

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Blida 1

**Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire**



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER En Biologie

Option : Bio signalisation Cellulaire et Moléculaire ; Immunologie

Thème

**Apport du dosage des marqueurs tumoraux NSE,
ACE, CA125, CA19.9 et Haptoglobine dans le
diagnostic du cancer du poumon.**

Présenté par :
M^{elle} DJEDDOU Djamila & M^{elle} CHABANE Chahrazed

Date de soutenance:

Devant les membres de jury :

Mme AMOKRANE	A. Présidente	MAA/BPC	USDB1
Mme KESKAS	S. Examinatrice	MAA/BPC	USDB1
Dr. ZAABAT	N. Promotrice	MAA	IPA
Dr. MATOUI	H. Co-promotrice	MCB	USDB1
Dr. MELZI	A. Collaborateur	MAA	CHU Blida

L'année universitaire : 2015-2016

Remerciements

Nous tenons aussi à remercier le chef de service d'Oncologie médicale de CPMC d'Alger le **Professeur BOUZIDI** pour nous avoir accueillis et nous avoir permis de recruter les patients atteints d'un cancer du poumon de son service. Nos vifs remerciements également au **Docteur GHAMAZ** pour sa gentillesse son enthousiasme qui nous ont beaucoup aidés.

Nous tenons aussi à remercier le chef de service de Pneumologie de l'hôpital Brahim Trichine Blida le **Professeur SAIGHI** pour nous avoir accueillis et nous avoir permis de recruter les patients atteints d'une pathologie pulmonaire bénigne, nous ne pourrions jamais lui remercier assez pour son apport au cours de ce travail, son bureau nous a toujours été ouvert. Nos vifs remerciements vont également au **Docteur KHALUOI** et **Docteur ABD ERAHIM** pour leur compréhension, leur gentillesse leur enthousiasme et leur soutien moral.

Nos remerciements vont également au chef de service de Centre de Transfusion Sanguine (CTS) du CHU de Blida, le **Professeur CHAIEB**, nous sommes très sensible à l'honneur que vous nous faites en acceptant de récupérer les sérums et les plasmas des volontaires de sang et d'être rapporteur de ce travail.

Nous remercions grandement : **L'équipe d'infirmière** au niveau de service d'Oncologie médicale de Frantz Fanon du CHU Blida, aussi l'équipe d'infirmière au niveau de service de Pneumologie de l'hôpital Brahim Trichine qui nous aident beaucoup dans les prélèvements du sang, notre profond respect et remerciements s'adressent également à l'équipe du laboratoire de Frantz Fanon du CHU Blida pour nous avoir accueillis et nous avoir permis de réaliser les centrifugations dans de bonnes conditions, leur extrême gentillesse et leur compréhension.

Au terme de ce travail, nous souhaitons adresser nos sincères remerciements à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce projet.

Nous tenons également à remercier les membres du jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de siéger à notre soutenance : **Mme AMOKRANE .A**, pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire et dont j'ai eu l'honneur de connaître en tant qu'enseignante, et **Mme KESKASS** pour avoir consacré du temps à la lecture de ce mémoire en tant qu'examinatrice.

Nous tenons aussi à remercier notre chef d'option de Biologie et Physiologie Cellulaire **Mme SAADI.L** pour sa grande efficacité.

Nos derniers et profondes remerciements vont à tous nos enseignants dans nos parcours scolaire du primaire jusqu'à aujourd'hui.

Chahrazed & Djamil

Dédicace

*J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail en témoignage de mes
gratitudes et mes profonds remerciements à :*

*Tout d'abord à l barakas de la famille : Baba Sido, Mimima et Manny pour
leur Doaaebkhayr et la réussite. Que le Bon Dieu me les protéger.*

*A mes chères parents pour leur patience et leur amour infini .Tout au
long de mon cursus, ils m'ont toujours soutenue, encouragée et aidée. Ils
ont su me donner toutes les chances pour réussir. je vous aime infiniment.*

*A mes chères tantes adorées : Mazoura ,khaltoZaza, Djawida, Nawel
, wawa et khalto sousou , amtoo Cherifa , Zouzou , Djamila et Fouzia, leurs
hommes chacun son nom, pour leur soutien, leur confiance et leur joie de
vivre.*

*A mes mes super Tontons: Khalo Nasser, Youness, Mohammed et
leurs femmes Tata Nawel ,Sihem et Assia.*

*A mes chères Oncles : Amoo Mohamed, Khaled, Omar, Hamdane, Karim
et leurs femmes chacune son nom.*

A mes sœurs Amel, khtitiAnâam, Kenza et son époux Fissel.

*A mes nombreux cousins et cousines: Nassim, jojo, Imane, Aimen, minette,
falo, khawlita, zino, komiyooo, Chorouk ,Dadi, Ikram , Yasmina, Ahlemet
tous les petits adorables.*

Je tiens à dédier ce travail A mon binôme DjamilaDjamoo.

*A la famille METIDJI plus particulièrement au Mr. Sofiane un laborantin à
l'hôpital de Médéa qui a pris de son temps et m'encouragé pour réaliser ce
mémoire.*

*A mes copines: Manoo, Soumia, Fayza, Hala, leur présence m'aura été
indispensable, Leurs encouragements, et leur fidélité...*

A toutes mes camarades de classe sans exception.

Chakrazed

Dédicace

*J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail en témoignage de
mes*

gratitudes et mes profonds remerciements à :

*Mes très chers parents qui ils ont suivi dans mes études, guidés vers
la*

*réussite avec grand amour, pour leur compréhension et surtout leurs
encouragements.*

*Mes très chères soeurs ; Fouzia, Amina, Hafida, Lwiza,
Rachida, Nacira, Naima*

et mes frères ; Sofian, Redouane, Hamza

A mon fiancé kadi

A tous ma famille.

A mes chère Amies : Fatima Zohra, fadila, halima, wassila, fula

A mon binôme et ma chère chahrazed

A tous mes maitres et mes professeurs

*Vos conseils et vos encouragements m'ont accompagné tout au long
de nos*

études en faculté des sciences de la nature et de la vie

A tous mes collègues de l'université Saad Dahleb BLIDA

Sincères reconnaissances

*Tous ceux qui m'aiment et que j'aime et à tous ceux qui nous aidé
deprés ou de loin.*

Djamila

Remerciements

*Avant toute lecture et perception de ce travail de recherche que nous avons eu le plaisir de réaliser, il me semble opportun d'être reconnaissante au **BON DIEU** tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la santé afin d'accomplir notre travail. Ainsi ce travail de recherche n'aurait pu être réalisé sans les personnes qui nous auront accompagnées tout au long de ce voyage.*

*Nous souhaitons tous d'abord remercier notre promotrice Docteur **ZABAAT. N** Maître assistante en Immunologie à l'Institut Pasteur d'Alger (IPA), de nous avoir acceptées au sein de son laboratoire et de nous avoir confiées ce thème de mémoire. Elle a su nous transmettre, avec beaucoup de passion, tout l'amour qu'elle porte à la recherche, sa compétence et ses éminentes qualités humaines nous ont séduites. Elle nous a dirigé tout au long de notre stage elle a toujours été disponible pour nous, à l'écoute de nos nombreuses questions et ses précieux conseils. Soyez assuré de notre vive reconnaissance et de notre profond attachement.*

*Nous voudrions exprimer également nos sincères remerciements envers notre Co-promotrice Docteur **MATAOUI.H** Maître de Conférence B USDB qui a bien voulu nous consacrer tout son temps pour nous transmettre son savoir avec une bonne volonté, pour son soutien son aide, à trouver des solutions pour avancer et soutenir le plutôt possible. Sa méthodologie sa disponibilité et ses judicieux conseils qui nous ont toujours montré que le parcours de la recherche pouvait être un vaste univers passionnant.*

