

Table des matières

Table des matières	i
Liste des abréviations	iii
Liste des figures.....	v
Liste des tableaux	v
Introduction	1
Partie 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LE CANCER DU COL DE L'UTERUS.....	2
I. Définition et historique	2
II. Epidémiologie.....	2
II.1. Situation dans le monde.....	2
II.1. Situation au Sénégal	3
III. Aspects virologiques	3
III.1. Organisation structurale et génomique.....	3
III.2. Classification	5
III.3. Mode de transmission.....	6
IV. Histoire naturelle du cancer du col de l'utérus	6
IV.1. Structure anatomique du col de l'utérus.....	6
IV.2. Mécanisme de la carcinogenèse	7
IV.3. Progression de la carcinogenèse.....	8
V. Réponse immunitaire dans le cancer du col	9
V.1. Mécanismes effecteurs	9
V.1.1. Immunité innée.....	10
V.1.2. Immunité adaptative	12
V.2. Mécanismes d'échappement.....	14
V.2.1. Induction d'une immunosuppression	15
V.2.2. Production de facteurs de croissance et d'angiogenèse.....	15
V.2.3. Blocage de la présentation de l'antigène	16
VI. Facteurs de risque	16
VI.1. Facteurs environnementaux.....	16
VI.2. Facteurs viraux	17
VI.3. Facteurs endogènes	17
VII. Diagnostic et traitement.....	17
VII.1. Diagnostic	17
VII.2. Traitement.....	17

VIII. Hypothèse et objectifs de l'étude	18
Partie 2: MATERIELS ET METHODES.....	20
I. Cadre d'étude	20
II. Etudes immunologiques	20
II.1. Matériels	20
II.1.1. Matériel de laboratoire.....	20
II.1.2. Tampons et réactifs de laboratoire	20
II.1.3. Population d'étude et matériel biologique	21
II.2. Méthodes.....	22
II.2.1. Dosage de l'IL-17A	22
II.2.2. Acquisition et analyse des données.....	24
II.2.3. Analyses statistiques	24
Partie 3 : RESULTATS ET DISCUSSION.....	25
I. Résultats	25
I.1. Caractéristiques de la population d'étude	25
I.2. Evaluation du profil évolutif des taux d'IL-17A.....	26
I.2.1. Comparaison des taux d'IL-17A entre les contrôles et les patientes avant traitement.....	26
I.2.2. Profil évolutif du taux d'IL-17A au cours du traitement chez les patientes.....	26
I.2.3. Relation entre les taux d'IL-17A au cours du traitement	27
I.2.4. Variation des taux d'IL-17A suivant le protocole de chimiothérapie	28
I.2.5. Profil évolutif des taux d'IL-17A suivant la réponse au traitement	29
I.3. Corrélation entre les taux d'IL-17A et les données clinico-biologiques.....	29
II. Discussion.....	30
Conclusion.....	33
Bibliographie	34
Annexe	1

Liste des abréviations

Ac : Anticorps

ADCC : Antibody Depend Cellular Cytotoxicity – Cytotoxicité cellulaire dépendante de l'anticorps

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

Ag : Antigène

CD : Cluster of Differentiation

CDC : Complement Dependent Cytotoxicity – Cytotoxicité dépendante du complément

CIN : Cervical Intraepithelial Neoplasia – Néoplasie Cervicale Intraépithéliale

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CPA : Cellule Présentatrice d'Antigène

DC : Cellule Dendritique

DO : Densité Optique

E : Early

ELISA : Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

FCU : Frottis cervico-utérin

FDA : Federal Drug Administration

FIGO : Fédération Internationale de Gynécologie et Obstétrique

GM-CSF : Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor

HALD : Hôpital Aristide Le Dantec

HLA : Human Leukocyte Antigen

HPV: Human Papilloma Virus (Papillomavirus Humain)

HR : Haut-Risque

BR : Bas-Risque

HSIL : High grade Squamous Intraepithelial Lesion - lésion malpighienne intraépithéliale de haut grade

hTERT : human Telomerase Reverse Transcriptase

IARC : International Agency Research in Cancer

INF- γ : Interferon gamma

IL- : Interleukine

IPD : Institut Pasteur de Dakar

IST : Infection Sexuellement Transmissible

JPV : Jonction Pavimento-Cylindrique

KAR : Killer Activation Receptor

L : Late

LCR : Long Control Region

LSIL: Low grade Squamous Intraepithelial Lesion - Lésion malpighienne intraépithéliale de bas grade

MIC A: MHC class I polypeptide-related sequence A

NCI: National Cancer Institut

NK : Natural Killer

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ORF : Open Reading Frame - Phase ouverte de lecture

p53 : protéine 53

pRb : protéine du rétinoblastome

TCR : T Cell Receptor - recpteur cellulaire T

TGF- β : Transforming Growth Factor bêta

Th : T helper

TIL : Tumor-Infiltrating Lymphocytes – lymphocytes infiltrant les tumeurs

TNF : Tumor Necrosis Factor - Facteur de nécrose tumorale

Treg: T régulateur

TRAIL : TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand

VEGF : Vascular Endothelium Grown Factor – Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire

VIH: Virus de l'Immunodéficience Humain

VLP : Virus-Like Particles (pseudoparticule virale)

Liste des figures

Figure 1 : Répartition du cancer du col de l'utérus dans le monde : incidence pour 100.000 femmes

Figure 2 : Représentation schématique de la capside de HPV

Figure 3 : Appareil reproducteur féminin

Figure 4 : Principales étapes de la carcinogenèse associée à E6 et E7 des HPV à haut risque

Figure 5 : Evolution des lésions au niveau de l'épithélium

Figure 6 : Lyse des cellules tumorales par les effecteurs de la réponse immunitaire

Figure 7 : Rôle des polynucléaires neutrophiles associés aux tumeurs (TAN)

Figure 8 : Différentes sous-populations des cellules T CD4⁺

Figure 9 : Réponse immunitaire anti-tumorale

Figure 10 : Principe du dosage de l'IL-17A par ELISA

Figure 11 : Courbe des standards sur Softmax Pro®

Figure 12 : Variation des taux sériques d'IL-17A avant le traitement

Figure 13 : Evolution des taux sériques d'IL-17A au cours du traitement

Figure 14 : Corrélation entre les taux d'IL-17A au cours du traitement

Figure 15 : Comparaison des niveaux d'IL-17A suivant le protocole de chimiothérapie

Figure 16 : Evolution des taux sériques d'IL-17A suivant la réponse au traitement

Liste des tableaux

Tableau I : Principales protéines du HPV et leurs fonctions biologiques associées

Tableau II : Principales molécules de chimiothérapie utilisées dans le traitement du cancer du col de l'utérus

Tableau III : Caractéristiques de la population d'étude

Introduction

En termes de fréquence, le cancer du col de l'utérus est au deuxième rang des cancers féminins dans le monde avec environ 500 000 nouveaux cas par an (OMS, 2015). Au Sénégal, il demeure le cancer féminin le plus fréquent chez les femmes de 15 – 44 ans (Ferlay *et al.*, 2013).

Le cancer du col de l'utérus résulte dans 99,7 % des cas d'une infection par des types cancérogènes de papillomavirus humains (HPV). L'infection cervicale par HPV est une infection sexuellement transmissible (IST) qui dans la plupart des cas n'aboutit pas à une tumeur (Trottier *et al.*, 2006). L'histoire naturelle de l'infection par HPV suggère que d'autres facteurs sont nécessaires à la progression et au développement de la tumeur. La réponse immunitaire permettrait d'éliminer le virus chez la plupart des femmes dans les deux ans (Schiffman *et al.*, 2007). En outre, elle intervient dans le blocage de formation des cellules cancéreuses par le mécanisme d'immunosurveillance avec des lymphocytes examinant en continu le corps pour détecter les cellules tumorales exprimant des protéines aberrantes (Dunn *et al.*, 2004). Cependant, dans certains cas, les cellules cancéreuses peuvent échapper à la reconnaissance (Hanahan *et al.*, 2011). Dans ces cas, l'instauration d'un traitement anticancéreux est primordiale. La chimiothérapie demeure l'un des moyens de traitement qui en plus d'induire la lyse de cellules tumorales contribuerait par le relargage d'antigènes tumoraux stimulant le système immunitaire.

Parmi les acteurs de la réponse anti-tumorale, on retrouve des cytokines comme l'IL-17. Il s'agit d'une cytokine pro-inflammatoire produite surtout par des cellules TCD4⁺ de type Th17 (Fossiez *et al.*, 1996). Ses effets anti- ou pro-tumorigènes demeurent encore imparfaitement élucidés et seraient dépendants du contexte de la maladie (Zou *et al.*, 2010).

La présente étude a pour objectif d'étudier l'intérêt pronostic du dosage sérique de l'IL-17A chez des patientes atteintes de cancer du col de l'utérus et soumises à une chimiothérapie néo-adjuvante.

Partie 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LE CANCER DU COL DE L'UTERUS

I. Définition et historique

Le cancer du col de l'utérus est caractérisé par une multiplication anarchique des cellules de la muqueuse du col utérine. Il résulte le plus souvent d'une infection par les HPV transmis par voie sexuelle. Cette transmission concerne plus de 50% des jeunes femmes lors de leurs premiers rapports sexuels (**Moscicki**, 2005).

C'est dans les années 1920, que la nature infectieuse des verrues génitales et de la papillomatose laryngée, a été confirmée (**Carcopino et al.**, 2011). En 1949, l'implication directe des papillomavirus a été mise en évidence par **Strauss et al**, dans les verrues cutanées par microscopie électronique. En 1976, Zur Hausen a été le premier à publier l'hypothèse d'un rôle des HPV dans la cause du cancer du col utérin.

La caractérisation des HPV-16 et HPV-18 et la démonstration de leur rôle oncogène dans les lésions cancéreuses du col de l'utérus ont été faites dans les années 1980. Ce sont des HPV qualifiés de haut risque cancérogène (HPV-HR). La production des pseudo-particules virales et les essais cliniques utilisant des vaccins anti-HPV ont débuté en 1990. Les vaccins ont reçu une approbation de mise sur le marché depuis les années 2000 par la FDA (**Monsonogo**, 2006).

II. Epidémiologie

II.1. Situation dans le monde

Le cancer du col l'utérus est le deuxième cancer en termes de fréquence, chez la femme dans le monde, environ 530 000 nouveaux cas ont été enregistrés en 2014. Annuellement, on estime à plus de 250 000 décès par cancer du col à travers le monde, soit 7,5% des décès féminins par cancer (**OMS**, 2015). Cette mortalité varie entre les régions, passant de 2 pour 100 000 femmes dans les pays industrialisés à plus de 20 pour 100 000 femmes dans certains pays en développement (**Ferlay et al.**, 2013).

L'incidence de ce cancer est très inégale selon les pays, 83% des nouveaux cas de cancers survenant dans les pays en voie de développement avec même des disparités entre les pays (**Figure 1**). Ce taux est selon l'âge de 2,1 pour 100 000 femmes en Egypte et de 47,3 pour 100 000 femmes au Zimbabwe (**Curado**, 2007). Ainsi, le risque de survenue d'un cancer

du col utérin au cours de la vie de la femme est estimé à 4 % dans les pays en voie de développement et à moins de 1 % dans les pays industrialisés (**Monsonogo**, 2006).

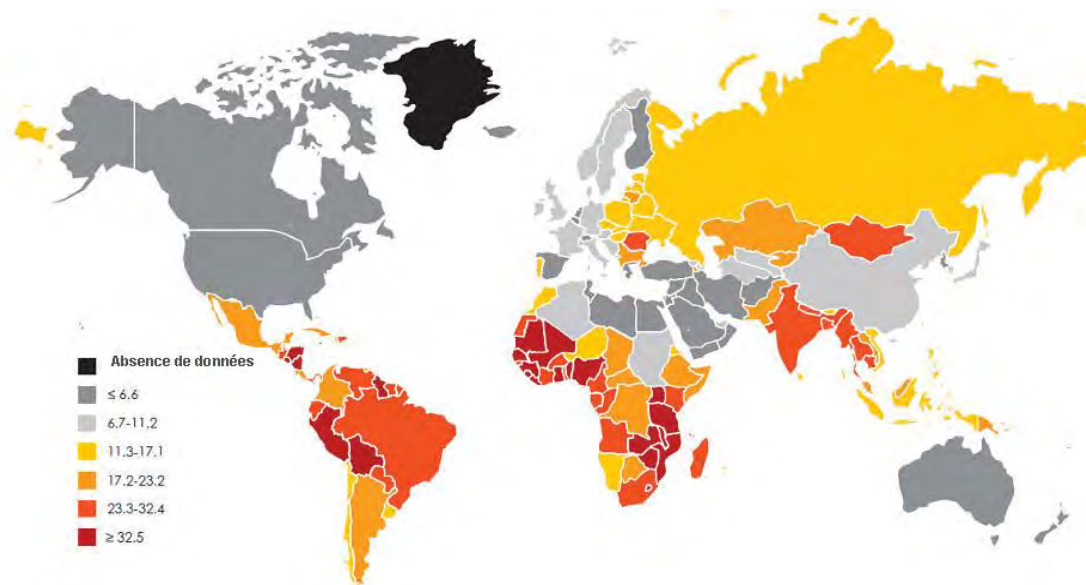


Figure 1: Répartition du cancer du col de l'utérus dans le monde : incidence pour 100 000 femmes (Curado, 2007).

II.1. Situation au Sénégal

Au Sénégal, plus de 1000 cas de cancer du col sont diagnostiqués par an avec environ 800 cas de décès pour la même période. Le cancer du col de l'utérus demeure le cancer féminin le plus fréquent chez les femmes sénégalaises de 15 à 44 ans (**Ferlay et al.**, 2013).

La prévalence des HPV-HR dans la région de Dakar serait de 17,4%. Les génotypes HPV 52 (3,2%) et HPV 31 (3,0%) sont les plus répandus. Les types HPV 16, 45 et 53 ont été aussi retrouvés (2,8%). Dans les régions de Thiès, de Saint-Louis et de Louga, les prévalences du HPV-HR étaient respectivement de 23,2%, 13,1% et 19,4% (**Mbaye et al.**, 2014).

III. Aspects virologiques

La cause majeure du cancer du col de l'utérus est l'infection par les HPV à haut risque pour lesquels les ADN ont été découverts dans 99,7% des biopsies tumorales (**Walboomers et al.**, 1999; **zur Hausen**, 2002).

III.1. Organisation structurale et génomique

Les papillomavirus appartiennent à la famille des *Papillomaviridae* responsables des proliférations cutanéomuqueuses, le plus souvent bénignes (**Alain et al.**, 2010; **de Villiers et**

al., 2004). Ce sont des virus non enveloppés, de petite taille (45 et 55 nm de diamètre), avec une capside icosaédrique (**Figure 2**), (**Burd**, 2003; **White et al.**, 2016).

