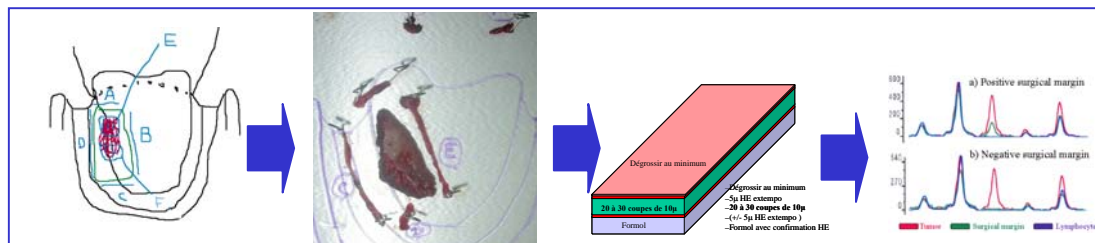


# Carcinomes épidermoïdes des VADS

## Analyse des marges de résection chirurgicales

Stéphane TEMAM  
Département de chirurgie cervico-faciale



# Récidive locale

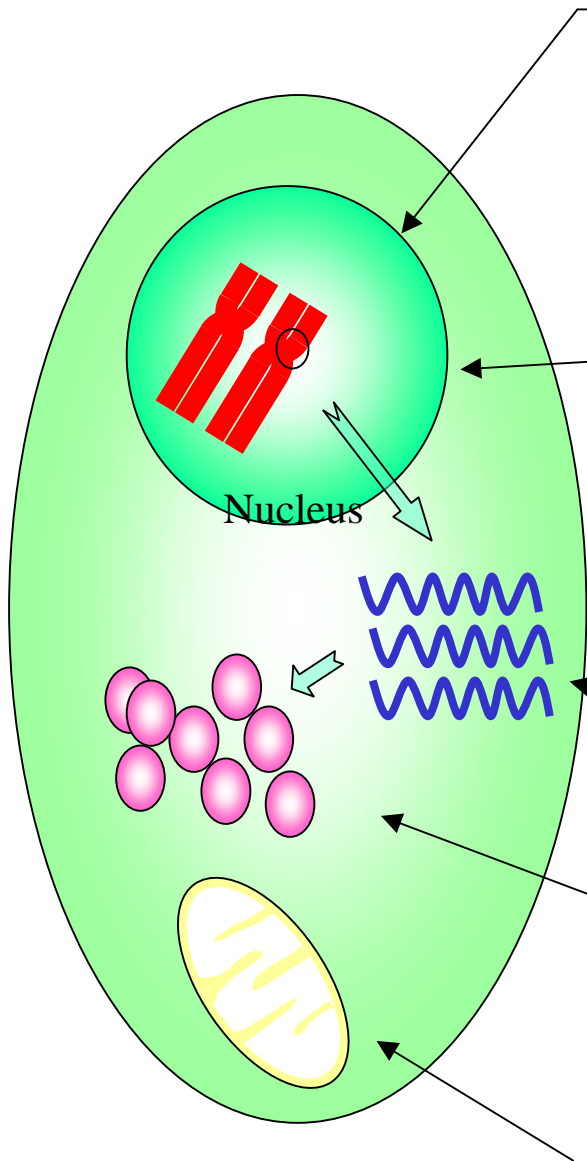
Pourquoi ?

alors que les évaluations  
chirurgicales et histologiques  
étaient favorables.

Apport de la biologie ?

# Préalable

1. Application des techniques chirurgicales permettant une exérèse large
2. Qualité et exhaustivité de l'analyse histologique macroscopique et microscopique standardisée.



## Chromosome

- Délétion d'un fragment
- Extension des télomères
- Translocation
- Anomalie de nombre

## ADN

- Mutations : p53
- Microsatellite (instabilité microsatellitaire et LOH)
- Hyperméthylation de promoteurs
- Séquence virale

## ARN

- Hyper/sous expression
- Mutations

## Protéines

- Modifications de la structure
- Modifications de l'activité, phosphorylation
- Quantité: hyper ou sous-expression

## Mitochondries

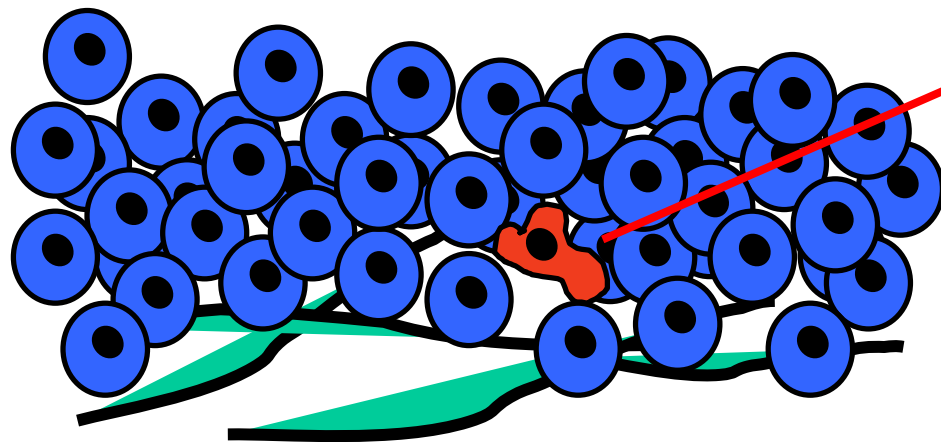
- Mutations de l'ADN mitochondrial

# Avancées technologiques

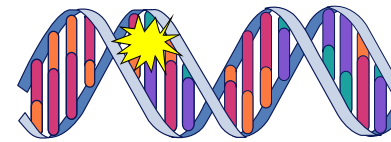
Automatisation et standardisation des méthodes d'analyses permettant des analyses rapides à faible coût