*Nous tenons aussi à remercier le chef de service d'Oncologie médicale de Frantz Fanon du CHU Blida le **Professeur BOUNADJER.A** pour nous avoir accueillis et nous avoir permis de recruter les patients atteints d'un cancer du poumon de son service, nous ne pourrions jamais lui remercier assez pour son apport au cours de ce travail, son bureau nous a toujours été ouvert.*

*Nos sincères remerciements vont au **Docteur MELZIA** Maître assistant en Oncologie médicale de Frantz Fanon du CHU Blida pour sa collaboration qui a été capitale, pour son extrême gentillesse sa disponibilité ses conseils pratiques, techniques et scientifiques. Ses directives méthodologiques, ses remarques et suggestions ont largement contribué à l'élaboration de ce travail. Ses qualités scientifiques et son intérêt pour la science forcent le respect envers lui.*

Résumé

Avec plus de 27 000 nouveaux cas diagnostiqués chaque année, le cancer du poumon (CP) est l'un des cancers les plus fréquents. Touchant en grande majorité des hommes (83 %), le nombre de cas ne cesse d'augmenter depuis le début du XX^{ième} siècle, époque où cette maladie était encore rare. C'est une pathologie de diagnostic souvent tardif et faisant appel à des méthodes invasives.

Nous nous sommes proposés d'étudier de l'intérêt diagnostique du dosage sérique des marqueurs tumoraux NSE, ACE, CA125, CA19.9 et Haptoglobine, seuls ou combinés dans le CP.

L'étude a concerné 30 patients atteints d'un CP et deux groupes témoins : 31 patients atteints d'une maladie pulmonaire bénigne (PPB) et 36 sujets sains. Deux techniques de dosage ont été utilisées : -1) technique de chimiluminescence (CEA, CA19-9, CA125, NSE), -2) et la technique de turbidimétrie (Haptoglobine).

Les résultats obtenus montrent une différence significative entre les taux moyens de CA125, Haptoglobine, ACE, CA19-9 et NSE chez les patients atteints de CP versus maladie pulmonaire bénigne (PPB) versus sujets sains (SS) ($p < 0,0001$; $< 0,0001$; $0,0003$; $0,0042$; $0,0017$) respectivement avec des taux plus élevés chez les sujets (CP) comparativement aux (SS). La combinaison des quatre marqueurs tumoraux : CA125+Hp+ACE+CA19-9 présente une bonne sensibilité (96,66 %) et spécificité (52,2%), nettement supérieure à celui d'un test unique. L'aire sous la courbe (AUC) des marqueurs tumoraux; CA125, Hp, ACE, CA19-9 et NSE était (0,96 ; 0,85 ; 0,78 ; 0,70 ; 0,73) respectivement donc $> 0,5$ ce qui traduit une bonne discrimination entre les malades (CP) et les non malades (SS). Concernant les sous-types de CP : CA125 et l'ACE étaient plus augmentés chez les patients atteints d'adénocarcinome (ADK), l'haptoglobine chez les patients ayant un carcinome épidermoïde tandis que le NSE et CA19-9 l'étaient chez les sujets cancer bronchique à petite cellule (CBPC) et tumeurs neuroendocrine (TNE).

La détection combinée de CA125, Haptoglobine, ACE, CA19-9 pourrait améliorer significativement la sensibilité et la spécificité du diagnostic d'un CP. Et pourrait aider à la détection précoce. L'HP peut être utilisé en tant que nouveau marqueur tumoral sérique pour le cancer du poumon sous réserve d'une étude sur une plus large population.

Mots clés : Cancer du poumon, marqueurs tumoraux, ACE, CA125, CA19-9, NSE, Haptoglobine.

الملخص

مع أكثر من 27000 حالة جديدة تشخص كل عام وسرطان الرئة هو واحد من أكثر أنواع السرطان انتشارا, تؤثر معظمهم على الرجال (83%) فإن عدد الحالات في زيادة منذ بداية القرن العاشر, عندما كان المرض لازال نادرا و هو مرض ذو تشخيص متأخر وهذا يحتاج لاستخدام أساليب اجتياحية.

اقترحنا دراسة القيمة التشخيصية لعلامات الورم الموجودة في المصل : ACE ,NSE ,CA125,CA19.9 و الابهتوغلوبين وحدها أو مجتمعة في سرطان الرئة.

والدراسة شملت 30 مريضا بسرطان الرئة و مجموعة 31 مريضا يعانون من أمراض الرئة الحميدة (PPB) و 36 شخصا سليما تم استخدام نوعين من إجراءات الفحص تقنية التوهج لقياس لعلامات الورم ACE ,NSE ,CA125,CA19.9 وتقنية قياس العكر الهابتوغلوبين.

أظهرت النتائج وجود فرق كبير بين متوسط معدل ACE , NSE , CA125, CA19.9 و الهبتوغلوبين عند المرضى الذين يعانون من سرطان الرئة مقابل مرضى الذين يعانون من أمراض الرئة الحميدة مقابل الأشخاص السليمين (p 0,0017 ; 0,0042 ; 0,0003 ; 0,0001 < على التوالي . مع معدلات أعلى عند مرضى سرطان الرئة مقارنة مع الأشخاص السليمين.

مزيج من علامات الورم الأربعة ACE , NSE , CA125, CA19.9 تظهر حساسية جيدة (96,66%) والنوعية (52,2 %) وهى نسبة أعلى بكثير من اختبار واحد.

المنطقة تحت المنحنى (AUC) لعلامات الورم ACE ,NSE ,CA125,CA19.9 و الهبتوغلوبين هي (0,85 ; 0,96 ; 0,73 ; 0,70 ; 0,78 على التوالي اكبر من 0,5 تعكس التمييز جيدا بين المرض وغير المرضى.

في ما يخص نوعية السرطان الرئة ACE ,CA125 زائد عند المرضى الذين يعانون من الغدية (ADK), الهبتوغلوبين عند المرضى الذين يعانون من سرطان الخلايا الحرشفية في حين NSE وCA19.9 تخضع لسرطان الخلايا الصغيرة , (SCLC) و أورام الغدد الصم العصبية (NET).

الكشف المجتمع لعلامات الورم ACE ,CA125,CA19.9 و الهابتوغلوبين تحسن بشكل كبير من حساسية و خصوصية تشخيص سرطان الرئة ويمكن أن يساعد في الكشف المبكر أما الهابتوغلوبين فيمكن استخدامها كعلامة الورم جديدة في مصل الأشخاص المصابين بسرطان الرئة وهو موضوع دراسة على عدد اكبر من السكان.

كلمات البحث

سرطان الرئة, علامات الورم ,ACE ,NSE ,CA125,CA19.9, الهبتوغلوبين

Abstract

With more than 27 000 new cases diagnosed each year, the lung cancer is one of the most common cancers. Affecting the vast majority of men (83%), the number of cases is increasing since the beginning of the twentieth century, a time where this disease was still rare. Due to an invasive and often late diagnosis, this is why we have approximated to tumor markers.

The objective of our study is the study of the diagnostic interest of the serum assay of tumor markers NSE, ACE, CA125, CA 19.9 and haptoglobin, alone or combined.

We used two technical methods of assay: -1) chemiluminescence technique (CEA, CA19-9, CA125, NSE), -2) turbidimeter technique (Haptoglobin). In 30 patients with lung cancer (LC) and two control groups: 31 patients with benign lung disease (BPD) and 36 healthy subjects (HS).