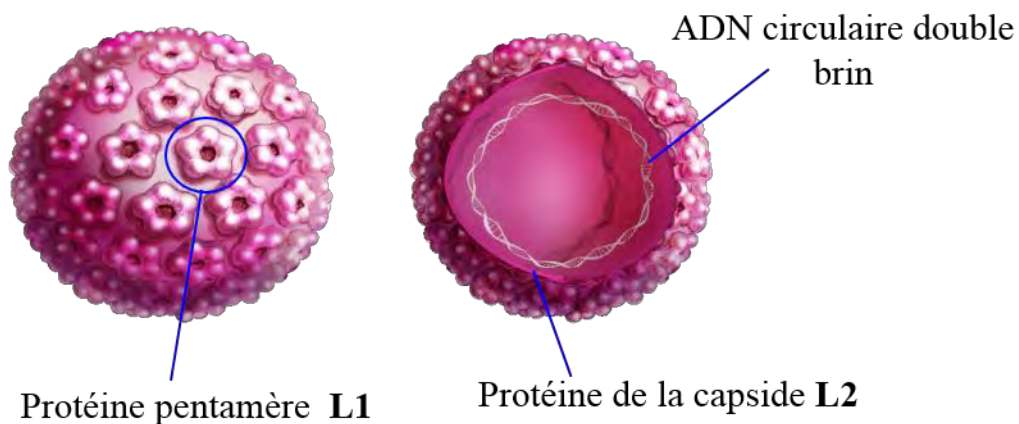


Figure 2 : Représentation de la capside de HPV (**Burd**, 2003; **White et al.**, 2016).

Le génome viral est constitué d'une molécule d'ADN double brin circulaire, d'environ 8000 paires de bases avec un seul brin codant les protéines virales (**Tableau I**) (**Doorbar et al.**, 2015). Ce génome est divisé en trois régions fonctionnelles :

- la région **E** (*Early*), codant pour des protéines non structurales dites «précoces» E1 à E7;
- la région **L** (*Late*), codant pour les protéines de capside L1 et L2;
- la région non codante appelée **LCR** (long control region) contenant, entre autres les promoteurs des gènes précoces (**Burd**, 2003).

Dans la majorité des cellules infectées, l'ADN viral est sous forme épisomale, c'est-à-dire non intégré au génome de la cellule hôte. Ainsi, il est capable de se répliquer de manière autonome.

Tableau I : Principales protéines du HPV et leurs fonctions biologiques associées
(Riethmuller *et al.*, 2002)

Protéines	Fonctions des protéines virales
E1	- Régulation de la réplication de l'ADN viral
E2	- Intervention dans la réplication et la modulation de la transcription du génome viral en synergie avec E1 - Répression de la transcription de E6 et E7
E3	fonction inconnue
E4	Maturation des virions, - Production de particules virales, - Faciliter l'encapsidation du génome - Favoriser la diffusion et la libération des virions par destruction du réseau de filaments de cytokératine
E5	Stimulation de la prolifération cellulaire
E6	Protéine oncogène : favoriser la dégradation de p53 par le protéasome
E7	Protéine oncogène : favorise la dégradation de la protéine de susceptibilité au rétinoblastome p105Rb
L1	Protéine majeure de capsid : Capables de s'auto-assembler en l'absence d'autres protéines virales pour former des particules virales vides ressemblant à des capsides et dénommées VLP (<i>virus like particles</i>)
L2	Protéine mineure de capsid : capable de lier l'ADN viral et de le positionner correctement au sein de la capsid

III.2. Classification

Elle est basée sur le génotype et l'analyse phylogénique. Les virus sont répartis en trois groupes suivant leur tropisme (cutané ou muqueux), leurs propriétés biologiques et leur potentiel oncogénique (bas risque et haut risque) (Coursaget *et al.*, 2006; de Villiers *et al.*, 2004) : (i) le groupe 1 regroupant les HPV oncogènes, (ii) le groupe 2 pour les HPV probablement oncogènes et (iii) le groupe 3 composé de HPV non classables quant à leur potentiel oncogène chez l'homme.

Ainsi, les HPV-HR appartiennent au groupe 1. Il s'agit plus précisément des HPV-16 et 18 impliqués dans plus de 70% des cas de cancers du col. Le groupe 2 contient des génotypes comme HPV-66, -82, -26 et -53 et HPV-70). Les HPV-6 et -11 du groupe 3, considérés comme des HPV-BR, sont responsables de condylomes acuminés (IARC, 2016).

III.3. Mode de transmission

La transmission des infections à HPV se fait par contact direct à travers les microlésions de l'épiderme ou des muqueuses (**Mansour**, 2005). Elle est principalement sexuelle, ce qui fait de l'infection par HPV la plus fréquente des infections sexuellement transmissibles (IST) (**Koutsky**, 1997). Tout acte sexuel sans pénétration est aussi associé à un risque d'infection par les HPV (**Kjaer et al.**, 2001). Cette transmission peut se faire également par auto-inoculation (lésions de grattage). Aussi, ces virus HPV nus et très résistants aux écarts de température, peuvent-ils être transmis indirectement par des vecteurs comme l'eau, le linge et par d'autres matériaux. Il existerait également une contamination verticale au cours de l'accouchement (**Mant et al.**, 2003).

IV. Histoire naturelle du cancer du col de l'utérus

IV.1. Structure anatomique du col de l'utérus

Situé à l'extrémité inférieure de l'utérus, le col utérin s'ouvre sur le vagin (**Figure 3**). Il mesure 3 cm de long sur 2,5 cm de diamètre. Sur le plan histologique, sa paroi est constituée de 3 tuniques : une tunique périphérique appelée adventice, une tunique moyenne fibro-musculaire et une tunique superficielle constituant la muqueuse. Cette muqueuse est composée de deux épithéliums :

- un épithélium exocervical : pavimenteux, malpighien et non kératinisé pluristratifié qui recouvre l'exocol (partie intra-vaginale).
- un épithélium endocervical : cylindrique, glandulaire et unistratifié recouvrant l'endocol (muqueuse du canal endocervicale).

La zone de jonction entre les deux épithéliums est appelée jonction pavimento-cylindrique (**JPV**). Il s'agit d'une zone particulièrement sensible de par sa complexité, sa fragilité mécanique et la fréquence de micro-érosions entraînées par les rapports sexuels. C'est ainsi que cette zone est considérée comme la cible des HPV et le point de départ de la majorité des lésions cervicales (**Herfs et al.**, 2013).

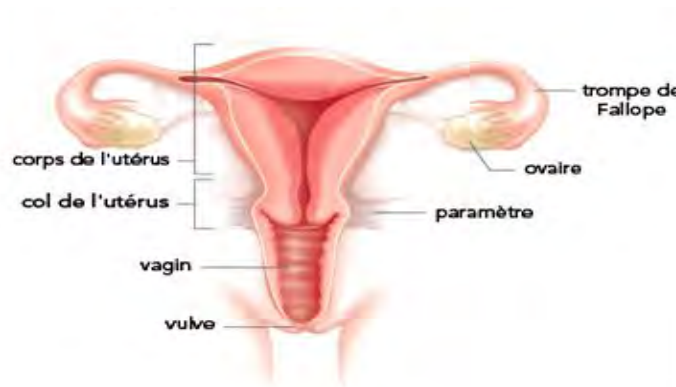


Figure 3 : Appareil reproducteur féminin (NCI, 2016)

IV.2. Mécanisme de la carcinogenèse

La carcinogenèse est liée à la réplication virale qui, elle-même, est conditionnée par la différenciation de l'épithélium infecté. Cette carcinogenèse nécessite l'intégration de l'ADN des HPV-HR au génome de la cellule hôte, comme en témoigne la présence du génome viral dans 99,7% des cancers du col (**zur Hausen**, 2002).

L'ADN viral sous forme épisomale est clivé au sein des séquences codantes E2 (répresseur transcriptionnel de E6 et E7). Ce qui permet son intégration sous forme linéaire au génome de la cellule hôte. L'affranchissement de E6 et E7 au contrôle exercé par E2 au cours du cycle normal, contribue à l'augmentation de la dérégulation du cycle cellulaire.

L'oncoprotéine E7 se lie avec une forte affinité à la protéine pRb (suppresseur de tumeur) et provoque sa dégradation par le protéasome. Ceci empêche sa liaison avec le facteur de transcription E2F dont l'activité est régulée par pRb. Le relargage de la protéine E2F favorise la transcription de nombreux gènes cellulaires impliqués dans la réplication de l'ADN et la progression de la cellule vers la phase S.

A son tour, l'oncoprotéine E6 se lie à p53 par l'intermédiaire d'un complexe E6-AP (E6 Associated Protein) en favorisant sa dégradation dans le protéasome. La p53 ne pourra plus bloquer le cycle cellulaire en phase G1, ni induire l'apoptose cellulaire en réponse à l'infection. E6 active également l'expression de hTERT (human Telomerase Reverse Transcriptase), la sous unité catalytique de la télomérase humaine et conduit à l'immortalisation de la cellule (**Figure 4**), (**Mighty et al.**, 2014).

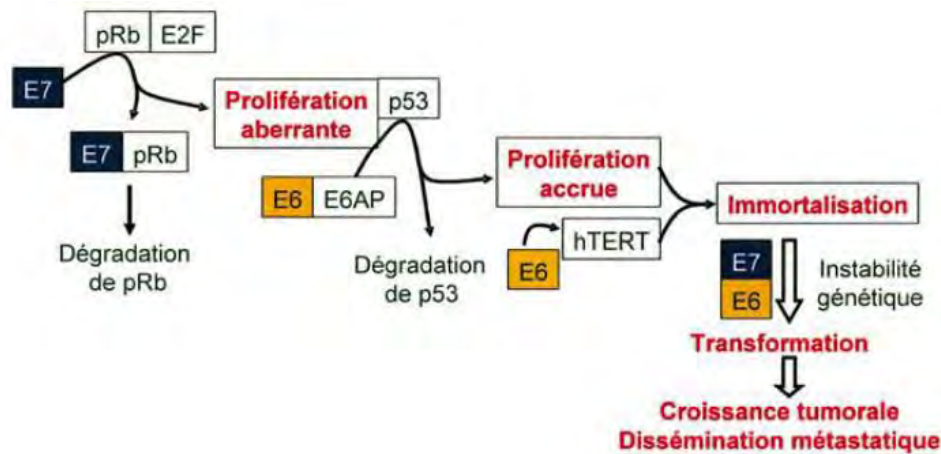


Figure 4 : Principales étapes de la carcinogenèse associée à E6 et E7 des HPV-HR
(Mougin *et al.*, 2008).

IV.3. Progression de la carcinogenèse

Le cancer du col ne survient qu'en présence d'une infection par un papillomavirus. Parmi les 80% de femmes infectées par un HPV HR, l'infection régresse spontanément sous l'action du système immunitaire dans 90% des cas (Schiffman *et al.*, 2007). Une infection persistante se développe dans 3 à 10 % des cas et pourra évoluer vers une lésion de haut grade sous l'influence du type viral (oncogène) et de nombreux facteurs favorisants.

Cependant, le cancer du col de l'utérus ne se développe que dans moins de 1 % des cas (Sasagawa *et al.*, 2012). L'évolution vers le stade cancer se fait lentement, entre 7 et 30 ans. Dans certains cas, l'infection peut évoluer très rapidement en deux à trois ans vers une lésion précancéreuse (CIN II ou III) avant de poursuivre son évolution vers un cancer.

Le cancer du col de l'utérus est précédé de lésions précancéreuses classées en :

- CIN I ou LSIL : dysplasie légère, avec une extension ne dépassant pas le tiers de l'épithélium.
- CIN II-III ou HSIL : dysplasie sévère à modérée, avec extension à la totalité de l'épithélium (Figure 5), (Alain *et al.*, 2010).

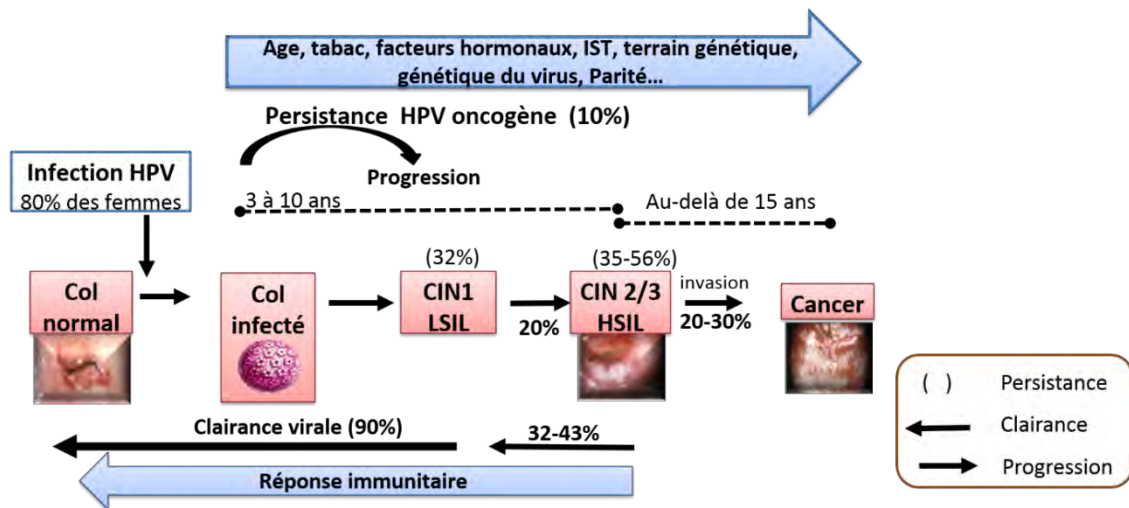


Figure 5 : Evolution des lésions au niveau de l'épithélium (Alain *et al.*, 2010; Sasagawa *et al.*, 2012)

V. Réponse immunitaire dans le cancer du col

Il a été démontré que le système immunitaire protégeait l'organisme contre la formation de cancer par le mécanisme d'immunosurveillance. C'est un concept selon lequel, le système immunitaire serait en alerte perpétuelle pour détecter les cellules transformées. Cette réponse immunitaire anti-tumorale peut apparaître inefficace ou insuffisante pour une élimination totale des cancers. Ceci a été à l'origine de l'introduction du concept de l'immuno-editing qui serait un processus dynamique comprenant trois phases: (i) la phase d'élimination de la tumeur, qui est l'éradication de tumeurs naissantes, (ii) la phase d'équilibre consistant à la persistance de cellules tumorales et (iii) la phase d'échappement, qui consiste à l'émergence de variants tumoraux immunorésistants et qui est marquée par une progression tumorale (Dunn *et al.*, 2004).

V.1. Mécanismes effecteurs

Les principaux effecteurs de la réponse antitumorale sont de deux types : les effecteurs spécifiques de l'antigène (lymphocytes B, T cytotoxiques et T helpers) et les effecteurs non spécifiques de l'antigène (polynucléaires, macrophages, et cellules NK). Outre leur action anti-tumorale, elles peuvent lyser indirectement la cellule tumorale par relargage de cytokines ou par activation d'autres cellules (**Figure 6**) ; (Bellet, 2004).