# Diagnostic moléculaire

Individualiser des cellules tumorales  
dans un fond de cellules normales

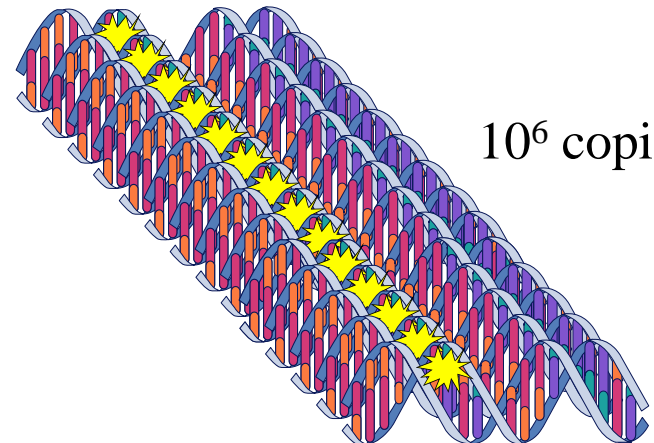


ADN



1 copie  
indélectable

PCR



$10^6$  copies

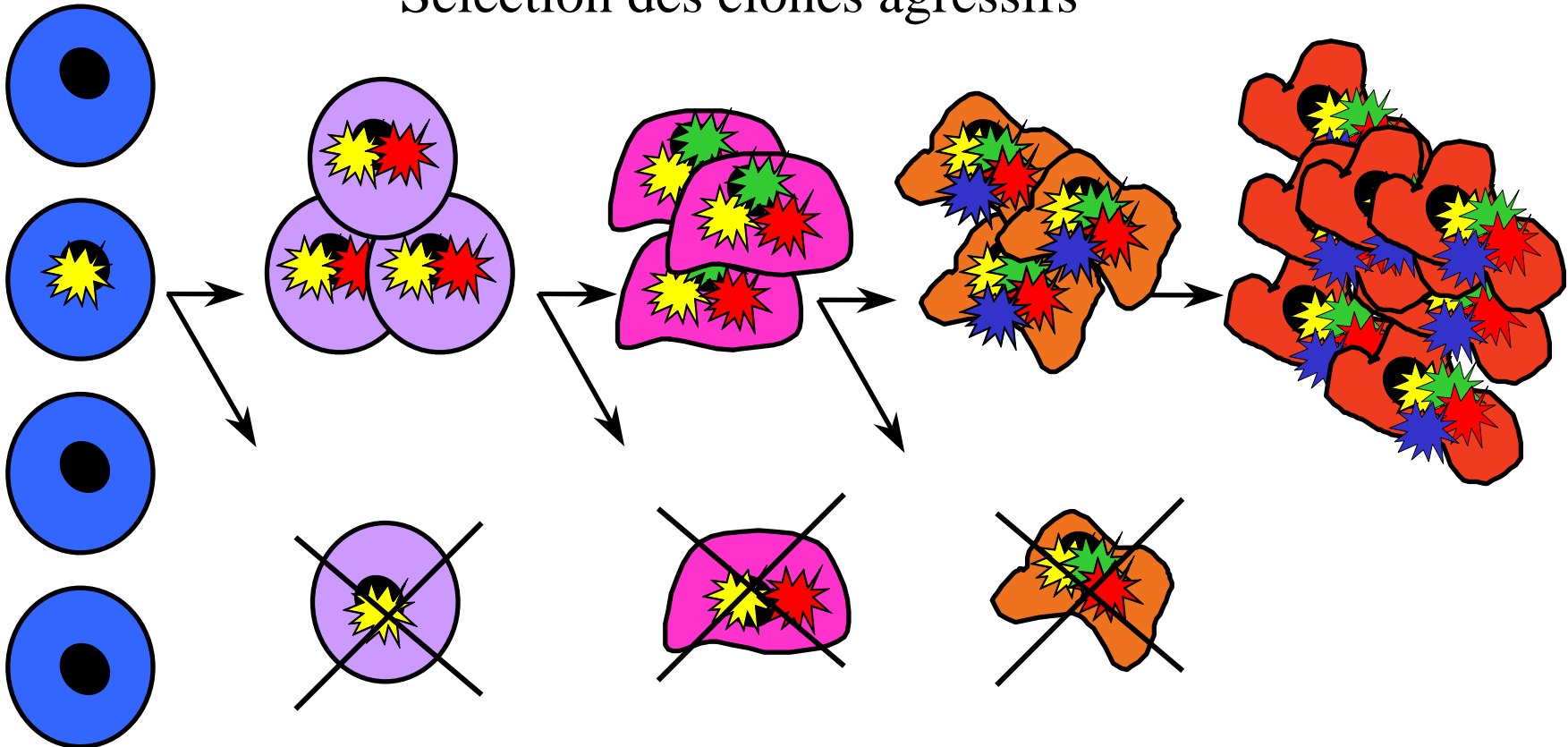
# Clonalité

Tissu  
Normal



Tumeur

Sélection des clones agressifs



# Rationnel

- Qualité de l'exérèse chirurgicale
  - Point de vue de chirurgien
  - Point de vue du pathologiste
  - Nécessité d'une collaboration étroite et d'une standardisation des techniques d'évaluation
  
  - Facteur pronostique indépendant lorsque la résection est histologiquement insuffisante
  - mais pas de consensus sur l'indication d'un traitement postopératoire en cas de résection suffisante dans les tumeurs de stade intermédiaire

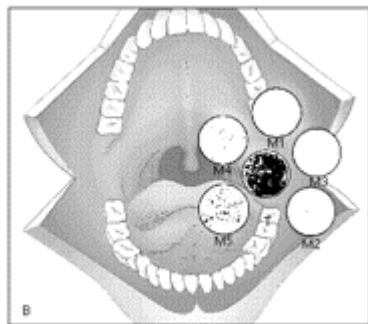
- 4 équipes indépendantes ont montré sur des séries limitées que la présence d'ADN tumoral dans des limites d'exérèse chirurgicale apparemment saines en histologie était fortement prédictive du risque de récurrence loco-régionale.



THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE

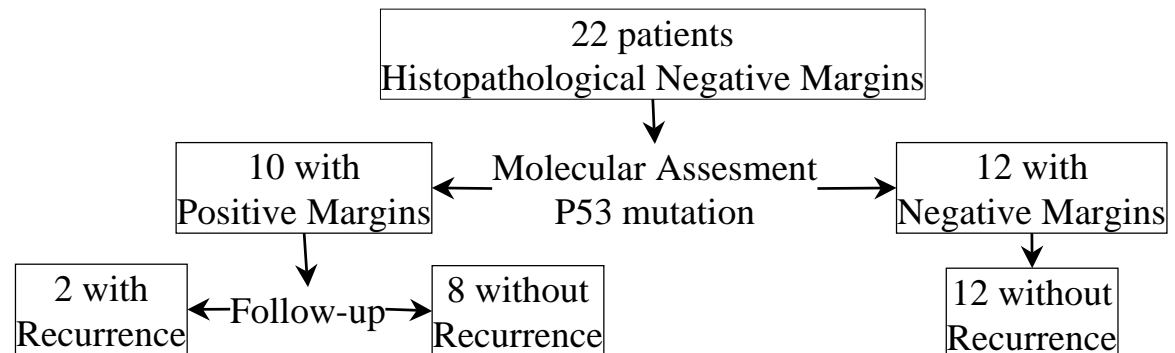
**MOLECULAR ASSESSMENT OF HISTOPATHOLOGICAL STAGING  
 IN SQUAMOUS-CELL CARCINOMA OF THE HEAD AND NECK**

D. SIDRANSKY 1995



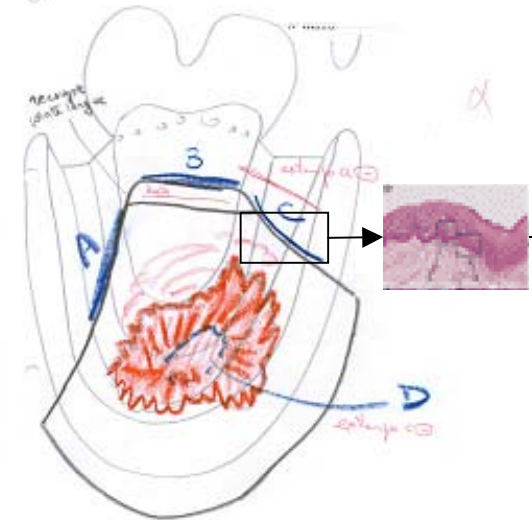
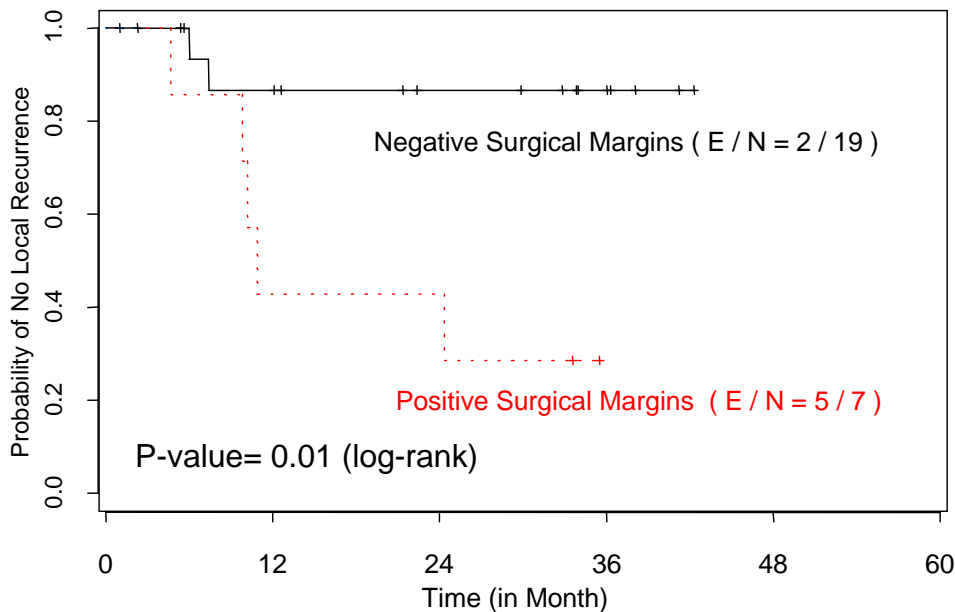
Cloning

Specific mutation probe hybridation

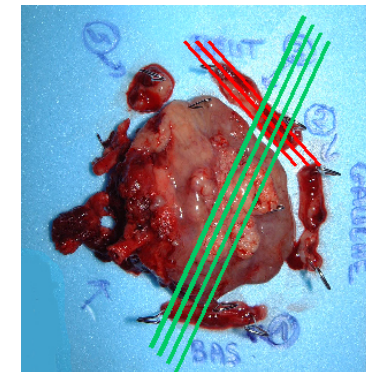


Temam *et al.* Clin Cancer Res, 2004

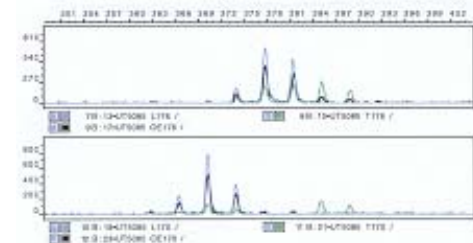
- Étude prospective non décisionnelle 1999-2001 chez 76 patients CEORL traités par chirurgie première à l'IGR