The results obtained show a difference between the average rates of CA125, haptoglobin, ACE, CA19-9 and NSE in patients with lung cancer (LC) versus a benign lung disease (BPD) versus healthy subjects (HS) ($p < 0.0001$; < 0.0001 ; 0.0003 ; $.0042$; 0.0017) respectively with higher rates among subjects (LC) compared to the (HS). The combination of the four tumor markers: CA125 ACE HP CA19-9 presents a good sensitivity (96,66%) and specificity (52.2%), significantly higher than that of a single test. The area under the curve (AUC) of tumor markers; CA125, HP, the ACE, CA19-9 and NSE was (0.96; 0.85; 0.78; 0.70; 0.73) respectively. Thus > 0.5 which reflects a good discrimination between the sick (LC) and non sick (HS). Concerning the sub-types of (LC), CA125 and the ACE appear to be increased in patients with adenocarcinoma (ADK), haptoglobin in patients with the squamous carcinoma while the NSE and CA19-9 present in lung cancer of small cell (CBPC) and neuroendocrine tumors (TNE).

The detection of combination of CA125, haptoglobin, the ACE, CA19-9 could significantly improve the sensitivity and specificity of the diagnosis of lung cancer. And could be important in the early detection. HP can be used as a new tumor marker in serum for lung cancer subject. These results should be extended by a study on a wider population.

Key words: lung cancer, tumor markers, ACE, CA125, CA19-9, NSE, haptoglobin.

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS

DEDICACES

RESUME

LISTE DES ABREVIATION

LISTE DES FIFURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION (1)

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

LE CANCER DU POUMON.....(3)

**1. ANATOMIE ET PHYSIOLOGIE DE L'APPAREIL RESPIRATOIRE
..... (3)**

**2. CANCER DU POUMON (CP) OU CANCER BRONCHIQUE (CB)
..... (5)**

3. EPIDEMIOLOGIE DE CANCER DU POUMON (5)

4. FACTEUR DE RISQUE (ETIOLOGIE) (6)

**5. CARACTERISTIQUES HISTOLOGIQUES DES CANCERS
BRONCHIQUES..... (8)**

I.5. DIAGNOSTIC :..... (12)

LES MARQUEURS TUMORAUX

II.1. GENERALITE..... (15)

II.1.1.Définition..... (15)

II.1.2. Classification des marqueurs tumoraux circulants..... (15)

II.1.3. L'utilité du dosage..... (16)

II.1.4.Notion de valeur seuil (17)

II.1.5.Problèmes rencontrés..... (17)

II.1.6.Notion de cinétique..... (17)

**II.2. LA PLACE DES MARQUEURS TUMORAUX DANS LE
DIAGNOSTIC DU CANCER BRONCHO-PULMONAIRE..... (19)**

2.1. NEURON-SPECIFIC ENOLASE (NSE).....	(19)
2.2. ANTIGENE CARCINO-EMBRYONNAIRE (ACE).....	(21)
2.3. CARBOHYDRATE ANTIGEN-125 (CA-125).....	(22)
2.4. CARBOHYDRATE ANTIGEN (CA19-9).....	(23)
2.5. HAPTOGLOBINE.....	(24)

PARTIE II : PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

I.1.PATIENTS ET METHODES.....	(29)
I.2. METHODES DE DOSAGE.....	(31)
I.3. ANALYSE STATISTIQUE.....	(36)

CHAPITRE II : RESULTATS

II.1. CARACTERISTIQUES DES PATIENTS.....	(38)
II.1.1. Patients atteints de cancer du poumon.....	(38)
II.1.2. Patients atteints de pathologie pulmonaire bénigne.....	(40)
II.1.3. Sujets sains.....	(41)
II.2. DOSAGE SERIQUE DES MARQUEURS TUMORAUX.....	(41)
II.2.1.comparaison, des taux moyens des marqueurs tumoraux entre les différents groupes.....	(41)
II.2.2.Etude de la sensibilité et spécificité des marqueurs tumoraux seuls ou combinés (%).....	(43)
II.2.3.Courbe ROC (Receiver Operating Characteristic).....	(44)
II.2.3.1. Courbe ROC des marqueurs tumoraux chez les patients atteints de cancer du poumon (CP) versus les sujets sains (SS).....	(44)
II.2.3.2. Courbe ROC des marqueurs tumoraux chez les patients atteints de cancer du poumon versus les patients atteints d'une pathologie pulmonaire.....	(46)
II.2.4.Apport des marqueurs tumoraux positif dans le diagnostic des différents types histologique du cancer du poumon.....	(48)

II.2.5. Comparaison des taux moyens des marqueurs tumoraux dans le cancer du poumon selon le stade.....(49)

II.2.6. Comparaison des taux moyens des marqueurs tumoraux dans le cancer du poumon selon le statut fumeurs / non-fumeurs..... (53)

CHAPITRE III : DISCUSSION (55)

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXE

Introduction

Le cancer broncho-pulmonaire est le plus fréquent des cancers diagnostiqués dans le monde (**Wen-Jing Wang, 2013**), et la première cause de mort par cancer chez l'homme. Son incidence augmente chez la femme (**JL Pujol, 1993**). Cette haute fréquence et létalité sont largement dues aux effets carcinogènes du tabac et la proportion des cancers pulmonaires attribuables au tabagisme est de 85% (**Locatelli-Sanchez.M, 2015**).

Sur le plan histologique, on distingue deux types principaux classés sur la base de leur apparence en microscope optique:

*Les cancers à petite cellules qui représentent 15% à 20% des cancers bronchiques.

*Les cancers dits non à petite cellules qui sont les plus fréquents (environ 80% des cas) et regroupent les sous types histologiques : adénocarcinome, carcinome à grande cellules et carcinomeépidermoïdes (**Sung-Min Kang, 2011**).

Son pronostic est sombre avec une médiane de survie tous stade confondus de 4 mois. Le seul traitement curatif est la résection chirurgicale, chez 30% des patients présentant un cancer à un stade précoce au moment du diagnostic, 20%ont des tumeurs localement et /ou régionalement étendues et sont traités par chimiothérapie et radiothérapie, et presque la moitié des patients présentent une maladie métastatique (**Stefan Holdenrieder, 2008**), (**Indranath Ghosh, 2013**).

Du fait d'un diagnostic souvent tardif la résection n'est réalisable que dans la moitié des cas avec un taux de survie global à 5ans de 10%à 15%, chez ces patients seuls les traitements palliatifs sont disponibles (**Yingxuan Tian, 2014**). En l'absence de thérapies alternatives, l'amélioration du pronostic est conditionnée par la précocité du diagnostic (**Barlesi.F, 2014**).

De ce fait, il existe un besoin réel de méthodes permettant un diagnostic précoceet qui éventuellement pourraient prédire le pronostic(**Schneider.J, 2003**)L'un des domaines d'intérêt particulier à cet égard c'est les marqueurs tumoraux (**Jan Kulpa,EwaWo' jcik.et al. 2002**).Ces derniers sont des substances endogènes (protéines, enzymes) présentes naturellement dans l'organisme dans le sang ou d'autres liquides biologiques dont la sécrétion peut être augmentée lors d'un processus pathologique (**Jean-Marc Phelip, 2013**).Les marqueurs tumoraux présentent les avantages d'une détection facile, d'être un examen non invasif et un bon rapport cout/ efficacité (**Yingxuan Tian, 2014**).

Introduction

De nombreux marqueurs tumoraux sériques peuvent être utilisés dans le diagnostic précoce, le suivi du traitement et l'évaluation du pronostic (**Mumbarkar P.P., 2006**). Cependant, ces tests sont limités par une sensibilité et / ou spécificité insuffisante (**Sung-Min Kang, 2011**). Afin d'améliorer la sensibilité et la spécificité des tests La détection combinée de multiples marqueurs tumoraux est fréquemment utilisée (**Zhuang Yu, 2015**). Aussi, l'utilité clinique de ces marqueurs tumoraux pourrait d'évaluer le diagnostic différentiel des types de cancer pulmonaires (**Bing Wang, 2014**).