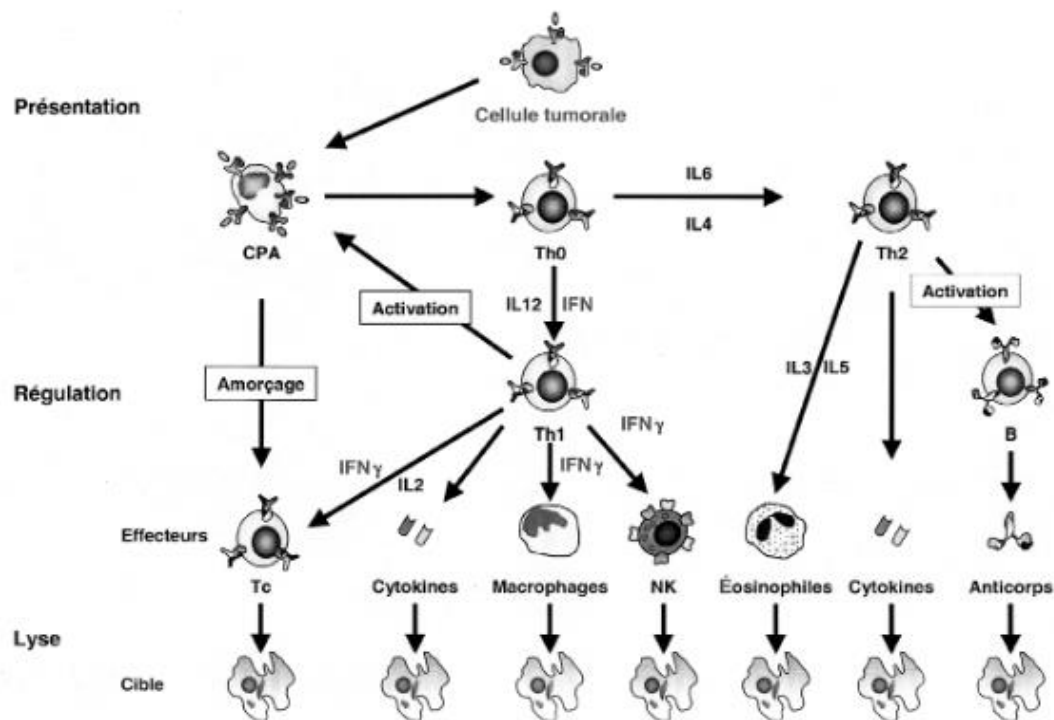


Figure 6. Lyse des cellules tumorales par les effecteurs de la réponse immunitaire (Bellet, 2004).

V.1.1. Immunité innée

Les cellules effectrices de l'immunité innée ont pour mission de détecter et d'écarter des cellules tumorales de la muqueuse utérine. Il s'agit des cellules NK, des macrophages et des polynucléaires.

❖ Rôle des cellules NK

Ces cellules qui s'identifient par les marqueurs $CD3^-$, $CD16^+$, $CD56^+$ utilisent de multiples voies de lyse pour déclencher l'apoptose dans les cellules tumorales ayant une expression faible ou nulle de molécules du CMH.

- la voie perforine/granzyme : utilise des molécules (perforine), qui crée des pores à la surface de la cellule cible et permettent la pénétration d'enzymes (granzymes), qui clivent d'autres molécules (caspases), et induisent l'apoptose ;
- la voie des ligands de la mort : nécessite une interaction entre les ligands de Fas-L ou TRAIL exprimés à la surface des NK, et leurs récepteurs respectifs sur les cellules tumorales. Ce qui conduit à l'apoptose des cellules tumorales;

- les cytokines : les cellules NK synthétisent des cytokines comme IFN- γ , TNF- α , GM-CSF qui ont une action cytotoxique sur les cellules tumorales (**Bellet**, 2004) ;
- un autre mécanisme implique les récepteurs activateurs KARs (Killing Activating Receptor) des cellules NK qui reconnaissent leurs ligands (H60, MICA...) sur les cellules tumorales exprimant le CMH (**Strong**, 2002).

❖ Rôle des macrophages

Les macrophages sont des cellules de l'immunité innée. Ils sont spécialisés dans la phagocytose. Ils peuvent également capturer efficacement les antigènes tumoraux et les présenter aux cellules T CD4⁺, à travers l'expression de la molécule du CMH de classe II et de molécules de Co-stimulation. Ils possèdent également une capacité cytotoxique naturelle à travers les anticorps par le mécanisme d'ADCC (**Catros-Quemener et al.**, 2003). Dans le processus anti-tumoral, ils jouent un rôle important et sont dits associés aux tumeurs (TAM).

❖ Rôle des polynucléaires neutrophiles :

Récemment des neutrophiles ont été décrits comme des cellules infiltrant les tumeurs. Ils sont dits associés aux tumeurs (NAT). Au site tumoral, ces cellules peuvent être impliquées dans l'inhibition de la croissance tumorale ou dans la progression tumorale, via la production de nombreuses cytokines (**figure 7**) (**Mantovani et al.**, 2011).

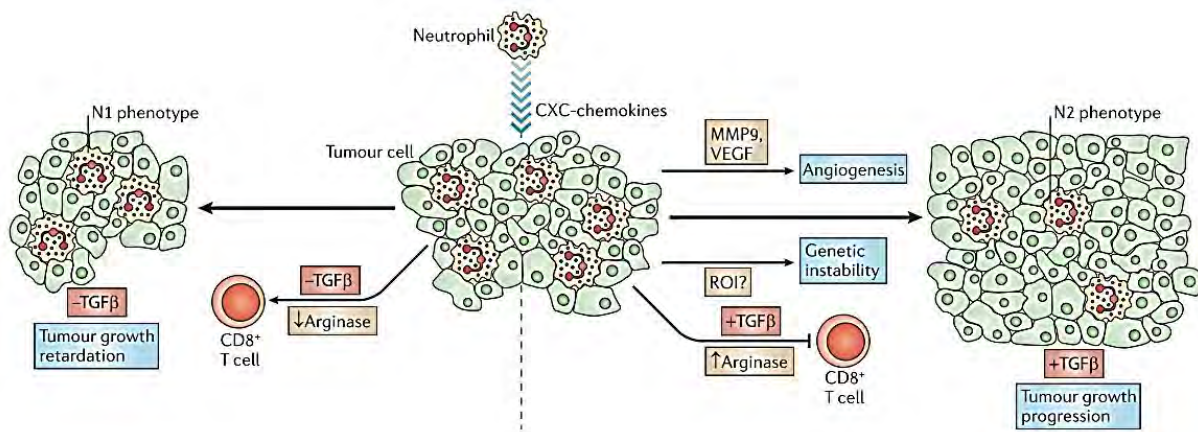


Figure 7 : Rôle des polynucléaires neutrophiles associés aux tumeurs (TAN) (Fridlender et al., 2009)

L'activation des cellules spécialisées dans la présentation de l'antigène constitue la première étape indispensable à l'induction de l'immunité adaptative. Ces cellules sont localisées dans les tissus et sont activées (sous l'influence de cytokines TNF- α) lorsqu'elles

captent un antigène, et migrent ensuite vers le nœud lymphatique drainant le tissu. Lors de la faible lyse des cellules cancéreuses qui se produit physiologiquement, les CPA principalement les cellules dendritiques (DC) captent les antigènes tumoraux. Elles les présentent associés aux molécules de CMH de classe I ou II aux lymphocytes T CD8⁺ et T CD4⁺ respectivement (**Figure 9**) (**Tartour et al.**, 2000).

V.1.2. Immunité adaptative

V.1.2.1. Rôle des lymphocytes T CD4⁺ et des cytokines:

La polarisation de LT CD4⁺ effecteurs en lignages distincts (Th1, Th2, Th17 et Treg) est déterminée au cours de l'activation par des facteurs solubles caractéristiques d'un contexte environnemental donné (**Figure 8**) (**Bailey et al.**, 2014). Ces cellules vont influencer différemment sur le développement tumoral.

❖ Rôle des cellules Th1

Les cellules naïves TCD4⁺ se différencient en Th1 en présence l'IL-12 sécrétée par les CPA. Elles secrètent principalement l'IL-2, l'IL-12, l'IFN- γ , et le TNF. Elles jouent un rôle dans l'activation des NK et des macrophages. Elles sont également essentielles dans l'activation, le maintien de la prolifération et des fonctions des cellules T CD8⁺. Ainsi, l'IFN- γ et l'IL-12 sont impliqués dans l'inhibition de la prolifération des cellules du cancer du col de l'utérus (**Tartour et al.**, 1999). Une réduction de l'expression de l'IFN- γ ou l'altération de son récepteur serait associée à une réduction de l'apoptose et à la prolifération des cellules du cancer du col utérin. De même une forte dose de l'IL-2 a un effet anti-tumoral par recrutement de lymphocytes infiltrant les tumeurs, activation des cellules NK et favorise l'élimination des cellules tumorales (**Arenas-Ramirez et al.**, 2015).

❖ Rôle des cellules Th2

Ce phénotype est obtenu dans un environnement riche en IL-4. Ces cellules produisent préférentiellement de l'IL-4, l'IL-5, l'IL-10 et induisent plutôt une immunité de type humorale. Elles ont pour rôle d'activer les lymphocytes B et supporteraient la progression du cancer du col (**Feng et al.**, 2012). De même les cytokines produites par les Th2 sont associées à un mauvais pronostic clinique dans le cancer du col de l'utérus (**van Driel et al.**, 1999).

❖ Rôle des cellules Th17

Les cellules TCD4⁺ naïves peuvent se différencier en effecteurs Th17 en présence de l'IL-6, le TGF- β et l'IL-23, qui produisent l'IL-17 (**Brucklacher-Waldert et al.**, 2009) (Figure 8). L'IL-17 induit la production de l'IL-12 par les macrophages, ce qui conduit à l'activation des CTL (**Jovanovic et al.**, 1998). Elle favorise la maturation des cellules dendritiques, en augmentant l'expression des molécules dites de co-stimulation et du CMH II (**Antonyamy et al.**, 1999). L'IL-17 induit aussi une angiogenèse qui pourrait favoriser l'immunité anti-tumorale en facilitant l'accès des TIL au niveau de la tumeur (**Murugaiyan et al.**, 2009).

❖ Rôle des cellules Treg

La différenciation en Treg se fait dans un environnement riche en IL-2 et TGF- β . Ces cellules produisent de l'IL-10, le TGF- β et l'IL-35 qui suppriment l'activité d'autres cellules T impliquées dans l'immunité anti-tumorale. Ce qui favoriserait la progression du cancer du col de l'utérus (**Jordanova et al.**, 2008) (Figure 8).

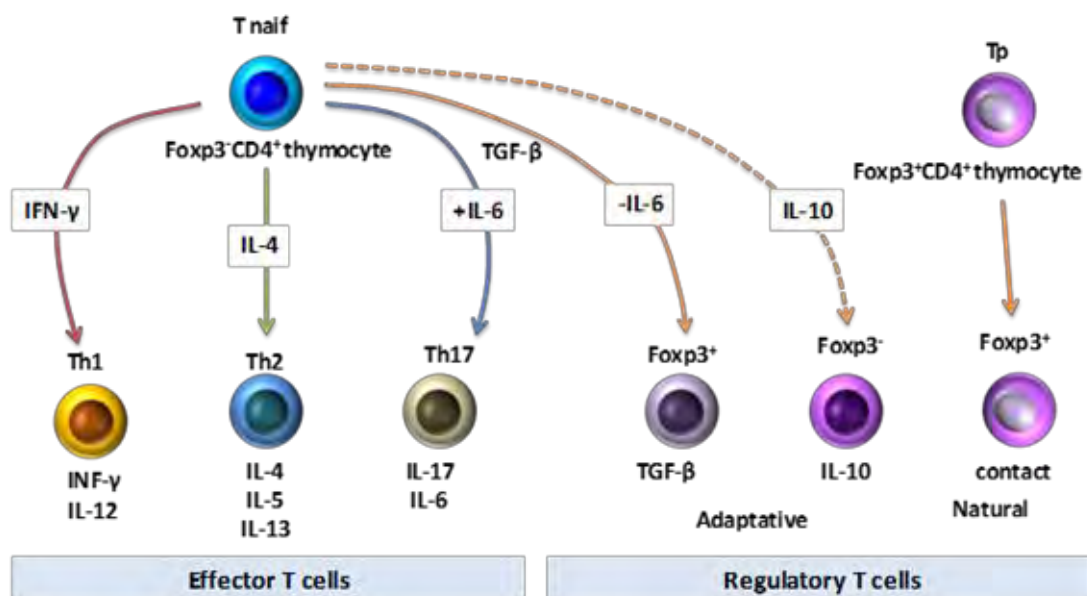


Figure 8 : Différentes sous-populations des cellules T CD4⁺ (**Bailey et al.**, 2014)

V.1.2.2. Rôle des lymphocytes T CD8⁺

Après leur activation, les lymphocytes T CD8⁺ se différencient en cellules cytotoxiques ou CTL et en cellules mémoires. Les CTL utilisent les mêmes voies de lyse que les cellules NK pour déclencher l'apoptose et la lyse des cellules tumorales. Les CTL sont impliqués dans la régression des tumeurs du col de l'utérus (**Jordanova et al.**, 2008).

V.1.2.3. Rôle des lymphocytes B et des Anticorps

Les lymphocytes B sont stimulés par les Th2, ce qui entraîne leur prolifération et différenciation en plasmocytes producteurs d'anticorps ou en cellules B mémoires. Les anticorps, lorsqu'ils se fixent sur les cellules tumorales, entraînent la lyse de ces dernières par différents mécanismes (**Bellet**, 2004):

- ❖ **ADCC** (Antibody - Dependent Cellular Cytotoxicity) : l'anticorps reconnaît les cellules tumorales par son fragment Fab, ensuite grâce à son fragment Fc, se lie aux cellules effectrices (cellules NK, macrophage) qui portent un récepteur pour le fragment Fc ; ce qui entraîne la lyse des cellules tumorales ;
- ❖ **CDC** (Complement Dependent Cytotoxicity) : l'anticorps induit une cascade d'activation classique du complément qui aboutira à la lyse de la cellule tumorale ;
- ❖ **Opsonisation** : la fixation de l'anticorps à la surface de la cellule tumorale facilite sa phagocytose.

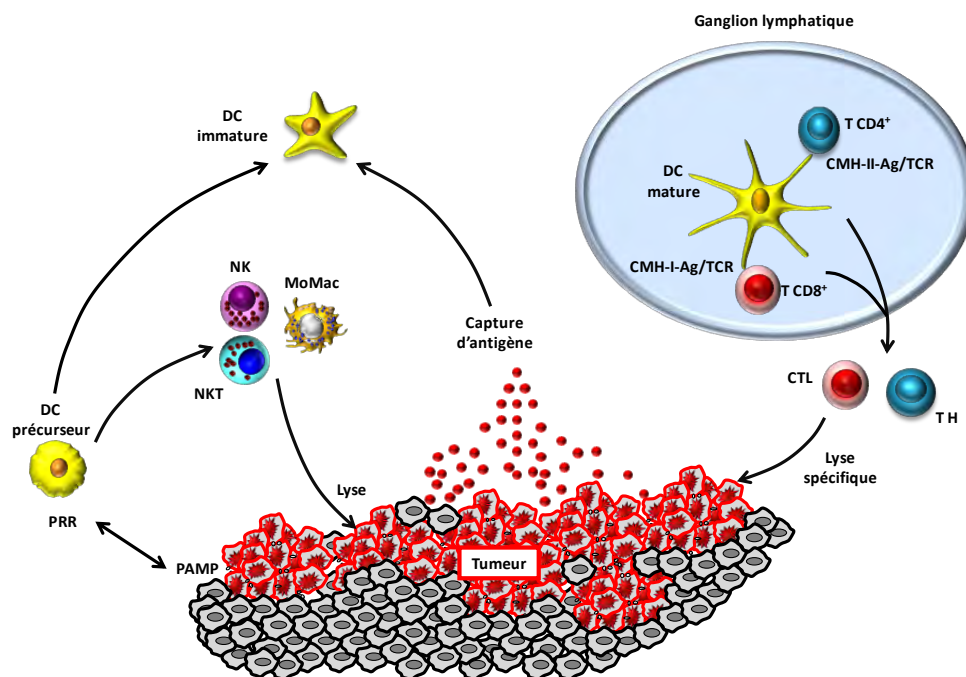


Figure 9 : Réponse immunitaire anti-tumorale (Catros-Quemener *et al.*, 2003)

V.2. Mécanismes d'échappement

Il est bien établi que les cellules tumorales peuvent être reconnues spécifiquement par les cellules immunes effectrices. Bien qu'ils soient présents, ces effecteurs peuvent être inefficaces. La tumeur continue alors de se développer et les métastases peuvent envahir les différents organes. En dépit de l'antigénicité de la tumeur, de multiples mécanismes seraient

mis en jeu dans son échappement au contrôle par le système immunitaire. Les plus fréquents sont l'induction d'une immunosuppression, la production de facteurs de croissance et d'angiogenèse, et le blocage de la présentation des antigènes.