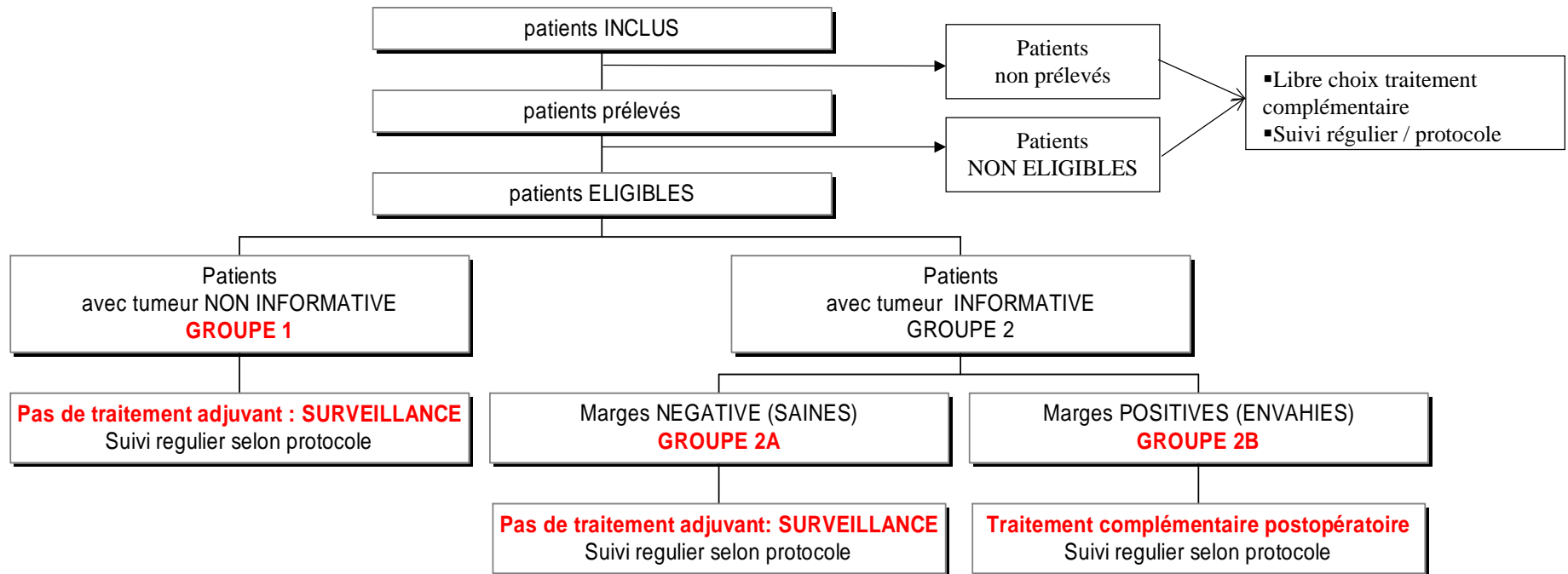
Histologie (H&E)



Marqueur Moléculaire



# MARGES-ORL



Critères d'inclusion  
Consentement signé

Consultation

Enregistrement  
Anapath prévenu

Chirurgie

Limites de résection chirurgicale

- 4 à 10 prélèvements (appréciation zones à risque)
- muqueuses et musculaires
- Orientation, schéma +/- photo

Biopsies

- Biopsie de peau : incision de curage (0.3 x3 cm)
- Biopsie large de la tumeur
- Biopsie de muqueuse saine à distance de la tumeur
- Sang total