Dans cette optique, nous avons étudié d'une part l'intérêt de l'utilisation isolée ou combinée des marqueurs suivants : Neurone Spécific Enolase (NSE), Antigène Carcino-Embryonnaire(ACE), Carbohydate Antigène 125 CA125, Carbohydate Antigène 19-9 (CA19.9) et de l'haptoglobine dans le diagnostic du cancer du poumon(**Wen-Jing Wang, 2013**), (**Bing Wang, 2014**),et d'autre part évaluer l'intérêt de ces marqueurs dans les sous-types du cancer pulmonaire.

Le cancer du poumon est le plus fréquent des cancers diagnostiqués dans le monde. En effet, la recherche d'une meilleure prise en charge diagnostique du cancer du poumon demeure une des préoccupations majeures de tout clinicien. L'utilisation de marqueurs tumoraux sériques suffisamment sensibles et spécifiques est considérée comme outil qui pourrait apporter une aide à un diagnostic précoce de ce cancer (**Wen –Jing Wang et al., 2013**).

Les marqueurs tumoraux, sont produits par les cellules tumorales et sécrétés dans le sang ou d'autres liquides biologiques. Leur sécrétion peut être augmentée lors d'un processus pathologique (**Cho et al., 2009; Hu et al., 2013; Lu et al., 2013**). La qualité d'un marqueur biologique est déterminée par sa sensibilité et sa spécificité.

Notre travail a porté sur l'étude de l'intérêt du dosage des marqueurs tumoraux ACE, CA125, CA19-9, NSE et de l'Haptoglobine, seuls ou combinés au niveau sérique dans le diagnostic du cancer du poumon.

La comparaison des taux sériques moyens des marqueurs étudiés entre les différents groupes: Cancers du Poumon (CP) versus Sujets Sains (SS) versus Pathologie Pulmonaire Bénigne (PPB) montre une différence statistiquement significative ($<0,0001$; $<0,0001$; $0,0003$; $0,0042$; $0,0017$ respectivement). En effet, pour les marqueurs CA125, CA 19.9, NSE et l'haptoglobine les taux moyens sériques étaient plus élevés chez les sujets atteints de CP comparés aux sujets sains ; ainsi que chez les patients atteints de PPB comparés aux sujets sains. Par contre, aucune différence n'est observée entre les patients CP et les patients PPB à l'exception de l'ACE ($p=0.02$), qui est le seul marqueur ne permettant pas la distinction PPB vs SS ($p=0.058$). Ces marqueurs ne semblent donc pas permettre une distinction entre CP et PPB. En effet, la courbe ROC CP vs SS confirme l'apport des marqueurs étudiés pour la distinction CP/SS ($AUC >0.70$) ; par contre, pour ce qui est des groupes CP vs PPB l'apport de ces marqueurs reste faible ($AUC <0.6$). Une étude faite par l'équipe chinoise de (**Yingxuan Tian, et al 2014**) , qui a concerné 246 patients atteints de CP et de 201 patients atteints d'une PPB (entre juillet 2009 et octobre 2012), les (MT) SF, ACE, CA242, NSE, CA125, CA19-9 et CA15-3 ont été dosés ,et une différence significative a été retrouvée entre les taux de ces MT chez CP vs PPB ($p <0.01$).

Il a été montré également par les travaux de (**Wen –Jing Wang et al., 2013**) (mars 2011 jusqu'à février 2013) chez une population chinoise comptant 150 patients atteints d'un cancer du poumon, 100 patients atteints d'une PPB et 100 sujets sains, que les taux sériques

des MT ACE, CA19-9, NSE et CYFRA21-1 chez les patients atteints de cancer du poumon étaient significativement plus élevés que chez les patients atteints d'une pathologie pulmonaire bénigne ou sujets contrôles ($p < 0,01$), cette différence n'a pas été détectée entre les patients atteints d'une PPB et les SS ($p > 0,05$). (**Qin Hu et al., 2016**).

La courbe ROC, outil statistique, permettant d'évaluer la validité d'un test statistique, elle est basée sur la spécificité et la sensibilité. Une bonne discrimination ($AUC > 0,5$) a été notée pour les marqueurs tumoraux étudiés avec par ordre décroissant de AUC : CA125=0,96, Hp=0,85 ; ACE=0,78 ; NSE=0,73 ; CA19-9=0,70 ce qui conforte l'intérêt de l'utilisation de ces marqueurs dans la détection de cancer du poumon (CP vs SS).

Nous avons essayé de déterminer la valeur seuil correspondant à la meilleure sensibilité et spécificité. Une diminution du seuil entraîne une augmentation de la sensibilité (une diminution du nombre de faux négatifs) mais entraîne aussi une diminution de la spécificité (une augmentation du nombre de faux positifs). Inversement, une augmentation du seuil est accompagnée d'une augmentation de la spécificité (diminution des faux positifs) et d'une diminution de la sensibilité (augmentation des faux négatifs). Ainsi, sensibilité et spécificité varient inversement. Le meilleur couple sensibilité/spécificité pour le CA125 et l'ACE était obtenu avec la valeur usuelle de 35 U /ml pour le CA125 et de 5 ng / ml pour l'ACE. Pour l'Hp et la NSE la courbe ROC montre que à une valeur seuil de 2.028 g/ml, 19,71 U/ ml respectivement, une augmentation de la spécificité est observée (de 86,11 à 88,89 %) pour le CA125, (de 16,67 à 25%) pour la NSE, cependant la sensibilité ne change pas pour les deux marqueurs (53,33%, 80%).

Pour l'analyse de la discrimination des (MT) CA125, Hp, l'ACE, CA19-9 et NSE entre la population (CP) et la population (PPB) a montré une discrimination faible (0,50; 0,55; 0,65; 0,53; 0,50) respectivement. Nos résultats sont en discordance avec l'étude réalisée par (**Indranath Ghoshel et al., 2013**) entre (CP) et (PPB) chez une population indienne (Août 2010-Août à 2011) incluant 46 patients atteints d'un cancer du poumon (30 hommes et 16 femmes) et 42 patients atteints d'une PPB (24 hommes et 18 femmes) a montré que (AUC_{ROC}) des MT ACE, CA15-3, CA19-9 and CA125 étaient intéressants ($AUC > 0,5$) dans la distinction entre CP / PPB et donc dans le diagnostic du cancer du poumon. Ceci discordait avec nos résultats, la population indienne est très éloignée de la population algérienne ; aussi dans notre série il y avait moins des femmes recrutées.

Le CA125 est un marqueur utile dans le diagnostic du cancer de l'ovaire avec une sensibilité et spécificité de 72% et 95% respectivement. **(Nicoletto, 2010)(H.S. Kim a, 2009)**. Dans notre étude, la sensibilité et la spécificité de CA125 dans le diagnostic de cancer du poumon était de 56% et 71.64% respectivement. Le taux du CA125 était plus élevé dans le cancer du poumon de sous type adénocarcinome par rapport aux autres types histologiques; indiquant que le CA125 pourrait être un marqueur utile dans le diagnostic du cancer du poumon de sous type ADK. Ces résultats sont en accord avec ceux de l'étude effectuée par l'équipe de **(X. LI et al .,2012)** sur 530 patients atteints d'un CP , 201 patients (139 hommes, 64 femmes) atteints d'une PPB et 229 sujets sains (129hommes, 100femmes) chez une population chinoise de Juin 2008 à Octobre 2010 qui ont montré que le taux de CA125 était plus élevé dans le type d'ADK par rapport aux autres marqueurs tumoraux (ACE, NSE, CYFRA-21-1, et CA-19.9). Par ailleurs, la sensibilité de la combinaison CA125 + l' Hp était de 78.57% ; ce qui montre que cette association serait bonne pour le diagnostic des patients atteint du cancer du poumon de sous type d'ADK. En ce qui concerne le stade TNM, nos résultats ont montré que le taux moyen CA125 chez les patients de stade IV était plus élevé par rapport aux patients de stade III ($p=0.0221$) et donc son taux corrélait avec le stade et donc la gravité de la maladie.