V.2.1. Induction d'une immunosuppression

La sécrétion de facteurs suppresseurs de la réponse immunitaire par les cellules tumorales s'oppose à la mise en place des mécanismes de défense par les cellules immunitaires. Parmi ces facteurs nous avons principalement :

- TGF- β et IL-10 :

Ce sont des cytokines immunosuppressives produites par les Treg et les macrophages tumoraux. Dans la plupart des cancers, y compris le cancer du col de l'utérus. Le TGF- β induit une mitose incontrôlée, active les signaux de croissance, provoque l'échappement à l'apoptose, favorise l'invasion des tissus et augmente l'expression de l'IL-10. Il inhibe également l'activité des cellules NK, l'expression des molécules de CMH II et la production de lymphocyte cytotoxiques (Platanias, 2005). L'IL-10 induit l'immunosuppression en inhibant les cytokines de type Th1 (Bijjiga, 2013).

- Protéines inhibitrices de l'apoptose :

Des variantes de cellules tumorales surexprimeraient des gènes anti-apoptotiques , des protéines inhibitrices de FASL et de granzymes B, ce qui les rendrait insensibles à l'apoptose médiée par les effecteurs de la réponse immunitaire (Piersma, 2011).

- Macrophages associés aux tumeurs (TAM) :

Ce sont des macrophages de phénotype M2, recrutés par les cellules tumorales. Ils secrètent une large gamme de cytokines et de chimiokines qui entraînent l'altération du phénotype des DC et la modulation de la réponse des cellules T (Piersma, 2011).

V.2.2. Production de facteurs de croissance et d'angiogenèse

L'IL-17 aurait un effet direct mineur sur les cellules tumorales dû au fait que toutes les cellules tumorales n'expriment pas son récepteur (Kryczek *et al.*, 2009). Son rôle principal dans le cancer reposerait sur sa propriété pro angiogénique. L'IL-17 induit un éventail de médiateurs angiogéniques, tels que IL-6, IL-8, VEGF, et le TGF- β ; ce qui conduit à la formation de nouveaux vaisseaux sanguins et à une croissance tumorale accrue. Il agirait également en synergie avec l'IL-1 β et le TNF- α produits par les macrophages pour recruter les neutrophiles et créer un état inflammatoire chronique (Aggarwal *et al.*, 2002). De plus l'IL-

17 pourrait déplacer l'équilibre biologique local vers une prédominance de chimiokines angiogéniques. Dans le cancer du col l'IL-17 induirait une augmentation de la croissance tumorale par la production d'IL-6 (**Tartour et al.**, 1999).

V.2.3. Blocage de la présentation de l'antigène

Les cellules tumorales ont une faible immunogénicité, ce qui entraîne un défaut d'induction ou de maintien de la réponse immunitaire. Ceci serait dû :

- à la baisse de l'expression des peptides immunodominants à la surface des cellules tumorales pour une reconnaissance efficace par les TCR ;
- à la baisse de l'expression de molécules du CMH sur les cellules tumorales ;
- à l'absence de molécules de co-stimulation (molécule de la famille B7) à la surface des tumeurs et l'absence de second signal qui peut induire des phénomènes d'anergie des lymphocytes spécifiques.

Dans le cas des cellules tumorales exprimant la protéine E7 des HPV, on assiste à une induction de la tolérance, dû à l'absence de réaction inflammatoire et de signaux de danger indispensables à l'activation des cellules dendritiques. Dans ce cas précis, les antigènes tumoraux sont assimilés à des peptides du soi du fait de leur expression dans les CIN (**Matzinger**, 2002). On peut également assister à une régulation négative du CMH I, ceci empêche l'activation des CTL (**Campo et al.**, 2010).

VI. Facteurs de risque

De nombreux facteurs sont susceptibles de favoriser l'infection et la persistance virales. Ils agissent comme des cofacteurs de la carcinogénèse favorisant ainsi le processus de cancérisation (**Albero et al.**, 2014).

VI.1. Facteurs environnementaux

De nombreux facteurs environnementaux ou exogènes ont été identifiés :

- utilisation à long terme de contraceptifs oraux (plus de 5ans) (**Ghanem et al.**, 2011) ;
- tabagisme actif : plus de 15 cigarettes par jour ou passif (**Trimble et al.**, 2005) ;
- présence d'IST comme les infections à *Herpes simplex virus* de type 2 ou *Chlamydia trachomatis* ;
- existence d'un déficit immunitaire acquis (infection au VIH, transplantation d'organe) et

- facteurs nutritionnels : malnutrition multi-carencielle.

VI.1. Facteurs viraux

La carcinogenèse peut être favorisée par le génotype impliqué dans l'infection (HPV-16 et HPV-18), une charge virale élevée, et le variant du virus (**Lowe et al.**, 2011; **Wright et al.**, 2012).

VI.3. Facteurs endogènes

Il s'agit de facteurs liés à l'hôte. C'est le cas de certains facteurs génétiques qui favorisent la carcinogenèse, comme le polymorphisme des gènes HLA de classe II. Le statut hormonal lié aux grossesses ou à la ménopause serait également impliqué dans le risque carcinogène, de même que l'âge, le comportement sexuel et l'immunodépression (**Castellsague et al.**, 2014; **Kim et al.**, 2012)

VII. Diagnostic et traitement

VII.1. Diagnostic

Le diagnostic est basé sur le classique trépied frottis-colposcopie-biopsie, avec une fiabilité de 95%.

- **le frottis cervico-utérin (FCU)** : elle a pour but de détecter les cellules anormales pouvant correspondre à la présence d'une lésion précancéreuse et ainsi de savoir si la patiente a besoin ou non d'un suivi particulier (dépistage et suivi des lésions précancéreuses).
- **la colposcopie** est l'examen du col à la loupe binoculaire (colposcope). Elle permet de localiser les lésions, d'apprécier leur gravité et de diriger la biopsie.
- **la biopsie cervicale** consiste à la pratique d'une biopsie du col au niveau de la lésion suspecte. Les fragments prélevés seront analysés au microscope (**NCI**, 2016).

VII.2. Traitement

Trois types de traitements sont utilisés pour les cancers invasifs du col de l'utérus : la chirurgie, la radiothérapie (radiothérapie externe ou curiethérapie) et la chimiothérapie (**Eifel et al.**, 1991).

Ces traitements peuvent être utilisés seuls ou associés les uns aux autres. Ils ont pour buts, de supprimer la tumeur et/ ou les métastases, réduire le risque de récurrence, de ralentir le développement de la tumeur ou des métastases, de traiter les symptômes engendrés par la

maladie. Le choix et l'ordre des traitements dépendent du stade du cancer (classification élaborée par la Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique (**Annexe 1**)) au moment du diagnostic et d'autres critères.

En ce qui concerne la chimiothérapie, elle repose sur l'administration de médicaments anticancéreux (**Tableau II**). Ces médicaments agissent en altérant le mécanisme intime de la cellule cancéreuse, en particulier sa division. Lorsqu'elle est administrée après la chirurgie, on parle de chimiothérapie adjuvante. Elle est indiquée lorsque les risques de récurrences sont importants. La chimiothérapie est néo-adjuvante lorsqu'elle est administrée avant la chirurgie. Dans ce cas, elle réduit la taille de la tumeur pour permettre une chirurgie conservatrice. Ces médicaments administrés par perfusion ou par voie orale, s'utilisent suivant des protocoles dits de chimiothérapie. Ces protocoles associent des médicaments, dont le plus utilisé est l'association Cisplatine et 5-fluoro-uracil (5-FU) (NCI, 2016).

Tableau II : Principales molécules de chimiothérapie utilisées dans le traitement du cancer du col de l'utérus.

Dénomination commune internationale	Spécialité	Classe pharmacologique
Cisplatine	Platinol®	Sel de platine
Paraplatine	Carboplatine®	Sel de platine
Paclitaxel	Taxol®	Taxane, poison du fuseau
Topotécan	Hycamtin®	Topoisomérase de type I
Gemcitabine	Gemzar®	Antipyrimidique
5 fluoru-uracile (5-FU)	Fluoro-Uracile®	Antipyrimidique, antimétabolite

VIII. Hypothèse et objectifs de l'étude

Les différentes sous population de LT CD4 effecteurs auraient une fonction importante dans l'immunité anti-tumorale. De même, les facteurs solubles produits par ces lymphocytes joueraient un rôle crucial dans la réponse immunitaire anti-tumorale. Parallèlement, les propriétés immuno-stimulatrices des chimiothérapies montrent que ces agents anticancéreux constituent une composante importante dans la stimulation de l'immunité anti-tumorale naturelle. La mise en place de nouveaux médicaments anticancéreux adaptés aux différents phénotypes clinico-biologiques, s'avère plus que nécessaire. Ces

avancées thérapeutiques doivent reposer d'une part sur une meilleure connaissance des facteurs favorables à la croissance ou à la métastase des cellules tumorales et d'autre part sur un suivi des malades basé sur des paramètres clinico-biologiques avec valeur pronostique certaine. Principalement orientées vers la caractérisation de biomarqueurs, plusieurs études antérieures portant sur l'inflammation et la réponse immunitaire au niveau de l'environnement tumoral, ont rapportées les actions pro ou anti-tumorales d'effecteurs immunitaires, en particulier celles de l'IL-17A dans le cancer du col utérin (**Zou et Restifo**, 2010) et proposé l'étude de son profil évolutif dans le suivi des cancers

Il s'agit d'une cytokine pro-inflammatoire, impliquée dans l'évolution de nombreux cancers (**Souza et al.**, 2013). En effet, l'IL-17 produit par les cellules TCD4⁺ de type Th17, induirait des médiateurs qui favorisent la granulopoïèse, le recrutement, la prolifération, l'accumulation et la survie prolongée des neutrophiles (**Cua et al.**, 2010; **Pelletier et al.**, 2010). Mais l'impact de la chimiothérapie sur la réponse immunitaire impliquant l'IL-17 reste incompris. De même, l'intérêt du dosage de cette cytokine acteurs immuns dans le pronostic de la réponse au traitement reste flou à ce jour. La maîtrise de ces éléments est essentielle à l'élaboration de nouvelles stratégies thérapeutiques combinant immunothérapie et chimiothérapie.

Dans cette optique, nous nous sommes fixés comme objectif d'étudier l'intérêt pronostic du dosage sérique de l'IL-17A chez des femmes atteintes du cancer du col de l'utérus et soumises à une chimiothérapie néo-adjuvante. Ce travail devrait également permettre de déterminer le profil évolutif de l'IL-17A dans le cancer du col de l'utérus.

Partie 2: MATERIELS ET METHODES

I. Cadre d'étude

L'Institut de cancérologie Joliot-Curie de l'hôpital Aristide Le Dantec de Dakar a servi de cadre pour le recrutement des malades. Créé en 1960, il est consacré à la prise en charge de tous les cas de cancer. Installé dans un CHU, il comprend un pôle de chirurgie, un pôle de radiothérapie et un pôle de chimiothérapie, et des secteurs de consultation et d'hospitalisation. Les patientes atteintes de cancer du col de l'utérus y ont été toutes recrutées et suivies. Pour les contrôles, il s'agit de femmes indemnes de toute tumeur connue au moment du recrutement ayant été réalisé au niveau de l'Unité de biologie médicale de l'Institut Pasteur de Dakar.

Les analyses immunologiques ont été faites au niveau de l'Unité d'Immunogénétique de l'Institut Pasteur de Dakar. Il s'agit d'une unité au sein de laquelle sont menées des investigations relatives à l'immunologie et à la génétique de l'infection palustre, aux cancers du col utérin et du sein ainsi qu'aux maladies inflammatoires, notamment le lupus érythémateux disséminé.

II. Etudes immunologiques

Nous avons utilisé la technique ELISA pour la détermination des taux de l'IL-17A

II.1. Matériels

Notre étude a nécessitée l'utilisation de certains matériels.

II.1.1. Matériel de laboratoire

Les matériels utilisés comprennent :

- une hotte à flux laminaire vertical (Flufrance[®], France)
- une centrifugeuse (Jouan[®] GR412)
- un congélateur à -20°C (glass line Liebherr[®])
- un réfrigérateur à -4°C (Westpoint Tropical[®])
- des tubes avec EDTA (Becton Dickinson S.A, Vacutainer)
- des tubes d'échantillonnage 1,8ml (Nunc[®] Danemark)
- des micropipettes (20µl, 200µl, 1000µl), (Gilson Medical Electronics[®] S.A., France)

II.1.2. Tampons et réactifs de laboratoire

Pour l'évaluation du taux de l'IL-17A avec la technique ELISA, des tampons ont été préparés et un kit de réactifs nous a été fourni.

II.1.2.1. Tampons préparés

❖ **Tampon de lavage** : PBS + 0,05% de Tween-20 pour un litre

H₂O distillée.....1000 ml
PBS1X : 1 pastille..... 200ml d'eau distillée.
Tween 20 (Labosi[®], France) : 1ml.....1l PBS 1X.

❖ **Solution de saturation** : PBS 1X + Tween + BSA 1%

10g BSA.....1l solution de lavage (PBS1X + tween)

❖ **Solution d'arrêt**

H₂SO₄10 ml
Eau distillée.....90ml

II.1.2.2. Kit de dosage de l'IL-17A

Dans la présente étude nous avons dosé les taux sériques d'IL-17A. Ce dosage a été fait avec les kits ready SET-GO[®] (Affymetrix eBioscience Inc., San Diego, CA, USA).

Chaque kit renferme les produits suivants :

- flacon de l'Anticorps de capture (250X).....0,5 ml
- flacon de l'Anticorps de détection (250X).....0,5 ml
- tampon de coating (10X).....12 ml
- solution de dilution (5X).....150 ml
- flacon de l'enzyme de détection (Avidine-HRP 250X).....0,5 ml
- solution de substrat (TMB 1X).....100 ml
- standard lyophilisés10 flacons
- plaques ELISA.....10

II.1.3. Population d'étude et matériel biologique

Des prélèvements veineux sur tube EDTA ont été effectués chez les cinquante-sept (57) patientes atteintes de cancer du col utérin, avant la première cure de chimiothérapie (prélèvement P1), avant la deuxième cure de chimiothérapie (prélèvement P2) et avant la troisième cure de chimiothérapie (prélèvement P3). Cinquante-neuf (59) femmes indemnes de toutes tumeurs, ont servi de contrôle. Les sérums ont été recueillis dans des tubes Nunc, après centrifugation à 1500 rpm pendant 5 mn.

Toutes les patientes ont suivi un protocole de chimiothérapie. La prise d'un traitement antérieur, l'infection à VIH ont été considérés comme des critères d'exclusion. Un consentement libre et éclairé a été signé par les patientes et femmes contrôles (**Annexe 2**).