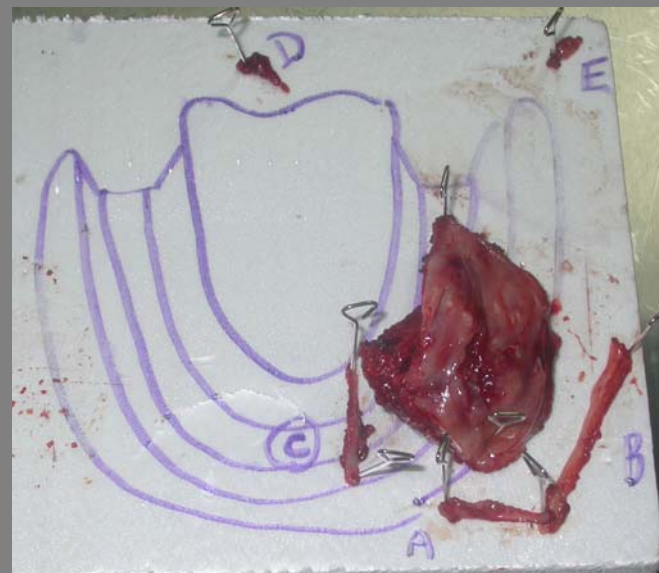
Anapath

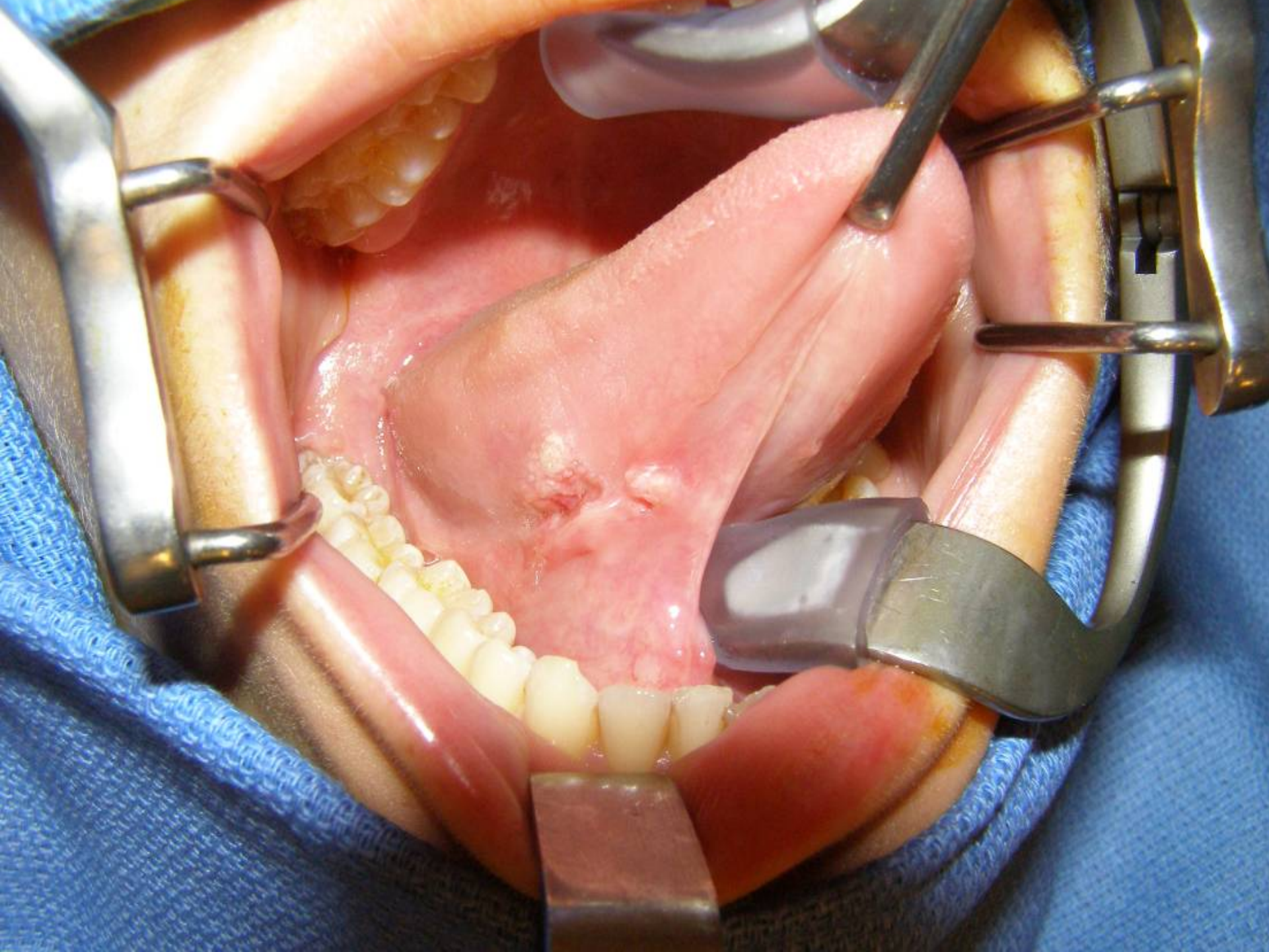
Coupes en congélation  
et Analyses  
->pts **éligibles**