Le Carbohydrate-Antigen (CA19-9) est un marqueur dont le taux élevé a été rapporté dans différentes tumeurs malignes. Il s'agit plus particulièrement des cancers gastro-intestinaux **(Pages.P, 1998)**, cancer du pancréas **(Indranath Ghosh, 2013)**, et du cancer de poumon non à petites cellules **(Hyun Joo Lee, 2012)**. De multiples études ont été effectuées pour évaluer l'intérêt du CA19-9 dans le diagnostic de cancer du poumon, la sensibilité dans la détection du cancer du poumon est de 73,96 et la spécificité est de 78,34% **(Wen-Jing Wang et al., 2014, Bilgin et al ., 2013)**, dans notre étude nous avons trouvé une bonne spécificité de 92.5% mais une faible sensibilité de 33,33% a été notée. L'étude faite par **(Hyun Joo Lee, 2012)** a rapporté que le taux du CA19-9 est élevé dans le cancer du poumon non à petite cellules, dans nos résultats le taux de 33,33% est observé dans le sous type de TNE, et de 25% dans le sous type du carcinome épidermoïde. Cela démontre que les concentrations de CA19-9 ne peuvent prédire tel ou tel type histologique. La combinaison de CA19-9 avec les marqueurs tumoraux ACE, CA125 et Hp a montré une bonne sensibilité (96,67%) et spécificité (55,2%), ce qui indique que le dosage combiné de multiples (MT) pourrait améliorer le diagnostic, parallèlement à cela, la sensibilité de la combinaison des (MT) CA19-9 +CA125+Hp+ ACE semble meilleur dans le type carcinome epidermoide.

Dans notre étude, on observe une différence significative de taux sérique de CA19-9 entre les sujets sains vs patients ayant un stade III par contre aucune différence n'est observée entre les sujets sains vs patients ayant un stade IV et entre les patients ayant un stade III vs les patients ayant un stade IV. La même étude effectuée par l'équipe de (**Wen-Jing Wang et al., 2013**) concernant 100 sujets sains et 150 patients atteints d'un cancer du poumon (dont 53 ayant un stade I/II et 38 patients ayant un stade III/IV), ont trouvé une différence significative en comparant le taux sérique des MT (ACE, CA19-9, NSE, et CYFRA21-1) entre sujets sains vs patients ayant un stade I ou II, et entre sujets sains vs patients ayant un stade III ou IV et aussi entre les patients ayant un stade I ou II vs les patients ayant un stade III ou IV ($P < 0.01$). Nos résultats discordent concernant le taux sérique du marqueur tumoral commun (CA19-9). Toutefois, le nombre de patients ayant un stade I et II reste très faible ce qui rend les résultats de la comparaison entre les stades peu informatifs.

L'ACE (l'antigène carcino-embryonnaire) a été le premier marqueur étudié en carcinologie bronchique. Notre étude retrouve une sensibilité de 40%, cette valeur est dans l'intervalle de sensibilité (35% et 77%) décrit dans la littérature (**Ramshankar Krishnamurthy et al., 2013**). La positivité de l'ACE dans le type histologique ADK était de 64,28%, ces résultats sont en accord avec les travaux de (**Bing Wang et al., 2014**) qui ont démontré que le taux de l'ACE est plus élevé chez les patients ayant un cancer bronchique de sous type ADK par rapport aux autres types. Dans le même sens, l'étude effectuée par l'équipe de (**Susana Cedrés et al., 2013**) chez une population espagnole sur 277 patients atteints de CP (dont 38,6 % des patients ayant un adénocarcinome et 22,4% des patients ayant un carcinome épidermoïde, depuis Avril 2004 à Mars 2009, des MT (CEA, CYFRA21-1, et CA-125)) a montré des taux élevés de l'ACE et celui du CA125 dans le type adénocarcinome par rapport au CYFRA21-1 ($p < 0,05$). Il semblerait donc que L'ACE ait un intérêt dans le diagnostic du cancer du poumon du type histologique adénocarcinome. En comparant les taux d'ACE entre les patients atteints d'un cancer du poumon ayant le stade III vs patients atteints d'un cancer du poumon ayant le stade IV aucune différence n'est observée chez nos patients. Cependant, l'étude de (**Susana Cedrés et al., 2013**) sur 277 patients atteints de cancer du poumon dont (61,7% ayant un stade IV et 38,3% ayant un stade III) a montré que le taux moyen de l'ACE chez les atteints ayant un stade III est élevé par rapport aux patients ayant un stade IV ($p < 0.05$). Ce qui n'a pas été observé dans notre population.

Il a été rapporté que les taux moyens de la NSE sont plus élevés dans les tumeurs d'origine neuro-endocrine (**Maria Antonietta Isgr, 2015**). Notamment NSE est surexprimé dans le cancer du poumon à petites cellules. Donc, la NSE est un marqueur tumoral utile dans le cancer du poumon à petites cellules (**Juan et al. 2004**). Dans notre étude, les résultats sont comparables avec les travaux de (**Wen-Jing Wang et al., 2013 et Bing Wang et al., 2014**) pour la sensibilité de la NSE dans la détection du cancer du poumon (80%), cependant, pour la spécificité nous avons noté une valeur très faible (16%). L'étude de (**Bing Wang et al., 2014**) réalisée chez une population chinoise (81 ayant le carcinome épidermoïde, 76 ayant l'ADK et 36 cas ayant un cancer du poumon à petite cellules) a noté une faible sensibilité 23.3% et une bonne spécificité 97,9%. Par ailleurs ils ont trouvé également des taux plus élevés de NSE par rapport aux MT (Hp, CEA et CYFRA21-1) chez les patients ayant un cancer du poumon à petites cellules comparés aux patients ayant des tumeurs neuroendocrines ou de l'adénocarcinome. Dans notre étude un seul cas de cancer du poumon à petite cellules ce qui reste insuffisant pour une quelconque conclusion.

En ce qui concerne le stade TNM pour l'ACE et la NSE, nous avons trouvé une différence significative entre les sujets sains et les patients atteints de cancer du poumon ayant un stade IV pour les deux MT, et même entre les sujets sains et les patients atteints de cancer du poumon ayant un stade III pour l'ACE mais pas pour la NSE. Cependant aucune différence n'a été observée entre patients atteints de cancer du poumon ayant un stade III vs patients atteints de cancer du poumon ayant un stade IV. Les résultats de l'étude de (**Rong Wanget al., 2013**) réalisée chez une population chinoise de Mars 2008 à Décembre 2008 incluant 132 patients atteints d'un cancer du poumon dont 73 ayant le stade I/II et 51 ayant le stade III/IV, comparant les taux des MT (SCCA, NSE, ACE, et CYFRA21-1) entre stade I/II et entre stade III/IV, sont en accord pour la comparaison entre patients atteints de cancer du poumon ayant un stade III vs patients atteints de cancer du poumon ayant un stade IV pour la NSE tandis que elle discord pour l'ACE: en effet, l'ACE montre une concentration plus élevée chez les patients ayant les stades III / IV par rapport aux stades I / II ($P < 0,05$), alors qu'aucune différence n'a été observée dans les concentrations des marqueurs SCCA, NSE, et CYFRA21-1 entre les deux stades (I/II et III/IV).