II.2. Méthodes

II.2.1. Dosage de l'IL-17A

II.2.1.1. Principe

La technique utilisée est l'ELISA. C'est une technique de dosage immuno-enzymatique reposant sur l'utilisation d'antigènes ou d'anticorps fixés sur une phase solide (généralement une plaque en plastique) et permettant de capter l'anticorps ou l'antigène étudié. L'addition d'immunoglobulines hétérologues conjuguées à une enzyme permet la transformation d'un substrat incolore en produit coloré dont l'intensité, mesurée en Densité Optique (DO), est proportionnelle à la quantité d'anticorps ou d'antigènes capturés (**Figure 10**).

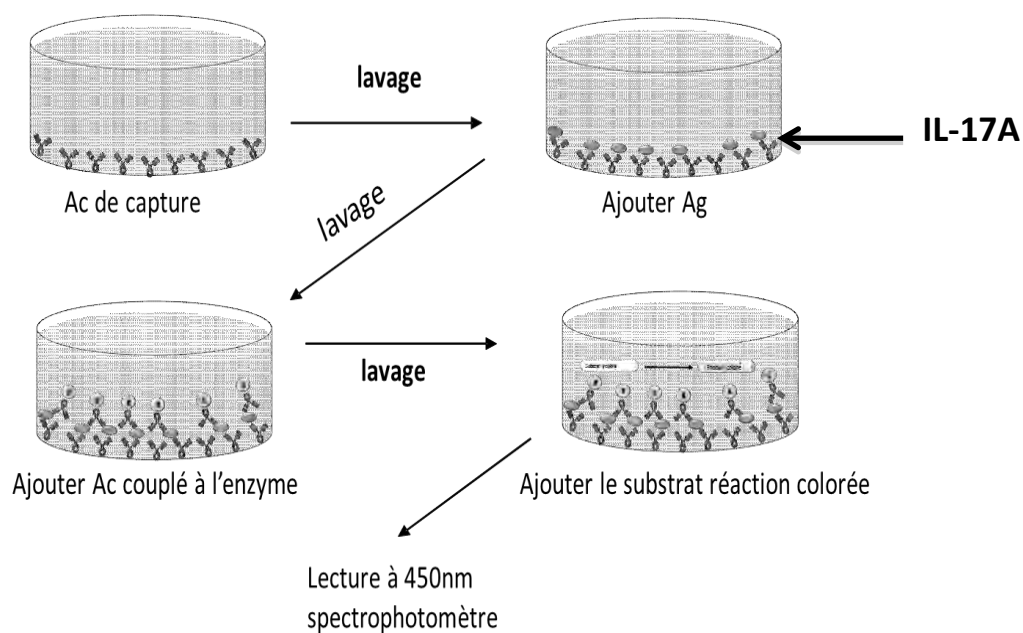


Figure 10 : Principe du dosage de l'IL-17A par ELISA

II.2.1.2. Mode opératoire

1. Etape de sensibilisation des plaques avec l'anticorps de capture

Mettre dans tous les puits 100µl d'Ac de capture 1X dilué avec du coating buffer ; recouvrir la plaque et incuber à 4°C pendant une nuit.

2. Saturation des plaques

- laver les plaques trois fois avec du tampon de lavage et éliminer l'eau résiduelle en les tapant contre un papier absorbant ;
- distribuer dans tous les puits 200 µl de Assay diluent ;
- recouvrir et incuber à température ambiante pendant 1 heure.

3. Addition des sérums :

- laver les plaques trois fois avec le tampon de lavage et éliminer l'eau résiduelle ;
- reconstituer et diluer le standard pour avoir une concentration finale de 500 pg/ml ;
- distribuer 100 µl d'Assay Diluent 1X (dilué) dans tous les puits de standard sauf les deux premiers ;
- distribuer 200 µl de standard préparé dans les deux premiers puits, reprendre 100 µl et faire les dilutions de moitié dans les autres puits de standard. Rejeter les 100 µl restants à la fin ;
- mettre 100 µl des sérums des patientes dans les puits conformément au schéma de plaque ;
- recouvrir et incuber pendant deux heures à température ambiante.

4. Addition de l'anticorps conjugué

- laver trois fois les plaques avec le tampon de lavage et éliminer l'eau résiduelle ;
- mettre 100 µl d'Ac de détection 1X (dilué) dans tous les puits ;
- recouvrir et incuber pendant une (1) heure à température ambiante

5. Ajout de l'enzyme de détection

- laver les plaques trois (3) fois avec le tampon de lavage et éliminer l'eau résiduelle ;
- ajouter dans tous les puits 100 µl d'enzyme de détection (Avidin-HRP) dilué 1X ;
- recouvrir la plaque et incuber pendant trente (30) minutes à température ambiante.

6. Etape de révélation

- laver les plaques quatre (4) fois avec le tampon de lavage ;
- ajouter 100 µl de substrat dans tous les puits ;
- incuber pendant 15 min à température ambiante ;
- ajouter 50 µl de solution d'arrêt dans tous les puits.

II.2.2. Acquisition et analyse des données

Le lecteur ELISA nous a permis d'obtenir les Densités Optique (DO) à une longueur d'onde primaire de 450 nm et une longueur d'onde de référence de 620 nm. Le logiciel Softmax Pro® a permis de déterminer la concentration d'IL-17A dans les différents échantillons à partir des DO selon la courbe des standards (**Figure 11**).

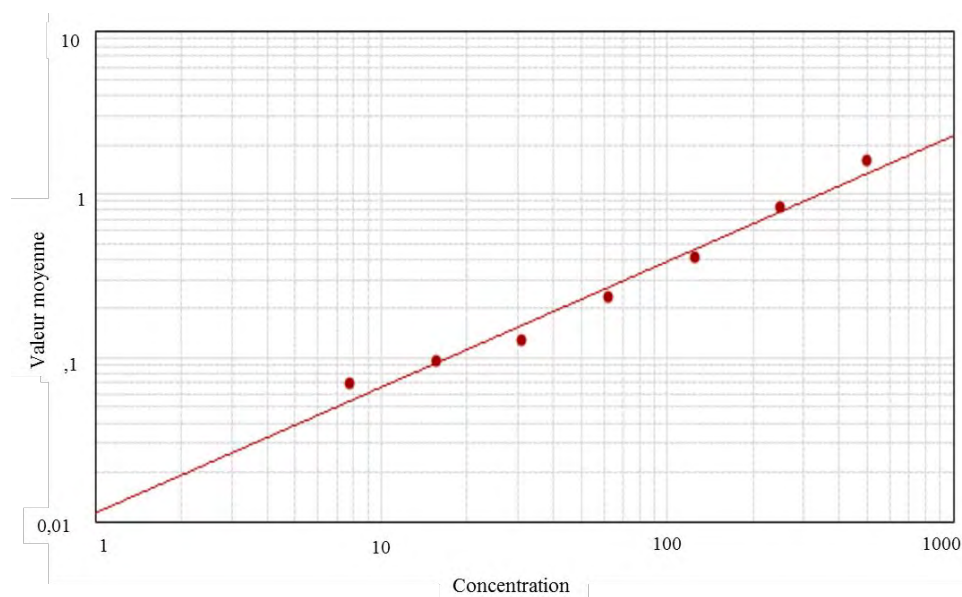


Figure 11 : Courbe du standard sur Softmax Pro®

II.2.3. Analyses statistiques

Les données ont été analysées avec le logiciel Statview® version 5.1. Les tests non paramétriques de Mann Whitney et de Kruskal-Wallis ont été utilisés pour les comparaisons des taux d'IL-17A et la recherche de corrélation a été faite grâce au test des rangs de Spearman. Une valeur a été considérée comme significative lorsque la probabilité $p < 0,05$.

Partie 3 : RESULTATS ET DISCUSSION

I. Résultats

I.1. Caractéristiques de la population d'étude

La présente étude a concernée cinquante-sept (57) patientes atteintes de cancer du col utérin, soumises à une chimiothérapie néo-adjuvante et cinquante-neuf (59) femmes contrôles indemnes d'une tumeur diagnostiquée. Les données des malades et contrôles sont résumées au niveau du **Tableau III**.

L'âge moyen était significativement plus élevé chez les patientes (53,8 *versus* 27,4 ; $p < 0,001$). Parmi les données hématologiques, seul le taux de polynucléaires a été significativement le plus élevé (10,36 *versus* 1,90 ; $p < 0,001$). Pour toutes les autres données hématologiques aucune variation significative n'a été observée.

Tableau III : Caractéristiques de la population d'étude

Caractéristiques	Patientes (N = 57)	Contrôles (N = 59)	<i>p</i>
Age moyen (ans)	53,8 (35-77)	27,4 (20-49)	< 0,0001
Lymphocytes (10³/μl)	2,2 (0,2-8,6)	2,2 (1,8 – 3,1)	0,37
Polynucléaires (10³/μl)	10,3 (1,8-80,6)	1,9 (1,2 – 2,7)	< 0,001
Monocytes (10³/μl)	0,9 (0,1 – 8)	0,5 (0,3 – 1,4)	0,11
Globule rouge (10⁶/μl)	4,9 (2,1 – 14,5)	4,6 (4,1 – 5,3)	0,59
Hémoglobine (g/l)	11,2 (6,8 – 13,9)	12,7 (11,8 – 15,0)	0,07
Hématocrite (%)	37,3 (23,7 – 68)	37,4 (36,4 – 39,7)	0,68

Au plan clinique, 96% des tumeurs étaient de type carcinome épidermoïde et 4% de type adénocarcinome. Sur la base de la classification de FIGO, nos résultats ont montré une prédominance du stade IIB (21%). Les autres stades retrouvés sont IIIA (16%), IVA (11%), IIA (5%), IVB (5%) ; IIIB (4%) et IB (2%). Les moyennes de la gestité et de la parité étaient quasi similaires.

Au plan thérapeutique, la combinaison cisplatine et 5 FU a été la plus utilisée. Elle a concernée 65% des patientes avec en moyenne trois (3) cures par patiente. La combinaison

carboplatine et taxol a été administrée chez les autres patientes (35%). Cependant, il convient de préciser que parmi les cinquante-sept (57) patientes initialement prélevées à P1 (première cure), vingt-six (26) sont revenues à P2 c'est-à-dire pour la deuxième cure et dix-neuf (19) à P3 correspondant à la troisième cure.

I.2. Evaluation du profil évolutif des taux d'IL-17A

I.2.1. Comparaison des taux d'IL-17A entre les contrôles et les patientes avant traitement

Les taux sériques d'IL-17A ont été étudiés par la technique ELISA, pour rechercher d'éventuelles variations chez les patientes par rapport à des femmes contrôles. Cette comparaison a montré des taux plus élevés d'IL-17A chez les patientes avant le traitement. Cependant la variation observée n'est pas significative au plan statistique ($p = 0,173$) (**figure 12**). Nous avons observé une variation significative de l'âge entre nos deux groupes d'individus, sur la base de ce constat, il a été opportun d'évaluer l'influence de cette variation sur le taux d'IL-17A. C'est ainsi qu'aucune corrélation n'a été observée entre l'âge et les taux sériques d'IL-17A dans les deux groupes d'individus.

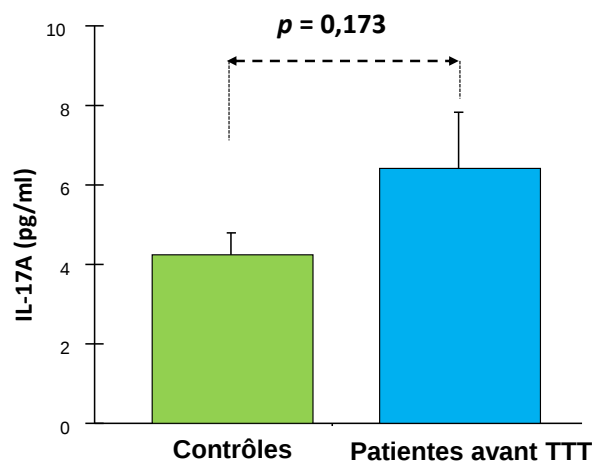


Figure 12 : Variations des taux sériques d'IL-17A avant le traitement.

I.2.2. Profil évolutif du taux d'IL-17A au cours du traitement chez les patientes

Le profil évolutif des taux de la cytokine a été étudié au cours des trois séances de chimiothérapie. Les résultats obtenus sont illustrés au niveau de la **figure 13**. Il a été observé une légère augmentation des taux d'IL-17A après la première cure de chimiothérapie. Cette augmentation est apparue beaucoup plus nette à la suite de la seconde cure. Cependant, par

rapport aux femmes contrôles, cela ne se traduit pas chez les malades par une hausse significative des taux d'IL-17A.

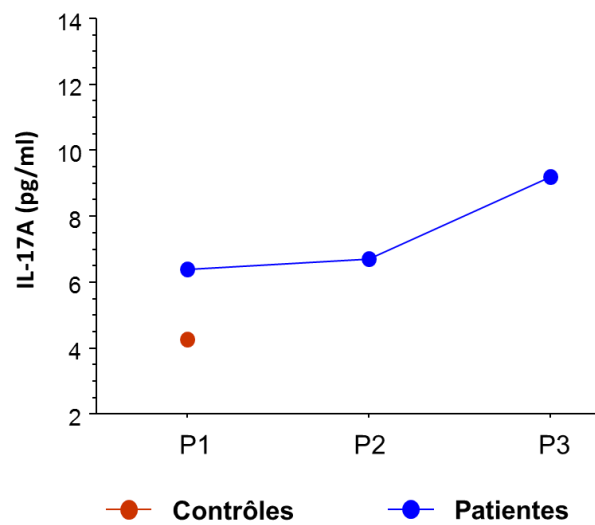
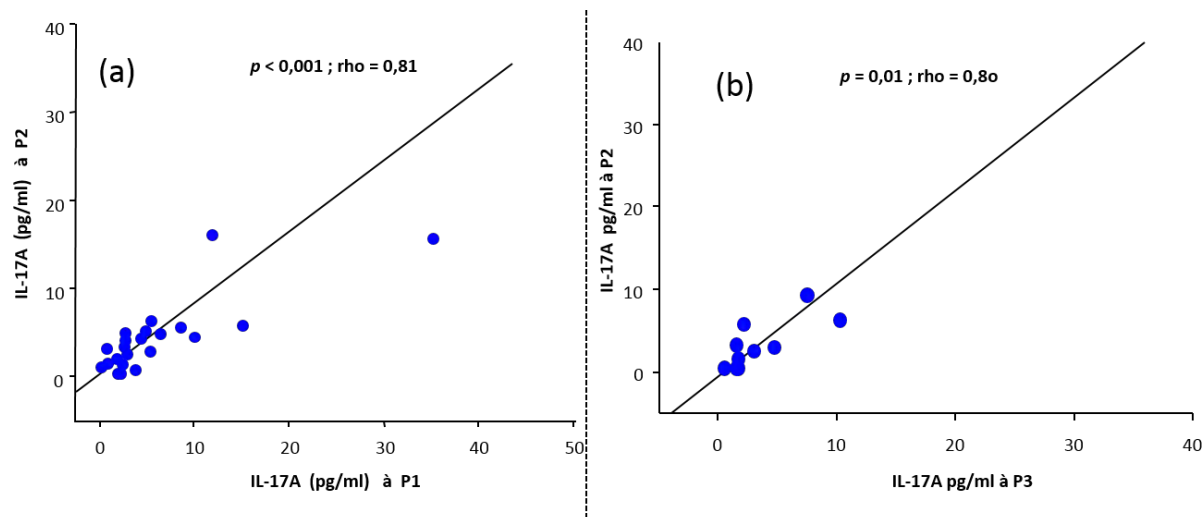


Figure 13 : Evolution des taux sériques d'IL-17A au cours du traitement.