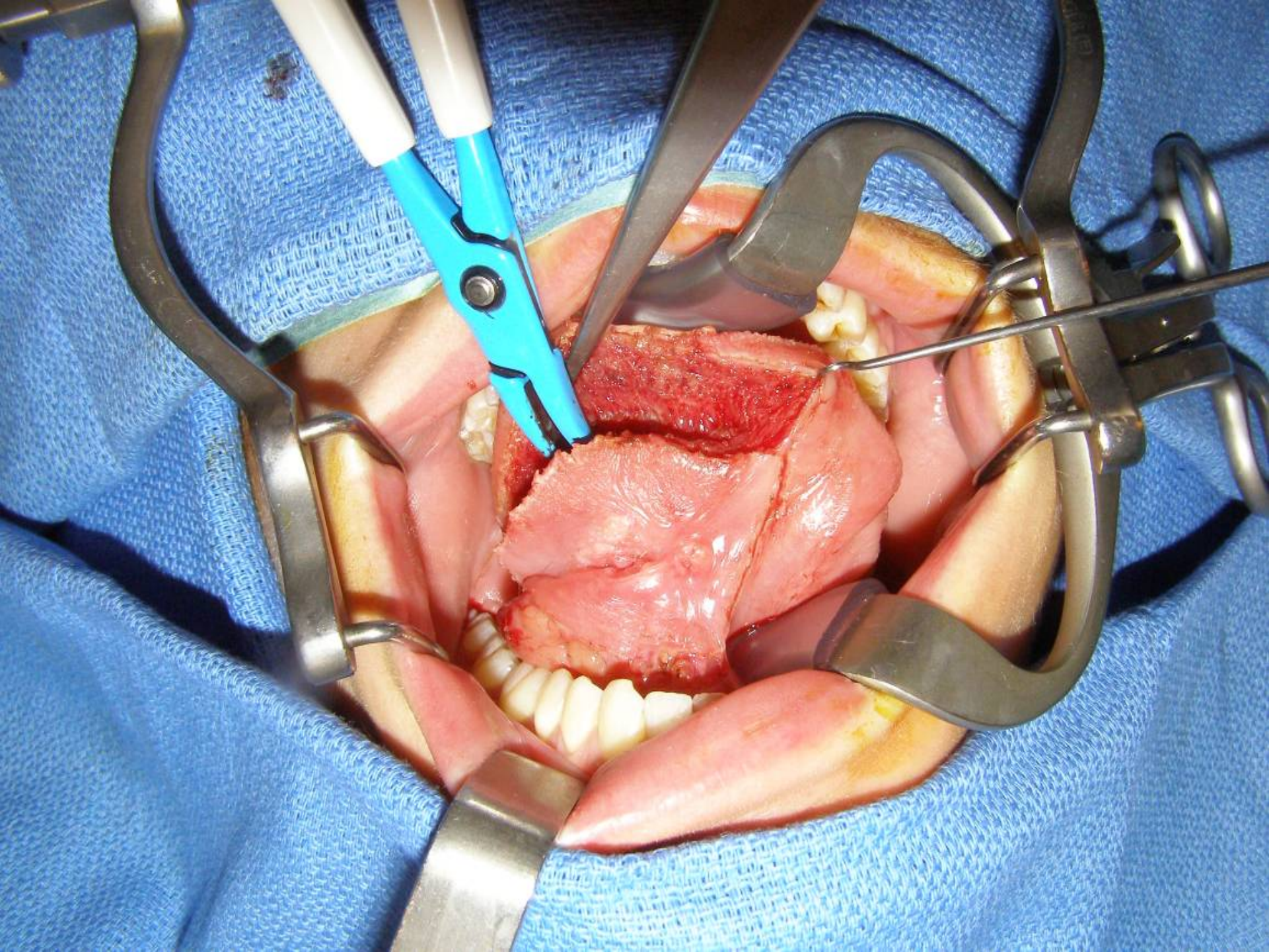
Congélation et  
stockage immédiat

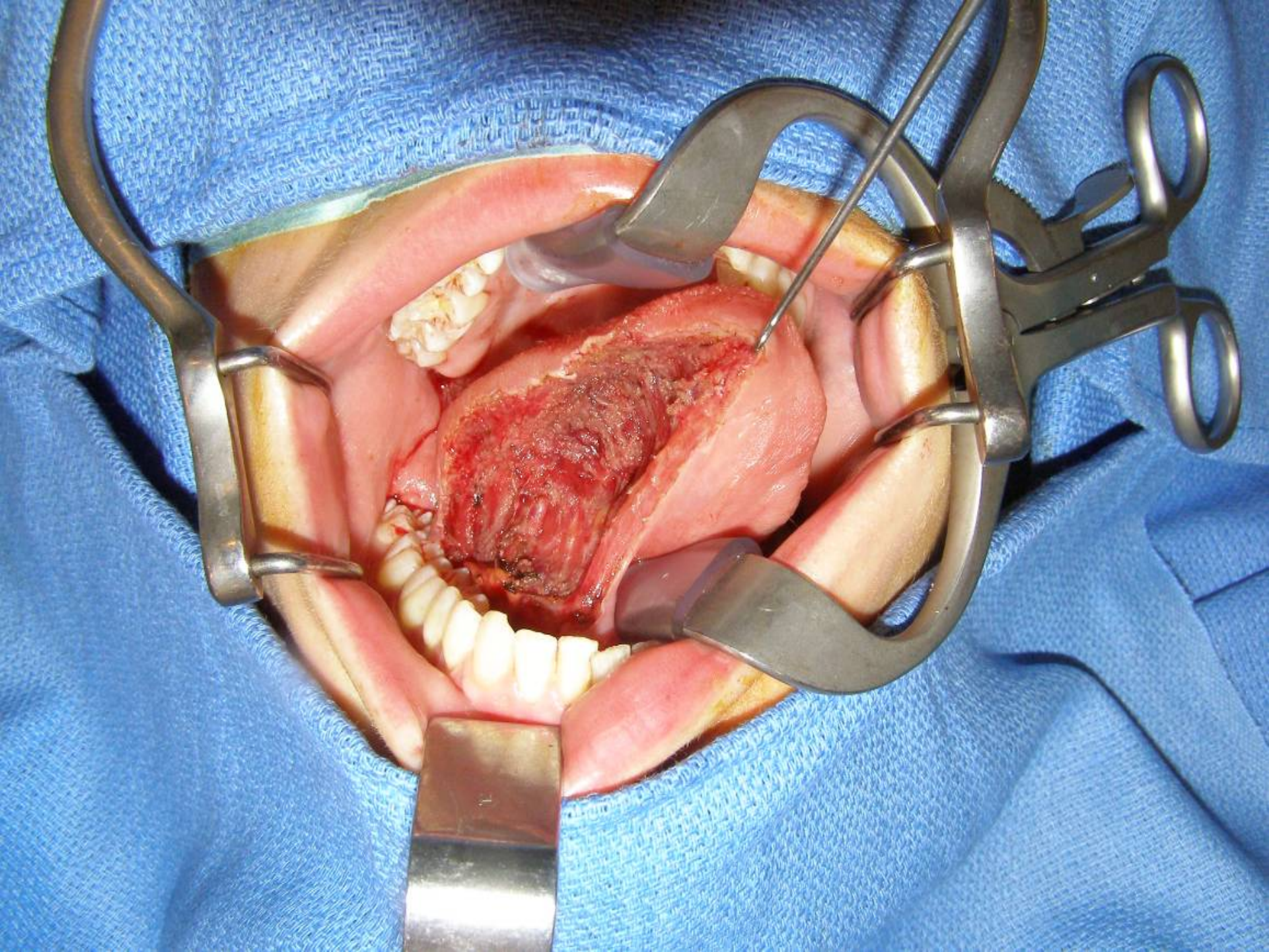
Laboratoire biologie