L'haptoglobine est une protéine tétramérique de la phase aigue de l'inflammation, sa principale fonction est l'élimination de l'hémoglobine libre dans le plasma. Toutefois, elle possède également des propriétés anti-oxydantes et angiogéniques, et aurait un rôle dans la

migration cellulaire. Dans notre série la sensibilité et la spécificité de l'Hp étaient de 53% et 62% respectivement. Les résultats de (**Bing Wang et al., 2014**) retrouvent une spécificité de (90,7%) qui était faible par rapport à la spécificité des marqueurs tumoraux : ACE, NSE, Cyphra 21-1 (99.2%, 97.9% et 97.9% respectivement); ceci en raison du fait que l'haptoglobine soit une protéine de l'inflammation aigue, et peut voir son taux augmenter chez les PPB, mais le niveau atteint dans la maladie pulmonaire bénigne est plus faible que chez les patients atteints d'un cancer du poumon, Ce qui suggère que l'Haptoglobine pourrait être un nouveau bio marqueur dans le diagnostic du cancer du poumon. Par ailleurs, concernant le type histologique du CP, le taux de positivité dans le sous type de carcinome épidermoïde était le plus élevé (75 %). Ces résultats concordent avec ceux de (**Bing Wang et al.,2014**) qui ont trouvé que le taux de l'Hp chez les patients atteints de carcinome squameux (carcinome épidermoïde) était supérieur à celui des patients atteints d'un adénocarcinome et les patients ayant le carcinome à petites cellules. La même étude montre que la spécificité est relativement élevée et la sensibilité est faible.

Les taux d'Hp entre SS vs les patients ayant un stade III et entre les SS vs les patients ayant un stade IV étaient différents ($p=0.0001$, 0.0007 respectivement). Cependant, aucune différence significative n'a été notée entre le taux moyen de l'Hp chez les patients atteints d'un cancer du poumon stade III et les patients ayant un stade IV, de même entre les fumeurs et les non-fumeurs.

Concernant la comparaison des taux moyens des MT (CA125, ACE, CA19-9 et NSE) dans le CP chez les fumeurs et les non-fumeurs, aucune différence n'est observée. Une étude réalisée par l'équipe de (**Yingxuan.Tian et al., 2014**) chez une population chinoise sur 246 patients atteints d'un cancer du poumon (139 fumeurs et 117 non fumeurs) et 201 patients atteints d'une pathologie pulmonaire bénigne (72 fumeurs , 129 non-fumeurs) a montré que le taux moyen des MT (SF, **ACE** , CA242, **NSE**, **CA125**, **CA19-9** et CA15-3) chez les fumeurs sont plus élevés par rapport aux taux moyens des (MT) chez les non- fumeurs ($p=0.001$).

Aussi, la combinaison des marqueurs tumoraux CA125+Hp+ ACE+CA19-9 montre une sensibilité de (96,66%) et une spécificité de (55,2%) ce qui permet de proposer que le dosage de ces marqueurs tumoraux combinés pourrait améliorer la détection du cancer du poumon, cette dernière observation est en accord avec les études effectuées par (**Wen-HingWang et al., 2013**) qui montrent que l'utilisation d'un seul marqueur ne semble pas un outil idéal, mais plutôt la détection combinée des MT (ACE, CA19-9, NSE et CYFRA21-1)

pourraient augmenter la chance de détecter un cancer du poumon de 90,2% et est considéré comme une option exploitable dans le diagnostic précoce du cancer du poumon. Parallèlement, la sensibilité de la combinaison des (MT) ACE+CA125+Hp semble meilleur pour le sous type adénocarcinome.

(BingWang et al 2014) ont retrouvé une sensibilité de la détection conjointe des MTs (Hp, ACE, NSE et CYFRA21-1) élevée (85%) par rapport à une détection unique ($p<0.05$), tandis que la spécificité de détection conjointe de ces MTs est plus faible (85,7%) ce qui concorde avec nos résultats même si la sensibilité était plus faible dans notre étude. Donc, la détection combinée serait utile pour le diagnostic du cancer du poumon.

Liste des abréviations

- Ⓢ **ADK** : Adénocarcinome
- Ⓢ **ADN** : Acide désoxyribonucléique
- Ⓢ **ACE** : Antigène carcino-embryonnaire
- Ⓢ **AC** : Adénocarcinome
- Ⓢ **APUD** : Amine Précursor Uptake and Décarboxylation
- Ⓢ **AUC** : Area Under the Curve
- Ⓢ **BPCO** : Broncho-pneumopathie chronique obstructive
- Ⓢ **BSA** : Bovin Serum Albumin
- Ⓢ **CA125** : Carbohydate antigen 125
- Ⓢ **CA19-9** : Carbohydate antigen 19-9
- Ⓢ **CB** : Cancer Bronchique
- Ⓢ **CP** : Cancer du Poumon
- Ⓢ **CBPC** : Cancer Bronchique à Petit Cellule
- Ⓢ **CBNPC** : Cancer Bronchique Non à Petit Cellule
- Ⓢ **CE**: Carcinome épidermoïde
- Ⓢ **CGC** : Carcinome à grandes cellules
- Ⓢ **CHU** : Centre hospitalo-universitaire
- Ⓢ **CPMC** : Centre Pierre et Marie Curie
- Ⓢ **CTS** : Centre de Transfusion Sanguin
- Ⓢ **EDTA** : EthyleneDiamineTetraacetic Acid
- Ⓢ **EGF** : Epidermal Growth Factor
- Ⓢ **HAP** : Hydrocarbure Aromatique Polycyclique
- Ⓢ **Hp** : Haptoglobine
- Ⓢ **IPA** : Institut Pasteur d'Alger
- Ⓢ **MT** : Marqueurs Tumoraux

- ☞ **NNE** : Non Neuronal Enolase
- ☞ **NSE** : Neuron-Spécific Enolase
- ☞ **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé (ou WHO)
- ☞ **PPB** : Pathologie Pulmonaire Bénigne
- ☞ **ROC** : Receiver Operating Characteristic
- ☞ **RT** : Radiographie de Thorax
- ☞ **RUL** : relative lighte units
- ☞ **SS** : Sujets Sains
- ☞ **TNE** : Tumeur Neuroendocrine
- ☞ **TNM** : Tumor Node Metastasis
- ☞ **TDM** : Tomodensitométrie
- ☞ **TEP** : Tomographie par émission de positons

I. CANCER DU POUMON

1. ANATOMIE ET PHYSIOLOGIE DE L'APPAREIL RESPIRATOIRE

Le cancer du poumon, comme toutes les maladies pulmonaires, entraîne une diminution notable de l'activité fonctionnelle de l'appareil respiratoire et se traduit par une perturbation des échanges gazeux. Un petit rappel anatomique et physiologique s'impose pour comprendre les conséquences de la maladie cancéreuse sur la fonction respiratoire (Daniel, 2013).

1.1. Anatomie de l'appareil respiratoire :

L'appareil respiratoire se divise en deux parties séparées par le pharynx (Wissler, 2012).

1. Les voies aériennes supérieures : comprennent une série de cavités communicantes: Le nez, les fosses nasales, et le rhinopharynx, qui permettent d'acheminer l'air jusqu'au poumon (Galmès, 2013).

2. L'appareil broncho-pulmonaire (les voies aériennes inférieures) : commence par le larynx, continue par la trachée dans le thorax, pour se diviser en deux bronches souches. Ces dernières se divisent en bronches lobaires, qui, elles-mêmes, vont successivement se diviser 2 par 2 pour terminer dans les alvéoles (Galmès, 2013) (Figure 1).