I.2.3. Relation entre les taux d'IL-17A au cours du traitement

Nous nous sommes également intéressés à la recherche d'interrelation entre les taux d'IL-17A lors des trois cures de chimiothérapie (**figure 14**). Une forte corrélation positive a été retrouvée entre les taux d'IL-17A avant la première cure (P1) et ceux de la deuxième cure (P2) ($p < 0,001$; $\rho = 0,81$; *Test des rangs de Spearman*) (**figure 14a**). Une liaison similaire a été aussi observée entre les taux de la cytokine à P2 et à P3 ($p = 0,011$; $\rho = 0,80$; *Test des rangs de Spearman*) (**Figure 14b**).



Test des rangs de Spearman : ρ = coefficient de corrélation ; p = probabilité

Figure 14 : Corrélation entre les taux d'IL-17A au cours du traitement

I.2.4. Variation des taux d'IL-17A suivant le protocole de chimiothérapie

En utilisant le test de Wilcoxon, nous avons effectué une analyse comparative des taux d'IL-17A au cours des trois séances de chimiothérapie (**Figure15**). Aucune variation statistique des taux sériques de la cytokine n'a été retrouvée lors des trois cures pour les patientes ayant été traitées par l'association cisplatine/5 FU. Par contre, chez les patientes ayant reçu l'association carboplatine/ taxol, une augmentation des taux de la cytokine a été observée. Au plan statistique cette différence n'est pas significative ($p > 0,05$).

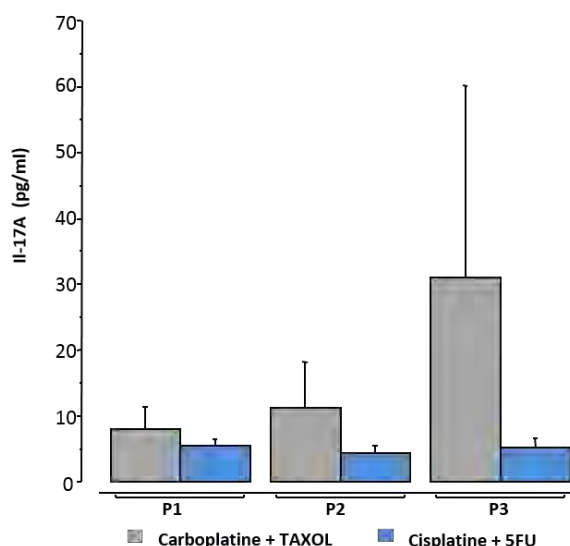


Figure 15 : Comparaison des taux d'IL-17A suivant le protocole de chimiothérapie

I.2.5. Profil évolutif des taux d'IL-17A suivant la réponse au traitement

L'évaluation du taux d'IL-17A suivant la réponse au traitement, a montré une variation du taux d'IL-17A à chaque prélèvement en fonction du type de réponse (**figure 16**). Chez les patientes ayant une réponse nulle au traitement, il a été noté une augmentation du taux d'IL-17A. Cette augmentation a été observée après chaque cure de chimiothérapie c'est-à-dire à P2 et à P3. Chez les patientes ayant eu une réponse partielle le taux d'IL-17A avait légèrement baissé à P2 avant d'augmenter à P3. Toutefois, il n'existe aucune différence significative entre les taux de la cytokine à P1, P2 et P3. Le même phénomène a été observé chez les patientes ayant eu une réponse totale au traitement. En revanche, le niveau de l'IL-17A à P3 pour la réponse totale reste le plus bas comparé aux autres types de réponses. La comparaison des taux de la cytokine à chaque prélèvement en fonction du type de réponse, n'a montré aucune différence significative sur le plan statistique ni à P1, ni à P2. Par contre, une différence statistiquement significative a été notée à P3 ($p = 0,048$) (**figure 16**).

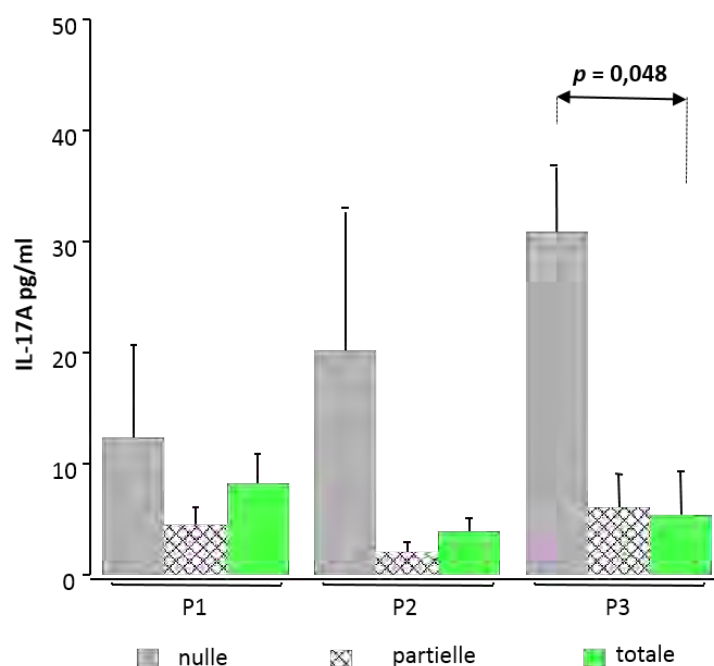


Figure 16 : Evolution des taux sériques d'IL-17A suivant la réponse au traitement

I.3. Corrélation entre les taux d'IL-17A et les données clinico-biologiques

Dans cette partie, nous nous sommes plus intéressés aux données hématologiques, telles que les taux de lymphocytes, de polynucléaires, d'hématocrite et d'hémoglobine. Seul le taux d'hémoglobine est apparu positivement corrélé à la concentration sérique de l'IL-17A ($p = 0,01$; $\rho = 0,81$). Concernant les données cliniques, notre choix a porté sur la taille

tumorale et le type de tumeur. Les résultats n'ont montré aucune variation significative des taux d'IL-17A chez les patientes concernées.

II. Discussion

Dans nos régions l'apparition précoce de cancer du col de l'utérus et la difficulté de la prise en charge de cette pathologie cancéreuse sont aggravées par une absence de biomarqueurs à valeur diagnostique et pronostique. La présente étude entre dans le cadre d'investigations immunogénétiques devant permettre la caractérisation de biomarqueurs immunologiques. L'objectif principal a été d'évaluer dans le cancer du col utérin, l'impact de la chimiothérapie anticancéreuse sur les taux sériques d'IL-17A. La réalisation de cette étude a nécessité une collaboration quotidienne entre cliniciens et chercheurs dans le cadre du recrutement de deux groupes de personnes : (i) des patientes atteintes du cancer du col de l'utérus nouvellement diagnostiquées et soumises à un protocole de traitement par chimiothérapie et des femmes contrôles indemnes de toute tumeur. Les données obtenues chez ces individus ont été validées par des tests statistiques de comparaison et de corrélation.

Notre discussion s'articulera autour de deux points portant, d'une part sur les avantages et limites de notre démarche méthodologique et d'autre part sur l'argumentation de nos résultats immunologiques.

Devant la variabilité clinique du cancer du col de l'utérus avec l'intervention de plusieurs facteurs environnementaux, génétiques et infectieux, il est clair qu'une étude relative à cette tumeur ne pourra être faite que sur la base d'une définition claire des cas cliniques. Cette exigence explique le choix de l'Institut Joliot Curie de l'Hôpital Aristide Le Dantec comme site de recrutement. En outre, notre choix est aussi basé sur le fait que ce soit l'un des centres exclusivement dédiés à la prise en charge et au suivi des cas de cancer à travers la sous-région. L'institut regroupe diverses spécialités : oncologues, chirurgiens, radiothérapeutes, chimiothérapeutes... Plusieurs travaux y ont été menés concernant le cancer du col de l'utérus (**Mbaye et al.**, 2014; **Ndiaye et al.**, 2014). L'accessibilité géographique du site de recrutement a aussi constitué un atout pour ce choix car cela a permis le traitement rapide des échantillons à l'Institut Pasteur de Dakar.

Les patientes ont été choisies sur la base d'informations recueillies sur un questionnaire. Afin d'assurer la fiabilité et l'exactitude de nos résultats, il a été nécessaire de définir des critères cliniques et biologiques de sélection. Nous nous sommes assurés de

l'exclusion des patientes ayant reçu précédemment un traitement anticancéreux ou présentant une infection au VIH et de l'inclusion de patientes uniquement diagnostiquées d'un cancer du col de l'utérus. A l'image de plusieurs travaux antérieurs, le diagnostic du cancer du col a reposé sur les résultats de l'examen clinico-biologique en particulier le FCV et l'immunohistochimie (**Bergeron et al.**, 2010).

Au plan thérapeutique, le protocole de chimiothérapie utilisé chez 65 % des patientes est l'association Cisplatine/ 5 FU, administrée par IV en fonction des caractéristiques de chaque malade. Ce protocole de chimiothérapie a montré son efficacité avec de meilleures chances de guérison dans de nombreuses études (**Peters et al.**, 2000). Toutefois, l'association Carboplatine /Taxol a été également proposée à certaines patientes notamment celles chez qui, l'association Cisplatine/5 FU était contre-indiquée (**Kitagawa et al.**, 2015). En moyenne trois cures de chimiothérapie ont été effectuées chez chaque patiente avec un intervalle de 21 jours entre les séances. Sur le plan immunologique, ce délai permettait de limiter au maximum l'effet direct du traitement sur la réponse immunitaire. Il s'agit d'un effet antérieurement démontré et qui disparaissait dans les deux semaines suivant la prise de l'anticancéreux. Nos patientes ont reçu une chimiothérapie néo-adjuvante et dans une méta-analyse, il a été démontré que cette forme de chimiothérapie néo-adjuvante prolongeait la durée de vie sans maladie des femmes atteintes d'un cancer du col de l'utérus (**Rydzewska et al.**, 2012).

Au cours du recrutement, nous avons perdu de vue certaines patientes. Ceci est dû principalement au coût élevé du traitement. Aussi, certains cas de refus de consentement de la part de patientes et femmes contrôles, ont-ils constitué des obstacles. Pour certaines patientes, nous avons été confrontés à la non disponibilité des données clinico-biologiques.

Nous avons utilisé la technique ELISA. C'est la technique la plus utilisée pour détecter et doser aussi bien des cytokines solubles, des chimiokines, des facteurs de croissance ou même certaines hormones présentes à très faibles quantités dans le plasma, le sérum ou même dans un surnageant de culture cellulaire. Elle repose sur le principe de fixation spécifique d'un anticorps à un antigène. L'ELISA est une technique de dosage immunologique sensible et spécifique. La limitation de cette méthode est la nécessité d'avoir un antigène possédant au moins deux déterminants antigéniques. La technique a été utilisée dans plusieurs études de cytokines y compris de l'IL-17 avec des résultats satisfaisants (**Baharlou et al.**, 2016).

Au plan immunologique, nos résultats ont montré avant le traitement des taux plus élevés d'IL-17A chez les patientes comparées aux femmes contrôles. Une étude de Zhang *et*

al. a montré que l'IL-17 était fortement exprimé dans le cancer gastrique (**Zhang et al.**, 2009). S'agissant du cancer de l'ovaire, un résultat similaire a été rapporté avec en plus un rôle significatif dans la croissance tumorale et l'angiogenèse (**Kato et al.**, 2001). Ces résultats antérieurs demeurent conformes à nos données ; en effet, ils démontrent l'implication de l'IL-17 dans le développement des tumeurs. Au niveau sérique, les travaux de Lyon *et al.* ont montré une augmentation significative des taux d'IL-17 chez des patientes nouvellement diagnostiquées pour cancer du sein comparées à des femmes saines (**Lyon et al.**, 2008). Cette augmentation pourrait aussi s'expliquer par l'existence d'une inflammation locale au niveau du site tumorale, entraînant la sécrétion non seulement de l'IL-17 mais aussi d'autres cytokines comme l'IL-6 considérée comme un facteur de croissance tumorale (**Cua et al.**, 2010). La production d'IL-17A par les cellules Th17 serait dépendante de l'IL-6 libérée par les CPA (**Bettelli et al.**, 2008), aussi a-t-il été démontré que l'IL-17A induisait une inflammation locale par une forte production d'IL-6 et une faible libération de TGF- β . Ces deux dernières cytokines sont pro-tumorales (**Nam et al.**, 2008).

Nos résultats ont montré une légère augmentation des taux d'IL-17A après les séances de chimiothérapie et aucune variation significative n'a été notée entre les patientes et les femmes contrôles malgré cette augmentation. Ce résultat est en faveur d'une production d'IL-17A par les cellules Th17 (TIL) sous l'influence indirecte des médicaments anticancéreux (**Kryczek et al.**, 2007). Cette libération ne peut alors se ressentir que faiblement au niveau sérique, d'où l'importance d'une caractérisation des lymphocytes Th17 intra-tumoraux produisant la cytokine. Le concept d'immuno-contexture récemment développé dans la prise en charge et l'évaluation de valeur pronostique de la présence de cellules immunitaires intra tumorales (Th1 et TCD8⁺), consolide cette perspective et explique l'intérêt d'une étude des cellules Th17 dans le tissu tumoral (**Becht et al.**, 2016). Cette exploration est d'autant plus nécessaire que nous avons retrouvé après la seconde cure, une différence des taux d'IL-17A entre les trois groupes de patientes définies suivant le type de réponse au traitement. En effet, nos données ont montré des taux d'IL-17A plus élevés chez les patientes à réponse nulle. Il s'agit d'un résultat consolidant le rôle pro-tumoral de la cytokine étudiée (**Numasaki et al.**, 2003). Ce constat suggère une éventuelle orientation de la réponse immunitaire vers les types Th17 et/ou Th2 au profit des réponses Th1 et/ou TCD8 qui seraient protectrices au niveau du microenvironnement tumorale (Immunoscore).

Conclusion

Notre étude a eu pour but d'étudier l'intérêt pronostic du dosage sérique de l'IL-17A chez des femmes atteintes du cancer du col de l'utérus et soumises à une chimiothérapie. Cette démarche a nécessité le recrutement de patientes diagnostiquées du cancer du col et leur suivi durant trois séances de chimiothérapie. Des femmes saines ont également été recrutées pour servir de contrôle. Les effets de la chimiothérapie sur le profil évolutif de l'IL-17A ont été étudiés en comparant les taux d'IL-17A à des intervalles réguliers au cours du traitement anticancéreux.

Nos résultats ont montré une légère augmentation des taux de l'IL-17A à chaque cure de chimiothérapie. Cette variation liée au traitement a également été dépendante du type de réponse à cette chimiothérapie. Ces données sont en faveur d'une utilisation du dosage de l'IL-17A en tant que marqueur pronostic. Toutefois des analyses complémentaires s'avèrent nécessaires. Il s'agit surtout de l'évaluation des proportions de cellules immunitaires au niveau du tissu tumoral, et ceci dans une population d'étude plus grande. Il convient aussi d'étudier les mécanismes d'action de cette cytokine, afin de l'utiliser comme une éventuelle cible en immunothérapie du cancer du col. Il serait également nécessaire d'étudier les gènes de l'IL-17, afin de déceler toute mutation pouvant être à l'origine de la variation de ces effets. L'étude de cytokines comme l'IL-6, le TGF- β et l'IL-10 fournirait plus d'informations qu'en à leur rôle dans la progression tumorale au cours d'une chimiothérapie.