Rendu du résultat dans les 7 jours suivant la réception







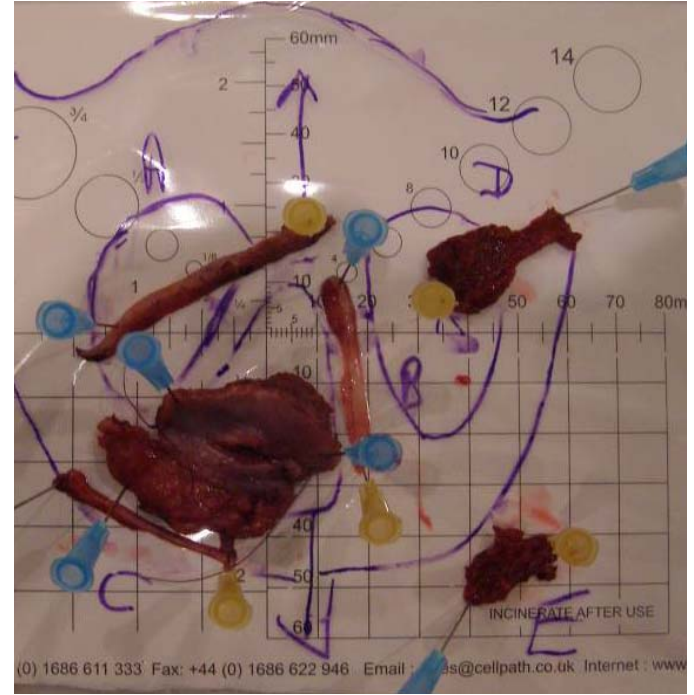
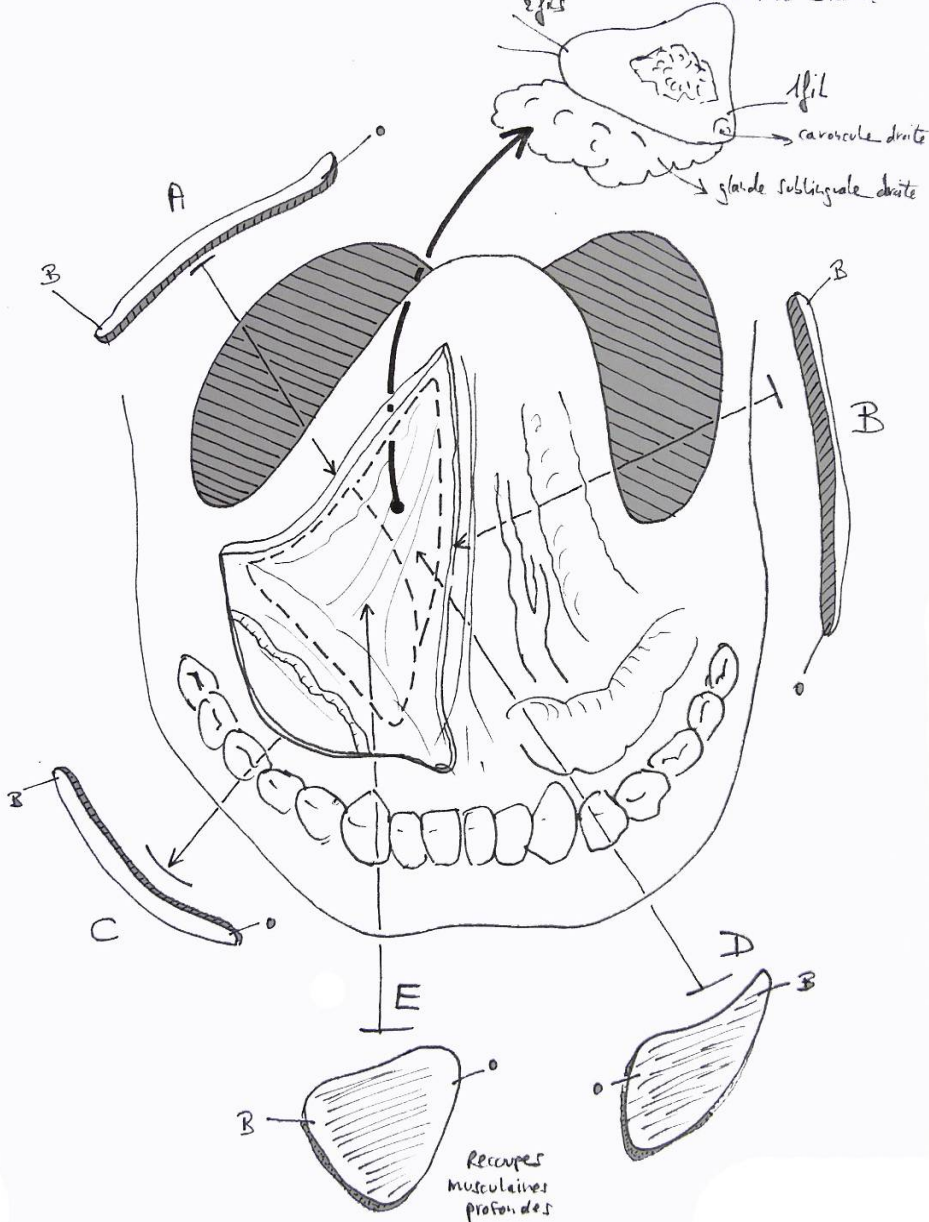


Le 25/07/07  
(CP, PN, BK, TI)