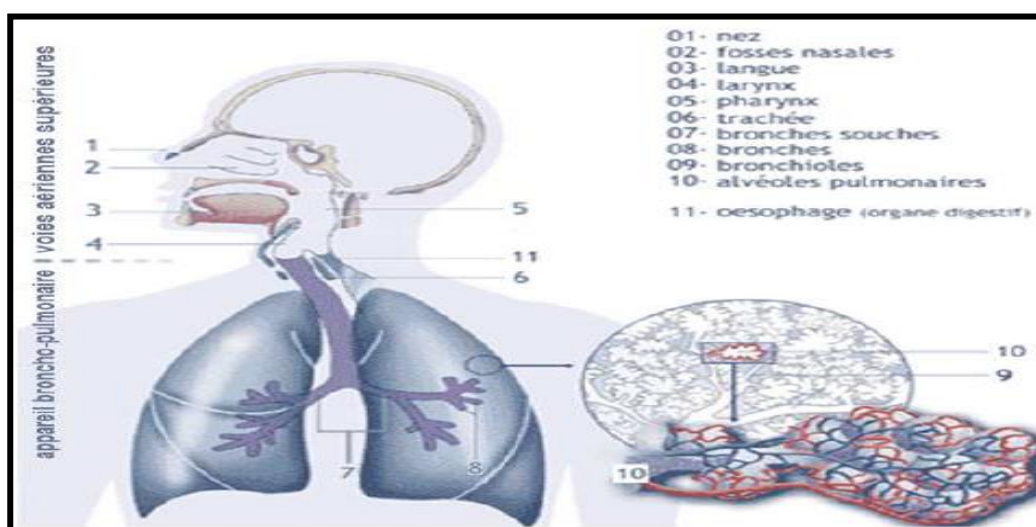


Figure 1 :L'appareil respiratoire (Galmès, 2013).

1.2. Anatomie des poumons :

Les poumons sont deux organes spongieux qui occupent la presque totalité de la cage thoracique. Ils sont situés de part et d'autre du médiastin. Ils sont divisés en lobes, le poumon gauche en possède deux. Chaque lobe est ensuite divisé en segments **(Daniel, 2013)**.

Ils sont séparés des organes intra-thoraciques par une séreuse, la plèvre, qui permet leur glissement lors des mouvements respiratoires **(Wissler, 2012)**. Il est entouré par un feuillet externe (feuillet pariétal) et interne (feuillet viscéral). Le hile est une région par laquelle entrent et sortent les bronches principales droites et gauches, les vaisseaux sanguins pulmonaires, les vaisseaux lymphatiques et les nerfs **(Belfarhi, 2011)** (Figure 2).

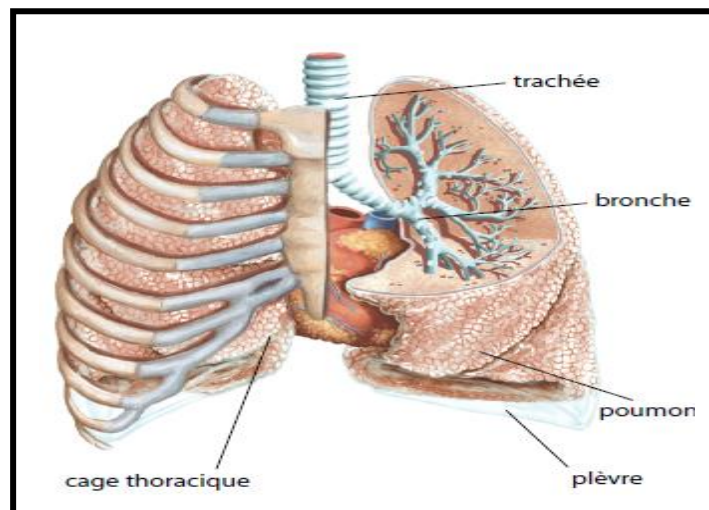


Figure 2 : Anatomie des poumons (Daniel, 2013).

1.3. Physiologique respiratoire :

La fonction respiratoire a pour but d'enrichir le sang en oxygène et de rejeter un déchet gazeux qui résulte du fonctionnement de l'organisme. Ces transformations de sang s'effectuent au niveau des poumons.

- La ventilation pulmonaire.
- Les échanges gazeux.
- Le transport des gaz **(Daniel, 2013)**.

2. CANCER DU POUMON (CP) OU CANCER BRONCHIQUE

Le cancer du poumon (CP) ou cancer bronchique est la première cause de décès par cancer dans le monde (**Mario Orozco-Morales, 2016**). Maladie encore rare au début du XX^{ème} siècle (**Moreau, 2006**), résultant de la transformation maligne de l'épithélium qui tapisse les voies aériennes intra-thoraciques (trachée et bronches), c'est un cancer grave dont la fréquence élevée est liée en grande part à la consommation du tabac (**Clément-Duchêne, 2013**).

Sur le plan histologique, on distingue 2 types principaux : les cancers bronchiques à petites cellules (CBPC), 15% des cas et les cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC), plus de 80% des cas (**Wissler, 2012**).

3. EPIDEMIOLOGIE DU CANCER DU POUMON

3.1. Incidence et mortalité dans le monde :

L'incidence du cancer du poumon dans le monde est estimée à 1,8 million de nouveaux cas en 2012 (12,9 % du total des cancers), dont 58 % surviennent dans des pays en voie de développement. Le cancer du poumon reste le cancer le plus fréquent chez l'homme (1,2 million de cas, soit 16,7 % du total des cancers). Il reste le plus meurtrier avec 268 400 décès (21 % de l'ensemble des cancers) (**M. Locatelli-Sanchez, 2015**).

3.2. Incidence et mortalité en Algérie :

En Algérie, le taux d'incidence est plus élevé dans le cancer du poumon chez les hommes par rapport aux autres cancers (Figure 3).

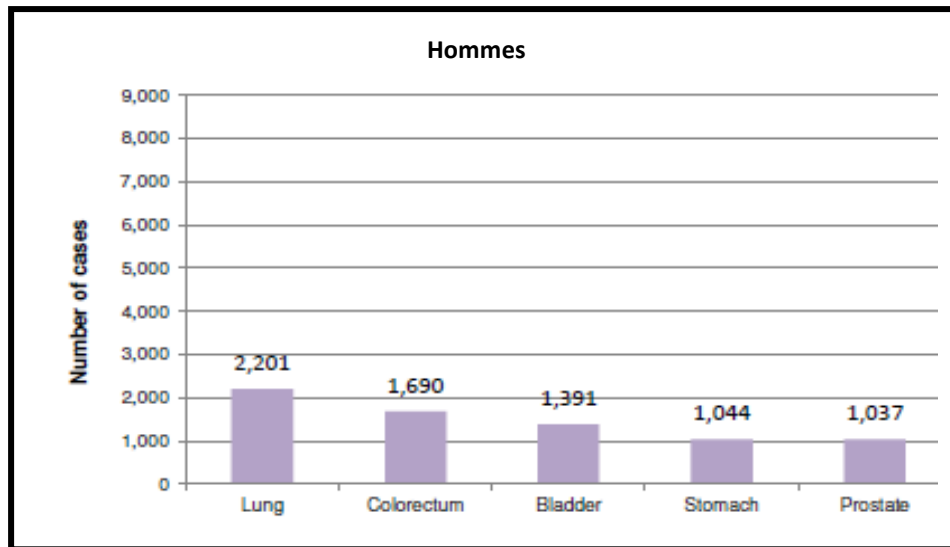


Figure 3 : fréquence des cancers en Algérie : (homme) (Algeria, 2014).

4. FACTEURS DE RISQUE (ETIOLOGIE)

Les facteurs de risque sont nombreux et ont des interactions entre eux car un même individu peut avoir l'association de plusieurs facteurs de risque (Clément-Duchêne, 2009).

