitement codifiées.

- Le biomarqueur doit pouvoir être mesuré de façon objective et reproductible à partir d'une quantité de matériel biologique la plus faible possible.

- La sensibilité de la technique d'étude du biomarqueur doit être bonne.

- Les informations obtenues avec le biomarqueur doivent être comparées, grâce à des analyses multivariées, aux connaissances cliniques et/ou biologiques déjà validées de la pathologie considérée. Pour cela, un nombre suffisant de patients doit être étudié.

La P53<sup>[11]</sup> est un facteur de transcription régulant certaines fonctions cellulaires importantes comme la mitose ou la mort programmée. Le gène codant pour la protéine p53 est inactivé dans la moitié des cancers chez l'homme. La protéine p53 est l'agent le plus important de la protection de la cellule contre la cancérisation. Les cellules chez lesquelles son gène est intact seront donc moins enclines à la cancérisation. Ceci permet d'affirmer que l'inactivation de p53 est un préalable indispensable à la cancérisation. Ceci explique qu'on observe des mutations de p53 dans plus de la moitié des cancers

humains. Les études d'épidémiologie moléculaire ont démontré de manière formelle que les altérations du gène p53 étaient dues à l'exposition à des carcinogènes dans les cas de cancers bronchiques (tabac), cancer de la peau (rayons UV) ou cancer du foie (alcool).

Il est maintenant bien établi que les mutations du gène TP53 et les altérations de la fonction de la protéine p53, sont des événements très précoces dans la cancérogenèse des carcinomes des VADS (Califano et al. 1996 ; Califano et al. 2000).

Parmi les facteurs de croissance impliqués également dans la cancérogenèse des carcinomes des VADS, citons les *Fibroblast Growth Factor* 3 et 4, FGF3 (INT2) et FGF4 (HSTF1) surexprimés suite à l'amplification de la région chromosomique 11q13 qui porte ces 2 gènes (Muller et al. 1994 ; Wang et al. 1999 ; Roh et al. 2000). Les facteurs EGF (*Epidermal Growth Factor*) et TGF $\alpha$  (*Tumor Growth Factor cc*) sont eux aussi impliqués et ce, dès les stades précoces de la cancérogenèse (Grandis & Twardy., 1993).

La mise en évidence d'HER1 peut s'appuyer sur des techniques immuno-histochimiques simples et reproductibles dont les critères de prédictibilité restent à définir. La surexpression de l'EGFR n'a pas été un facteur majeur ni significatif de mauvais résultats, 37 % des larynx en mauvais état sur-exprimaient l'EGFR [12].

La relation entre le virus HPV et la pathologie cancéreuse a été connue depuis presque un siècle mais c'est seulement dans les 3 dernières décennies que son activité oncogénique potentielle a été reconnue dans la littérature.

L'HPV + dans les cancers oro-pharyngés est actuellement corrélé avec un bien meilleur pronostic par rapport à ceux où L'HPV est -, sur le plan épidémiologique les patients HPV + sont plus jeunes sans antécédents alcool-tabagiques avec un bon pronostic. L'HPV est retrouvé dans plus de 50 à 80 %, dans les localisations oro-pharyngées et cavité buccale. Au niveau du larynx, il est retrouvé dans 0 à 85 % sans impact pronostic .

L'association infection HPV et cancer du larynx a été prouvée [13]. Le type HPV le plus retrouvé était l'HPV 16 suivi de l'HPV 18, par rapport au cancer de l'oropharynx, il y a une grande diversité de typage dans le cancer du larynx. Duray a démontré que la charge virale de l'HPV 16 était significativement plus élevée dans le cancer du larynx que dans les lésions virales, cela signifie que l'HPV pilote l'infection et qu'il existe une cancérogenèse à médiation virale.

Le diagnostic de l'infection par l'HPV est entièrement basé sur la détection de l'ADN viral dans les échantillons de biopsie par la méthode PCR (*Polymerase Chain Reaction*), méthode très sensible qui peut identifier de très faibles charges virales.

Contrairement à d'autres localisations cancéreuses, on ne dispose pas actuellement pour les cancers des VADS de marqueurs biologiques ou thérapeutiques utilisables en pratique clinique [1]. Le rôle des HPV dans la survenue de certains de ces cancers des VADS et leur incidence pronostique fait donc émerger un marqueur pertinent.

L'analyse virologique de l'infection à HPV et les modifications de phénotypes moléculaires qui accompagnent cette infection oncogénique permettent d'envisager une classification des cancers et une meilleure adéquation des traitements. La surexpression de l'*epidermal growth factor receptor* (EGFR), fréquente dans les carcinomes des VADS est un facteur pronostique défavorable ; la combinaison d'une positivité HPV et d'une faible expression d'EGFR a été trouvée associée avec une meilleure survie globale et sans récurrence. Les patients HPV négatifs et avec surexpression de l'EGFR ont le moins bon pronostic global et spécifique. En ce qui concerne la p53 ; seule l'étude des mutations est susceptible d'avoir une valeur pronostique.