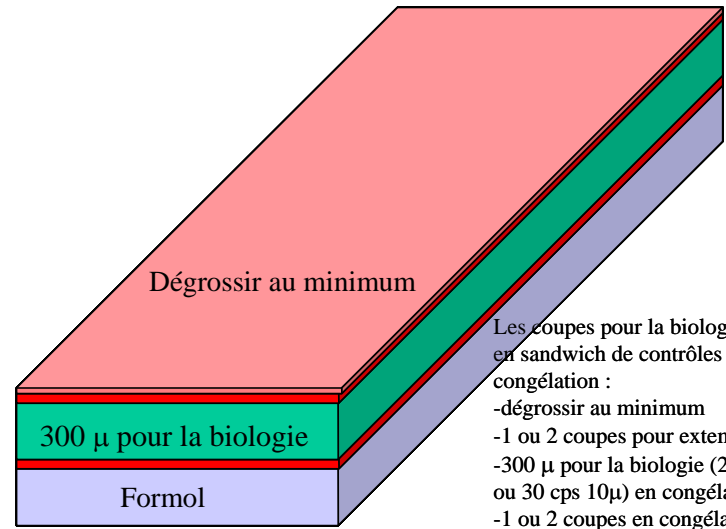
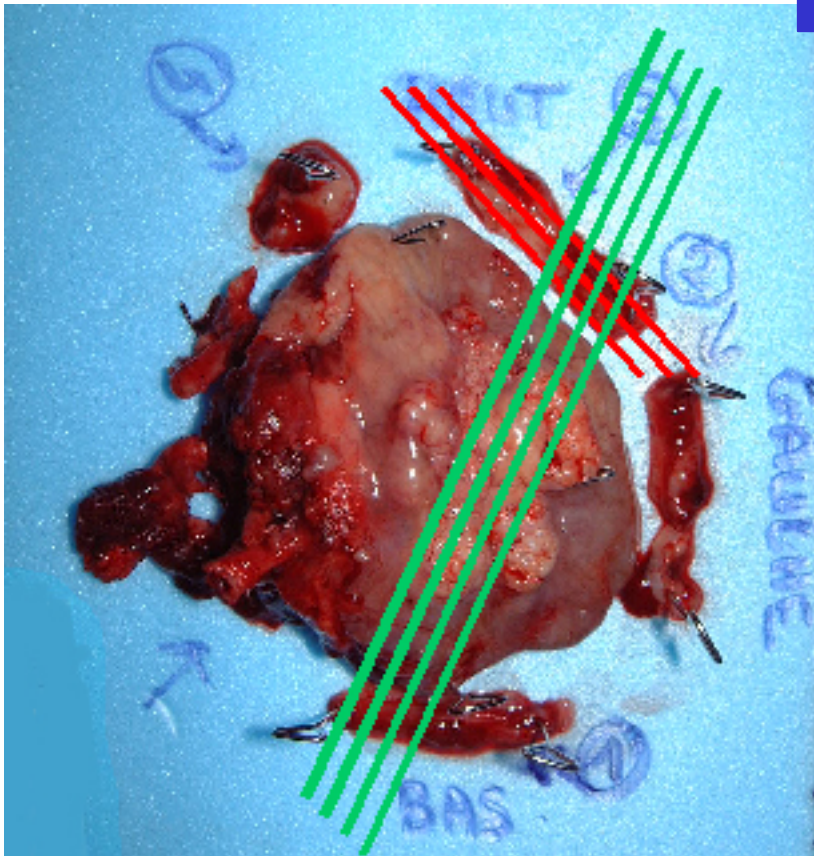
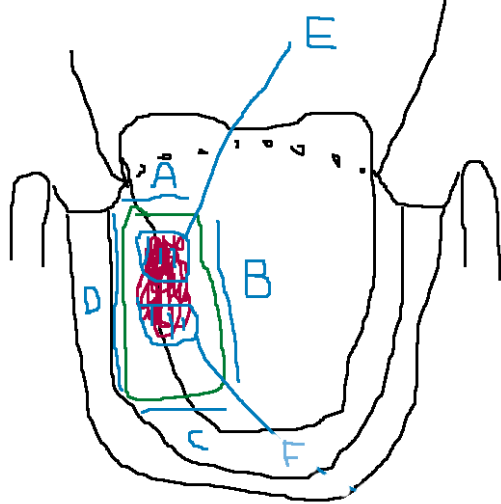
CODE CENTRE: 13  
NOM: ANDR

PATIENT N.° 145

PEU GLOSSECTOMIE  
ANTEROLATERALE DROITE

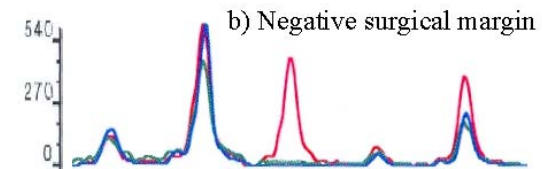
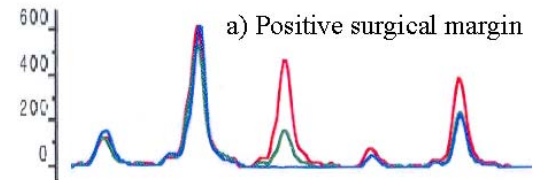
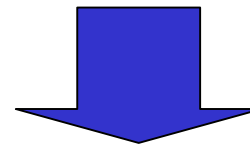


Extemporannée: recoupes saines



Les coupes pour la biologie sont entourées en sandwich de contrôles histologique en congélation :

- dégrossir au minimum
- 1 ou 2 coupes pour extempo
- 300 μ pour la biologie (20 coupes de 15 μ ou 30 cps 10μ) en congélation
- 1 ou 2 coupes en congélation
- Formol – paraffine pour confirmation HE



■ Tumor ■ Surgical margin ■ Lymphocyte

- Ouverture multicentrique depuis mars 2006 (17 centres)
  - 213 patients inclus : bonne inclusion (courbe stable) pour 167 patients éligibles
  - Pas de difficultés signalées
  - Quelques réponses tardives >4 semaines mais pour des raisons variées (anapath, transport, tumeur sur la biopsie, biologie,)
  - Amendement 01/08 : prolongation des inclusions jusqu'à 230 patients éligibles
  - Demande complément PHRC 2008 pour les pathologistes et la biologie

# Autres marqueurs

- Mutations p53
  - Collaboration avec le CIRC Lyon, P.Hainaut : études rétrospective (54 pts) et prospective
  - Technique GapLigase d'identification des mutations (primers spécifiques) : non concluante
  - NEJM 2007 : étude rétrospective multicentrique mais méthode d'analyse biologique non applicable à une étude prospective large

# Autres marqueurs

- Quantitative Methylation Specific PCR (QMSP):  
étude rétrospective sur 66 patients
  - 3 gènes en QMSP : 80% tumeurs informatives
  - Mais hypermethylation dans la muqueuse normale chez les fumeurs
  - Intérêt de la QMSP car permet d'établir un différentiel entre l'hypermethylation dans la muqueuse normale et la tumeur
  - Marge envahie en QMSP  $\leftrightarrow$  Contrôle local
  - Extension série MARGESORL

# Techniques d'analyse peropératoire

- Biologie
- Microscopie : MEC-ORL 2008
  - Microendoscopie confocale Cell Vizio