Bibliographie

1. **Aggarwal, S. et Gurney, A. L.** (2002). "IL-17: prototype member of an emerging cytokine family." J Leukoc Biol **71**(1): 1-8.
2. **Alain, S., Hantz, S. et Denis, F.** (2010). "Papillomavirus : les virus et la physiopathologie de l'infection." Médecine thérapeutique / Pédiatrie **13**: 5-19.
3. **Albero, G., Castellsague, X., Lin, H. Y., Fulp, W., Villa, L. L., Lazcano-Ponce, E., Papenfuss, M., Abrahamsen, M., Salmeron, J., Quiterio, M., Nyitray, A. G., Lu, B., Bosch, F. X. et Giuliano, A. R.** (2014). "Male circumcision and the incidence and clearance of genital human papillomavirus (HPV) infection in men: the HPV Infection in men (HIM) cohort study." BMC Infect Dis **14**: 75.
4. **Antonyasamy, M. A., Fanslow, W. C., Fu, F., Li, W., Qian, S., Troutt, A. B. et Thomson, A. W.** (1999). "Evidence for a role of IL-17 in organ allograft rejection: IL-17 promotes the functional differentiation of dendritic cell progenitors." J Immunol **162**(1): 577-584.
5. **Arenas-Ramirez, N., Woytschak, J. et Boyman, O.** (2015). "Interleukin-2: Biology, Design and Application." Trends in Immunology **36**(12): 763-777.
6. **Baharlou, R., Atashzar, M. R., Vasmehjani, A. A., Rahimi, E., Khoshmirsafa, M., Seif, F. et Mahdiyar, M.** (2016). "Reduced levels of T-helper 17-associated cytokines in the serum of patients with breast cancer: indicators for following the course of disease." Cent Eur J Immunol **41**(1): 78-85.
7. **Bailey, S. R., Nelson, M. H., Himes, R. A., Li, Z., Mehrotra, S. et Paulos, C. M.** (2014). "Th17 cells in cancer: the ultimate identity crisis." Front Immunol **5**: 276.
8. **Becht, E., Giraldo, N. A., Dieu-Nosjean, M. C., Sautes-Fridman, C. et Fridman, W. H.** (2016). "Cancer immune contexture and immunotherapy." Curr Opin Immunol **39**: 7-13.
9. **Bellet, D. D.-m., virginie.** (2004). "Immunothérapie des cancers : des mécanismes de défense contre les tumeurs aux applications." Elsevier: 34.
10. **Bergeron, C., Ordi, J., Schmidt, D., Trunk, M. J., Keller, T. et Ridder, R.** (2010). "Conjunctive p16INK4a testing significantly increases accuracy in diagnosing high-grade cervical intraepithelial neoplasia." Am J Clin Pathol **133**(3): 395-406.
11. **Bettelli, E., Korn, T., Oukka, M. et Kuchroo, V. K.** (2008). "Induction and effector functions of T(H)17 cells." Nature **453**(7198): 1051-1057.
12. **Bijjiga, E. M., A. T.** (2013). "Interleukin 10 (IL-10) regulatory cytokine and its clinical consequences." J Clin Cell Immunol.
13. **Brucklacher-Waldert, V., Steinbach, K., Lioznov, M., Kolster, M., Holscher, C. et Tolosa, E.** (2009). "Phenotypical characterization of human Th17 cells unambiguously identified by surface IL-17A expression." J Immunol **183**(9): 5494-5501.
14. **Burd, E. M.** (2003). "Human Papillomavirus and Cervical Cancer." Clinical Microbiology Reviews **16**(1): 1-17.
15. **Campo, M. S., Graham, S. V., Cortese, M. S., Ashrafi, G. H., Araibi, E. H., Dornan, E. S., Miners, K., Nunes, C. et Man, S.** (2010). "HPV-16 E5 down-

regulates expression of surface HLA class I and reduces recognition by CD8 T cells." *Virology* **407**(1): 137-142.

16. **Carcopino, X., Henry, M., Olive, D., Boubli, L. et Tamalet, C.** (2011). "Detection and quantification of human papillomavirus genital infections: virological, epidemiological, and clinical applications." *Med Mal Infect* **41**(2): 68-79.
17. **Castellsague, X., Paavonen, J., Jaisamrarn, U., Wheeler, C. M., Skinner, S. R., Lehtinen, M., Naud, P., Chow, S. N., Del Rosario-Raymundo, M. R., Teixeira, J. C., Palmroth, J., de Carvalho, N. S., Gernar, M. J., Peters, K., Garland, S. M., Szarewski, A., Poppe, W. A., Romanowski, B., Schwarz, T. F., Tjalma, W. A., Bosch, F. X., Bozonnet, M. C., Struyf, F., Dubin, G., Rosillon, D. et Baril, L.** (2014). "Risk of first cervical HPV infection and pre-cancerous lesions after onset of sexual activity: analysis of women in the control arm of the randomized, controlled PATRICIA trial." *BMC Infect Dis* **14**: 551.
18. **Catros-Quemener, V., Bouet, F. et Genetet, N.** (2003). "Immunité anti-tumorale et thérapies cellulaires du cancer." *Médecine/Sciences* **19**: 43-53.
19. **Coursaget, P. et Touze, A.** (2006). "Les vaccins contre les papillomavirus." *Virologie* **10** 353-368.
20. **Cua, D. J. et Tato, C. M.** (2010). "Innate IL-17-producing cells: the sentinels of the immune system." *Nat Rev Immunol* **10**(7): 479-489.
21. **Curado, M. P. E., B. Shin, H.R. Storm, H. Ferlay, J. Heanue, M. Boyle, P.** (2007). "Cancer Incidence in Five Continents." *IARC Scientific publications* **IX**(160).
22. **de Villiers, E. M., Fauquet, C., Broker, T. R., Bernard, H. U. et zur Hausen, H.** (2004). "Classification of papillomaviruses." *Virology* **324**(1): 17-27.
23. **Doorbar, J., Egawa, N., Griffin, H., Kranjec, C. et Murakami, I.** (2015). "Human papillomavirus molecular biology and disease association." *Rev Med Virol* **25 Suppl 1**: 2-23.
24. **Dunn, G. P., Old, L. J. et Schreiber, R. D.** (2004). "The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting." *Immunity* **21**(2): 137-148.
25. **Eifel, P. J., Burke, T. W., Delclos, L., Wharton, J. T. et Oswald, M. J.** (1991). "Early stage I adenocarcinoma of the uterine cervix: treatment results in patients with tumors less than or equal to 4 cm in diameter." *Gynecol Oncol* **41**(3): 199-205.
26. **Feng, Q., Wei, H., Morihara, J., Stern, J., Yu, M., Kiviat, N., Hellstrom, I. et Hellstrom, K. E.** (2012). "Th2 type inflammation promotes the gradual progression of HPV-infected cervical cells to cervical carcinoma." *Gynecol Oncol* **127**(2): 412-419.
27. **Ferlay, J., Soerjomataram, I., Ervik, M., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., Parkin, D., Forman, D. et Bray, F.** (2013). "Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11." *GLOBOCAN 2012* **1.0**.
28. **Fossiez, F., Djossou, O., Chomar, P., Flores-Romo, L., Ait-Yahia, S., Maat, C., Pin, J. J., Garrone, P., Garcia, E., Saeland, S., Blanchard, D., Gaillard, C., Das Mahapatra, B., Rouvier, E., Golstein, P., Banchereau, J. et Lebecque, S.** (1996). "T cell interleukin-17 induces stromal cells to produce proinflammatory and hematopoietic cytokines." *J Exp Med* **183**(6): 2593-2603.

29. Fridlender, Z. G., Sun, J., Kim, S., Kapoor, V., Cheng, G., Ling, L., Worthen, G. S. et Albelda, S. M. (2009). "Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF-beta: "N1" versus "N2" TAN." Cancer Cell **16**(3): 183-194.
30. Ghanem, K. G., Datta, S. D., Unger, E. R., Hagensee, M., Shlay, J. C., Kerndt, P., Hsu, K. et Koutsky, L. A. (2011). "The association of current hormonal contraceptive use with type-specific HPV detection." Sex Transm Infect **87**(5): 385-388.
31. Hanahan, D. et Weinberg, R. A. (2011). "Hallmarks of cancer: the next generation." Cell **144**(5): 646-674.
32. Herfs, M., Vargas, S. O., Yamamoto, Y., Howitt, B. E., Nucci, M. R., Hornick, J. L., McKeon, F. D., Xian, W. et Crum, C. P. (2013). "A novel blueprint for 'top down' differentiation defines the cervical squamocolumnar junction during development, reproductive life, and neoplasia." J Pathol **229**(3): 460-468.
33. IARC. (2016, 22 december 2016). "Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1–118." Retrieved 31 January 2017, from <https://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ClassificationsAlphaOrder.pdf>.
34. Jordanova, E. S., Gorter, A., Ayachi, O., Prins, F., Durrant, L. G., Kenter, G. G., van der Burg, S. H. et Fleuren, G. J. (2008). "Human leukocyte antigen class I, MHC class I chain-related molecule A, and CD8+/regulatory T-cell ratio: which variable determines survival of cervical cancer patients?" Clin Cancer Res **14**(7): 2028-2035.
35. Jovanovic, D. V., Di Battista, J. A., Martel-Pelletier, J., Jolicoeur, F. C., He, Y., Zhang, M., Mineau, F. et Pelletier, J. P. (1998). "IL-17 stimulates the production and expression of proinflammatory cytokines, IL-beta and TNF-alpha, by human macrophages." J Immunol **160**(7): 3513-3521.
36. Kato, T., Furumoto, H., Ogura, T., Onishi, Y., Irahara, M., Yamano, S., Kamada, M. et Aono, T. (2001). "Expression of IL-17 mRNA in ovarian cancer." Biochem Biophys Res Commun **282**(3): 735-738.
37. Kim, J. W., Song, S. H., Jin, C. H., Lee, J. K., Lee, N. W. et Lee, K. W. (2012). "Factors affecting the clearance of high-risk human papillomavirus infection and the progression of cervical intraepithelial neoplasia." J Int Med Res **40**(2): 486-496.
38. Kitagawa, R., Katsumata, N., Shibata, T., Kamura, T., Kasamatsu, T., Nakanishi, T., Nishimura, S., Ushijima, K., Takano, M., Satoh, T. et Yoshikawa, H. (2015). "Paclitaxel Plus Carboplatin Versus Paclitaxel Plus Cisplatin in Metastatic or Recurrent Cervical Cancer: The Open-Label Randomized Phase III Trial JCOG0505." Journal of Clinical Oncology **33**(19): 2129-2135.
39. Kjaer, S. K., Chackerian, B., van den Brule, A. J., Svare, E. I., Paull, G., Walbomers, J. M., Schiller, J. T., Bock, J. E., Sherman, M. E., Lowy, D. R. et Meijer, C. L. (2001). "High-risk human papillomavirus is sexually transmitted: evidence from a follow-up study of virgins starting sexual activity (intercourse)." Cancer Epidemiol Biomarkers Prev **10**(2): 101-106.
40. Koutsky, L. (1997). "Epidemiology of genital human papillomavirus infection." Am J Med **102**(5A): 3-8.
41. Kryczek, I., Banerjee, M., Cheng, P., Vatan, L., Szeliga, W., Wei, S., Huang, E., Finlayson, E., Simeone, D., Welling, T. H., Chang, A., Coukos, G., Liu, R. et Zou,

- W. (2009). "Phenotype, distribution, generation, and functional and clinical relevance of Th17 cells in the human tumor environments." *Blood* **114**(6): 1141-1149.
42. Kryczek, I., Wei, S., Zou, L., Altuwaijri, S., Szeliga, W., Kolls, J., Chang, A. et Zou, W. (2007). "Cutting edge: Th17 and regulatory T cell dynamics and the regulation by IL-2 in the tumor microenvironment." *J Immunol* **178**(11): 6730-6733.
 43. Lowe, B., O'Neil, D., Loeffert, D. et Nazarenko, I. (2011). "Distribution of Human papillomavirus load in clinical specimens." *J Virol Methods* **173**(1): 150-152.
 44. Lyon, D. E., McCain, N. L., Walter, J. et Schubert, C. (2008). "Cytokine comparisons between women with breast cancer and women with a negative breast biopsy." *Nurs Res* **57**(1): 51-58.
 45. Mansour, C. (2005). "Human papillomaviruses." *Tyning S*(Muco-cutaneous manifestations of viral diseases.).
 46. Mant, C., Kell, B., Rice, P., Best, J. M., Bible, J. M. et Cason, J. (2003). "Buccal exposure to human papillomavirus type 16 is a common yet transitory event of childhood." *J Med Virol* **71**(4): 593-598.
 47. Mantovani, A., Cassatella, M. A., Costantini, C. et Jaillon, S. (2011). "Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity." *Nat Rev Immunol* **11**(8): 519-531.
 48. Mbaye, H. S., Gheit, T., Dem, A., McKay-Chopin, S., Toure-Kane, N. C., Mboup, S., Tommasino, M., Sylla, B. S. et Boye, C. S. (2014). "Human papillomavirus infection in women in four regions of Senegal." *J Med Virol* **86**(2): 248-256.
 49. Mighty, K. K. et Laimins, L. A. (2014). "The role of human papillomaviruses in oncogenesis." *Recent Results Cancer Res* **193**: 135-148.
 50. Monsonego, J. (2006). "[Cervical cancer prevention: the impact of HPV vaccination]." *Gynecol Obstet Fertil* **34**(3): 189-201.
 51. Monsonego, J. (2006). "Infections à papillomavirus. État des connaissances, pratiques et prévention vaccinale." *Springer*.
 52. Moscicki, A. B. (2005). "Impact of HPV infection in adolescent populations." *J Adolesc Health* **37**(6 Suppl): S3-9.
 53. Mougin, C., Nicolier, M. et Decrion-Barthod, A. (2008). "HPV et cancers : mécanismes de l'oncogenèse." *revue francophone des laboratoires* **405**.
 54. Murugaiyan, G. et Saha, B. (2009). "Protumor vs antitumor functions of IL-17." *J Immunol* **183**(7): 4169-4175.
 55. Nam, J. S., Terabe, M., Kang, M. J., Chae, H., Voong, N., Yang, Y. A., Laurence, A., Michalowska, A., Mamura, M., Lonning, S., Berzofsky, J. A. et Wakefield, L. M. (2008). "Transforming growth factor beta subverts the immune system into directly promoting tumor growth through interleukin-17." *Cancer Res* **68**(10): 3915-3923.
 56. NCI. (2016, 14/07/2016). "PDQ® Adult Treatment Editorial Board. PDQ Cervical Cancer Treatment. ." Retrieved 30/01/2017, from <http://www.cancer.gov/types/cervical/patient/cervical-treatment-pdq>.
 57. Ndiaye, R., Dem, A., Mbaye, P. M., Gueye, P. M., Diop, G., Diop, P. A. et Faye, O. (2014). "[Study of codon 72 of p53 gene as a risk-factor in cervical cancer in Senegal]." *Bull Cancer* **101**(9): 789-794.