Actuellement, il n'existe pas de marqueur moléculaire unique qui soit sensible ou suffisamment spécifique pour justifier son utilisation seule comme prédictif d'une maladie cancéreuse laryngée.

Certains auteurs proposent une classification « clinique et biologique » des tumeurs des VADS pour identifier les tumeurs réellement HPV-HR induites, selon les paramètres suivants : une localisation anatomique précise, la présence d'ADN d'HPV-HR, l'âge et le statut alcool-tabagique des patients, un statut histologique peu différencié, une charge virale élevée (particulièrement pour l'HPV 16), avec l'absence de mutation dans TP53. Au total, tous ces paramètres sont associés à un meilleur pronostic incluant une meilleure survie et une apparition moindre de récurrences locales, dans les 20-25% des tumeurs des VADS citées. Mais des études longitudinales à large échelle sont maintenant nécessaires.

## Conclusion :

Au total, il apparaît que même si la recherche est encore active pour identifier des biomarqueurs utiles à nos cliniciens pour la prise en charge des cancers du larynx,

les résultats de celle-ci restent décevants en dehors des thérapies d'immunothérapie qui sont des traitements émergents dont les résultats demandent à être confirmés.

### Déclaration d'intérêts :

Aucun

### Date de soumission :

13 Février 2018

### Références :

1. Otto SJ, de Koning HJ. Update on screening and early detection of prostate cancer. *Curr Opin Urol* 2004; 14: 151-6.
2. Meyerhardt JA, Mayer RJ. Follow-up strategies after curative resection of colorectal cancer. *Semin Oncol* 2003; 30: 349-60.
3. Faivre S, Temam S. La chimiothérapie dans les cancers des voies aéro-digestives supérieures. Dans : Masson, ed. *Cancers des voies aéro-digestives supérieures. Données actuelles.* Marandas P. Paris : 2004, pp.57-66
4. Bernier J, Domenge C, Ozsahin M, et al. Postoperative irradiation with or without concomitant chemotherapy for locally advanced head

and neck cancer. *N Engl J Med* 2004; 350: 1945-52.

5. Lothaire P, de Azambuja E, Dequanter D, et al. Molecular markers of head and neck squamous cell carcinoma: promising signs in need of prospective evaluation. *Head Neck* 2006, 28: 256-69.
6. Sjögren EV. Epidemiology of head and neck squamous cell carcinoma. In Taylor & Francis, ed. *Prognosis in head and neck cancer.* Baatenburg de Jong RJ. London; 2006, pp 37-70.
7. Rubio Bueno P, Naval Gias L, Garcia Delgado R, Domingo Cebollada J, Diaz Gonzalez FJ. Tumor DNA content as a prognostic indicator in squamous cell carcinoma of the oral cavity and tongue base. *Head Neck* 1998; 20: 232-9.
8. Shin DM, Hittelman WN, Hong WK. Biomarkers in upper aerodigestive tract tumorigenesis: a review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1994; 3: 697-709.
9. Hammond ME, Taube SE. Issues and barriers to development of clinically useful tumor markers: a development pathway proposa. *Semin Oncol* 2002; 29: 213-21.
10. Westra WH, Califano J. Toward early oral cancer detection using gene expression profiling of saliva: a thoroughfare or dead end? *Clin Cancer res* 2004; 10: 8130-1.
11. Terry Van Dyke, New Eng J Med, p53 and tumor suppression, 2007;356:79-81
12. Penault-Llorca F, Sabourin JC. Le pathologiste et le REGF en 2004 : je t'aime moi non plus. *Ann Pathol* 2004 ; 24: 416-26.
13. Mariela C., Human papillomavirus infections in laryngeal cancer, Wiley Online Library, 2010.

## Courrier des lecteurs

# Réagissez à la Revue El-Hakim

Ceci est votre espace d'expression, votre avis nous intéresse.

Vous souhaiteriez réagir par rapport à l'un des articles de la revue, vous avez un avis à exprimer et vous voulez le partager avec d'autres lecteurs ? Merci d'adresser votre courrier à [redaction@el-hakim.net](mailto:redaction@el-hakim.net)

Merci également de bien vouloir respecter ces quelques recommandations : écrivez un texte court, adoptez une prise de position claire, mettez votre signature en bas de votre texte : nom, prénom, fonction / spécialité, localité, et si c'est le cas de toujours précisez à quel (s) article (s) précis ou publication (s) vous souhaitez réagir.

Merci également de noter que la rédaction de **El Hakim** se réserve le droit de ne pas publier les courriers qui ne seraient pas conformes à l'éthique professionnelle et au respect des personnes.