58. Numasaki, M., Fukushi, J., Ono, M., Narula, S. K., Zavodny, P. J., Kudo, T., Robbins, P. D., Tahara, H. et Lotze, M. T. (2003). "Interleukin-17 promotes angiogenesis and tumor growth." Blood **101**(7): 2620-2627.
59. OMS (2015). Papillomavirus humain (PVH) et cancer du col de l'utérus. Aide-mémoire N°380.
60. Pelletier, M., Maggi, L., Micheletti, A., Lazzeri, E., Tamassia, N., Costantini, C., Cosmi, L., Lunardi, C., Annunziato, F., Romagnani, S. et Cassatella, M. A. (2010). "Evidence for a cross-talk between human neutrophils and Th17 cells." Blood **115**(2): 335-343.
61. Peters, W. A., 3rd, Liu, P. Y., Barrett, R. J., 2nd, Stock, R. J., Monk, B. J., Berek, J. S., Souhami, L., Grigsby, P., Gordon, W., Jr. et Alberts, D. S. (2000). "Concurrent chemotherapy and pelvic radiation therapy compared with pelvic radiation therapy alone as adjuvant therapy after radical surgery in high-risk early-stage cancer of the cervix." J Clin Oncol **18**(8): 1606-1613.
62. Piersma, S. J. (2011). "Immunosuppressive Tumor Microenvironment in Cervical Cancer Patients." Cancer Microenvironment **4**(3): 361-375.
63. Platanias, L. C. (2005). "Cytokines and cancer." Springer.
64. Riethmuller, D., Schaal, J. P. et Mougin, C. (2002). "[Epidemiology and natural history of genital infection by human papillomavirus]." Gynecol Obstet Fertil **30**(2): 139-146.
65. Rydzewska, L., Tierney, J., Vale, C. L. et Symonds, P. R. (2012). "Neoadjuvant chemotherapy plus surgery versus surgery for cervical cancer." Cochrane Database Syst Rev **12**: CD007406.
66. Sasagawa, T., Takagi, H. et Makinoda, S. (2012). "Immune responses against human papillomavirus (HPV) infection and evasion of host defense in cervical cancer." J Infect Chemother **18**(6): 807-815.
67. Schiffman, M., Castle, P. E., Jeronimo, J., Rodriguez, A. C. et Wacholder, S. (2007). "Human papillomavirus and cervical cancer." Lancet **370**(9590): 890-907.
68. Souza, J. M., Matias, B. F., Rodrigues, C. M., Murta, E. F. et Michelin, M. A. (2013). "IL-17 and IL-22 serum cytokine levels in patients with squamous intraepithelial lesion and invasive cervical carcinoma." Eur J Gynaecol Oncol **34**(5): 466-468.
69. Strong, R. K. (2002). "Asymmetric ligand recognition by the activating natural killer cell receptor NKG2D, a symmetric homodimer." Mol Immunol **38**(14): 1029-1037.
70. Tartour, E., Fossiez, F., Joyeux, I., Galinha, A., Gey, A., Claret, E., Sastre-Garau, X., Couturier, J., Mosseri, V., Vives, V., Banchereau, J., Fridman, W. H., Wijdenes, J., Lebecque, S. et Sautes-Fridman, C. (1999). "Interleukin 17, a T-cell-derived cytokine, promotes tumorigenicity of human cervical tumors in nude mice." Cancer Res **59**(15): 3698-3704.
71. Tartour, E., Fridman, W. H. et Lecuru, F. (2000). "Expression et rôle des Cytokines dans les dysplasies et les cancers du col de l'utérus." La lettre du gynécologue **254**.
72. Trimble, C. L., Genkinger, J. M., Burke, A. E., Hoffman, S. C., Helzlsouer, K. J., Diener-West, M., Comstock, G. W. et Alberg, A. J. (2005). "Active and passive cigarette smoking and the risk of cervical neoplasia." Obstet Gynecol **105**(1): 174-181.

73. **Trottier, H. et Franco, E. L.** (2006). "The epidemiology of genital human papillomavirus infection." Vaccine **24 Suppl 1**: S1-15.
74. **van Driel, W. J., Kievit-Tyson, P., van den Broek, L. C., Zwinderman, A. H., Trimbos, B. J. et Fleuren, G. J.** (1999). "Presence of an eosinophilic infiltrate in cervical squamous carcinoma results from a type 2 immune response." Gynecol Oncol **74**(2): 188-195.
75. **Walboomers, J. M., Jacobs, M. V., Manos, M. M., Bosch, F. X., Kummer, J. A., Shah, K. V., Snijders, P. J., Peto, J., Meijer, C. J. et Munoz, N.** (1999). "Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide." J Pathol **189**(1): 12-19.
76. **White, E. A., Münger, K. et Howley, P. M.** (2016). "High-Risk Human Papillomavirus E7 Proteins Target PTPN14 for Degradation." mBio **7**(5): e01530-01516.
77. **Wright, T. C., Jr., Stoler, M. H., Behrens, C. M., Apple, R., Derion, T. et Wright, T. L.** (2012). "The ATHENA human papillomavirus study: design, methods, and baseline results." Am J Obstet Gynecol **206**(1): 46 e41-46 e11.
78. **Zhang, J. P., Yan, J., Xu, J., Pang, X. H., Chen, M. S., Li, L., Wu, C., Li, S. P. et Zheng, L.** (2009). "Increased intratumoral IL-17-producing cells correlate with poor survival in hepatocellular carcinoma patients." J Hepatol **50**(5): 980-989.
79. **Zou, W. et Restifo, N. P.** (2010). "T(H)17 cells in tumour immunity and immunotherapy." Nat Rev Immunol **10**(4): 248-256.
80. **zur Hausen, H.** (2002). "Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application." Nat Rev Cancer **2**(5): 342-350.

Annexe

Annexe 1 : Stadification FIGO du cancer du col de l'utérus

Stade I	Carcinome limité au col
IA	Carcinomes micro-invasifs (profondeur d'invasion ≤ 5 mm et ≤ 7 mm en surface)
IA1	Invasion du stroma ≤ 3 mm et ≤ 7 mm en surface
IA2	Invasion du stroma > 3 mm et ≤ 5 mm et ≤ 7 mm en surface
IB	Tumeur cliniquement visible limitée au col ou préclinique > IA2
IB1	Tumeur de taille ≤ 4 cm dans son plus grand axe
IB2	Tumeur de taille > 4 cm dans son plus grand axe
Stade II	Carcinome s'étendant au-delà de l'utérus mais sans atteinte des parois pelviennes et/ou du tiers inférieur du vagin
IIA	Extension vaginale sans atteinte des paramètres
IIA1	Tumeur de taille ≤ 4 cm dans son plus grand axe
IIA2	Tumeur de taille > 4 cm dans son plus grand axe
IIB	Envahissement d'au moins un paramètre
Stade III	Extension à la paroi pelvienne et/ou tiers inférieur du vagin et/ou responsable d'une hydronéphrose ou d'un rein muet
IIIA	Extension au tiers inférieur du vagin sans atteinte de la paroi pelvienne
IIIB	Extension jusqu'à la paroi pelvienne et/ou responsable d'une hydronéphrose ou d'un rein muet
Stade IV	Extension au-delà du pelvis ou à la muqueuse vésicale ou rectale (prouvée histologiquement)
IVA	Atteinte de la vessie ou du rectum
IVB	Métastase à distance

Annexe 2 : Déclaration de consentement

Information au patient et déclaration de consentement éclairé pour la participation à une étude sur l'immunologie du cancer
--

Information au patient :

Dans le cadre du GERC, l'Unité d'immunogénétique de l'Institut Pasteur de Dakar participe à un Projet de recherche intitulé «**Etude des biomarqueurs immunologiques dans la prévention et le suivi du cancer du col au Sénégal: intérêt pronostic du dosage sérique de l'IL-17A et impact de la chimiothérapie**»

Il s'agit d'une étude explorant les aspects cellulaires et cytokiniques de ces cancers à Dakar

L'utilisation de « code » permet d'avoir des données anonymes pour la personne qui les reçoit et que l'identification d'un patient en particulier est impossible. Cependant les éléments touchant à l'évolution au long terme peuvent être enregistrés, permettant ainsi aux médecins d'en apprendre plus sur l'évolution naturelle de la maladie.

Les données ne vous seront pas répercutées. Ce n'est qu'en cas d'urgence médicale que les médecins traitant peuvent seuls retrouver les données d'un patient. Seules les données en rapport avec le problème médical telles que résultats d'analyses et d'examens seront remises dans de tels cas, sans vos données identifiantes personnelles comme le lieu de résidence. Vos données personnelles ne sont connues que par le médecin en charge de votre suivi, qui est donc responsable de leur protection et de leur conservation. Il est également responsable de la création et du maintien du code sous lequel les données sont enregistrées dans la banque de données.

But du projet

Le but de ce projet est de réunir des données cliniques et de laboratoire de patients atteints de cancers, de recueillir des prélèvements issus de ces patients afin d'explorer les réponses immunitaires cytokiniques et cellulaires. Cette étude permettra d'apporter au patient des améliorations dans les domaines diagnostique, pronostique et thérapeutique.

Les données et prélèvements recueillis permettront particulièrement une exploration des réponses cellulaires éventuellement liées aux lymphocytes T dans le cancer. Grâce à cela, les médecins en charge des patients peuvent en apprendre plus en comparant les données des patients suivant les tableaux cliniques, et appliquer ces connaissances au traitement de leur patient.

C'est pour cette raison que les données des patients collectées dans le décours de leur traitement ne sont pas éliminées de façon systématique, mais bien conservées dans une banque de donnée informatisée, « pseudo-anonyme », codée et protégée.

Ces données pseudo-anonymes ne seront disponibles qu'à la demande :

- des autorités sanitaires étatiques
- de centres spécialisés dans le traitement de patients atteints de cancer.
- et, selon le type de consentement, de firmes pharmaceutiques reconnus par l'Etat et impliquées dans la recherche, le développement et l'amélioration des traitements anticancéreux.

Personne d'autre n'aura accès à ces données. Les mesures de sécurité prises permettent de garantir qu'il n'y aura jamais aucun risque sur ce point.

Les publications provenant de l'exploitation de ces données seront toujours anonymes.

Participation volontaire

La participation à ce projet de recherche est volontaire et peut être révoquée à tout moment. Le refus d'y participer n'engendre pour vous aucune pénalité ni aucune perte de bénéfice.

En cas de révocation, vos données ne seront plus enregistrées dans la banque de données et les données existantes seront supprimées à la demande.

Déclaration de consentement :

☐ Par la présente, je donne mon accord sans réserve pour que les données confidentielles en rapport avec mon état de santé soient enregistrées et traitées comme décrit ci-dessus dans le cadre du projet de recherche **« Etude des biomarqueurs immunologiques dans la prévention et le suivi du cancer du sein au Sénégal: intérêt pronostique du dosage sérique de l'IL-17A et impact de la chimiothérapie »**

.

Nom du patient :

Date et signature (patient)

Si vous ne souhaitez pas donner votre accord complet, veuillez définir votre degré de participation en cochant une ou plusieurs des cases suivantes :

☐ Par la présente, je limite mon accord en excluant l'enregistrement et le traitement de mes données génétiques.

☐ Par la présente, je limite mon accord en excluant la transmission de mes données aux compagnies pharmaceutiques.

Annexe 3 : Fiche de recrutement des patientes

IDENTIFICATION PATIENT

Numero d'ordre.....N° Dossier :

Nom :Prénom : Age (ans) :

Date et lieu de Naissance : Adresse actuelle :

Poids (kg) : Taille (cm) : Ethnies :

Profession : État matrimonial :

ANTECEDENTS

DPR.....DDR.....

Gestité : Parité.....

Ménopause

Antécédent médical particulier :

Exposition personnelle à un facteur de risque de cancer.....

Exposition professionnelle à un facteur de risque.....

Exposition environnementale à un facteur de risque.....

Notion de Maladie génétique.....

Notion de maladie héréditaire.....

Antécédent familial similaire..... degré de parenté.....

Antécédent familial de cancer..... lequel..... ;degré de parenté.....

CLINIQUE

Siège de la tumeur.....

Taille tumorale.....

Stade tumoral.....

Estimation clinique de la réponse au traitement néo adjuvant..... ;

TRAITEMENTS

✓ **Chirurgie :** oui ☐ non ☐

Type chirurgie :

✓ **Chimiothérapie :** oui ☐ non ☐ np ☐

Type : Adjuvante ☐ Néoadjuvante ☐

Protocole L1 Réponse : complète ☐ partielle ☐ agnation ☐gression ☐ n évaluée ☐

Protocole L2 Réponse : complète ☐ partielle ☐ agnation ☐gression ☐ évaluée ☐

✓ **Radiothérapie :** oui ☐ non ☐ np ☐

Type : Adjuvante ☐ Néoadjuvante ☐ Exclusive ☐

Réponse : complète ☐ partielle ☐ agnation ☐gression ☐ n évaluée ☐

HISTOLOGIE

Type de cancer Type de cancer

Degré de différenciation : faible moyen bien

Caractère immuno-histochimique.....

Envahissement ganglionnaire oui non np

Estimation histologique de la réponse à un traitement néo adjuvant.....

Test	Données	P 1	P 2	P 3
NFS	WBC ($10^9/\mu\text{l}$)			
	Lymphocytes ($10^9/\mu\text{l}$)			
	Polynucléaires ($10^9/\mu\text{l}$)			
	Monocytes ($10^9/\mu\text{l}$)			
GSRh	RBC ($10^9/\mu\text{l}$)			
	Hb (g/dl)			
	Ht (%)			
	Groupage			
Biochimie	Rh			
	Glycémie (g/l)			
	Azotémie (mEq/l)			
	Créatininémie (mg/l)			
	Chlorémie (mEq/l)			
	Na (mEq/l)			
	K (mEq/l)			

Anticancéreux	Protocole 1	Protocole 2	Protocole 3
Autres			

RESUME

Contexte : Au Sénégal, le cancer du col utérin demeure le cancer féminin le plus fréquent chez les femmes de 15 – 44 ans. La chimiothérapie interviendrait dans la résolution de ce cancer en stimulant la réponse immunitaire. Une meilleure compréhension de l'interaction chimiothérapie, cellules tumorales et réponse immunitaire est essentielle à l'élaboration de nouvelles stratégies thérapeutiques combinant immunothérapie et chimiothérapie. L'objectif de cette étude est d'étudier l'intérêt pronostic du dosage sérique de l'IL-17A chez des femmes atteintes du cancer du col de l'utérus et soumises à une chimiothérapie néo-adjuvante basée sur l'association Cisplatine/5FU ou l'association Carboplatine/Taxol.

Méthodologie : Notre étude a porté sur 57 patientes atteintes du cancer du col de l'utérus et soumises à une chimiothérapie, ainsi que 59 femmes contrôles indemne de toutes tumeurs. Le taux sérique d'IL-17A a été mesuré par la technique ELISA.

Résultats : Comparées aux contrôles, les patientes avant traitement ont eu un taux plus élevé d'IL-17A. Mais cette variation n'est pas significative ($p = 0,173$). La comparaison entre les taux d'IL-17A au cours du traitement, a montré une augmentation non significative du niveau d'IL-17A. Il existe une corrélation positive entre les taux d'IL-17A à P2 et P1 ($p < 0,001$; $\rho = 0,81$) ; et entre P2 et P3 ($p < 0,011$; $\rho = 0,80$). L'évaluation des niveaux d'IL-17A en fonction de la réponse au traitement, a montré une différence significative entre les taux d'IL-17A après la deuxième cure ($p = 0,048$), avec des taux plus élevés chez les patientes à réponse nulle.

Conclusion : Ces données sont en faveur d'une utilisation du dosage de l'IL-17A en tant que marqueur pronostic dans le cancer du col sous chimiothérapie.

Mots clés : cancer du col de l'utérus, interleukine 17A, réponse immunitaire, chimiothérapie