4.1. Tabagisme actif :

Le tabac constitue un tel risque de cancer bronchique que la mortalité engendrée par celui-ci constitue l'indicateur le plus spécifique des effets du tabac sur la santé (E.Quoix, 2011). L'intensité de la consommation de tabac intervient dans le risque de CP, avec un risque différent selon le sexe (Clément-Duchêne, 2009). Les fumeurs ont 20 fois plus de risque de développer un CP par rapport aux non-fumeurs. Le risque est lié à la fois à la durée, au nombre de cigarettes (F. Lüthi, 2004), du type de tabac fumé, et l'inhalation (Dhouha Haj, 2006).

4.2. Tabagisme passif :

Le tabagisme passif est l'inhalation par les non-fumeurs, de la fumée dégagée par un fumeur (Chater, 2013-2014). Le courant de fumée qui s'échappe de la cigarette d'un fumeur vers une autre personne est appelé courant secondaire, il est constitué de particules plus fines qui pénètrent plus profondément dans le poumon (Mansuet-Lupo, 2014).

Il augmente de 30% le risque de cancer du poumon. (Chater, 2013-2014).

4.3. Exposition professionnelle et environnementale :

D'autres facteurs de risque du cancer bronchique ont également été mis en évidence, au niveau professionnel et environnemental (Mariot, 2013).

a. Professionnelle

Les principales expositions professionnelles regroupent les expositions à l'amiante, le radon, l'arsenic, le chrome, le nickel, le diesel et la silice (Clément-Duchêne, 2013).

b. Environnementale

➤ Radiations Ionisantes Naturelles

Le radon est un carcinogène reconnu dans différents pays. Il s'agit d'un gaz radioactif et reste la source principale d'exposition à la radioactivité dans le monde

➤ Pollution atmosphérique

Elle peut être aussi responsable d'une petite proportion des cancers bronchiques (1 à 2 %), en particulier par la combustion des Hydrocarbure Aromatique Polycyclique (HAP) (Clément-Duchêne, 2013).

4.5. Facteurs génétiques :

La susceptibilité génétique au cancer bronchique a longtemps été postulée. Il apparaît que le risque de cancer est affecté par des facteurs génétiques qui modifient la susceptibilité individuelle (Olaussen, 2006).

4.6. Maladies pulmonaire sous-jacentes :

De nombreuses maladies respiratoires, qu'elles soient de type obstructif ou restrictif, ont été associées à un risque accru de cancer du poumon. La plus fréquente est la Broncho-pneumopathie Chronique Obstructive (BPCO) (Denotte, 2009).

4.7. Alimentation :

La consommation de légumes verts et de carottes en grande quantité, ainsi que de fruits riches en vitamine C, est le plus souvent retrouvée comme facteur protecteur du cancer bronchique (E.Quoix, 2011).

5. CARACTERISTIQUES HISTOLOGIQUES DES CANCERS BRONCHIQUES

5.1. Muqueuse bronchique normale et ses différents types cellulaires :

La muqueuse trachéo-bronchique est recouverte d'un épithélium pseudo stratifié reposant sur une membrane basale qui repose elle-même sur un chorion. Les cellules de l'épithélium de surface sont majoritairement constituées de cellules ciliées et de cellules à mucus. Le mouvement coordonné des cellules ciliées constitue l'escalator qui permet au mucus de remonter jusqu'à la glotte où il est dégluti avec les particules captées (Scheid, 2002)(Figure 4).

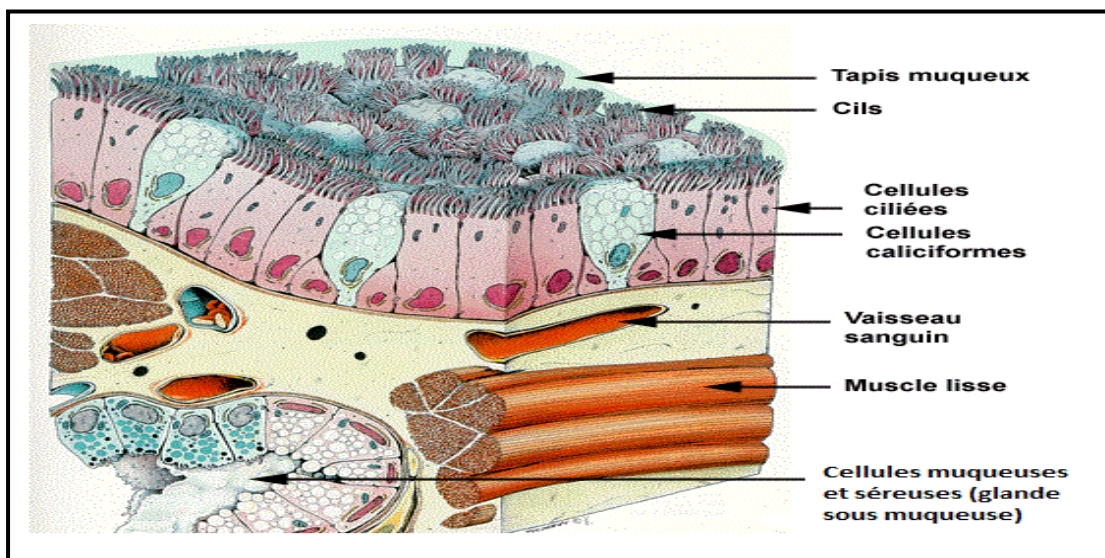


Figure 4 : Structure d'un épithélium bronchique.

Source : <http://tout-sur-l-asthme.blogspot.com/p/le-mucus-bronchique.html>

Lors d'une agression de la muqueuse on constate une disparition des cellules ciliées qui sont remplacées grâce à la multiplication par divisions successives des cellules basales en cellules indifférenciées à petits grains de mucus (Scheid, 2002) (Figure 5).

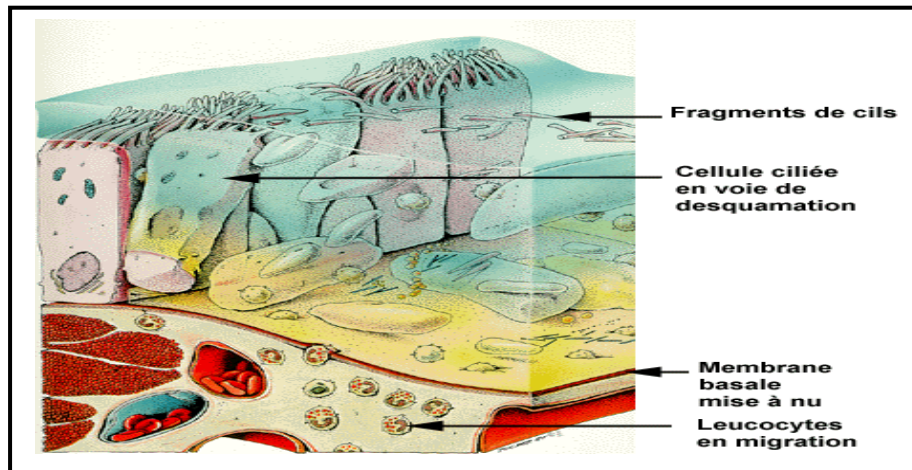


Figure 5 : Une desquamation importante de l'épithélium bronchique.

Source : <http://www.respir.com/doc/abonne/pathologie/bronchite-chronique-bpco/BPCOBronchiteAigue.asp>

5.2. Cellules impliquées dans la carcinogénèse bronchique :

Toutes les cellules capables de se diviser sous l'effet d'un processus d'agression chronique ou du fait d'agents carcinogènes peuvent proliférer et devenir néoplasiques. Les cellules capables de se diviser sont les cellules basales, les cellules à petits grains de mucus, les cellules neuroendocrines, les cellules de Clara, et les pneumocytes de type 2 (Scheid, 2002) (Figure 6).

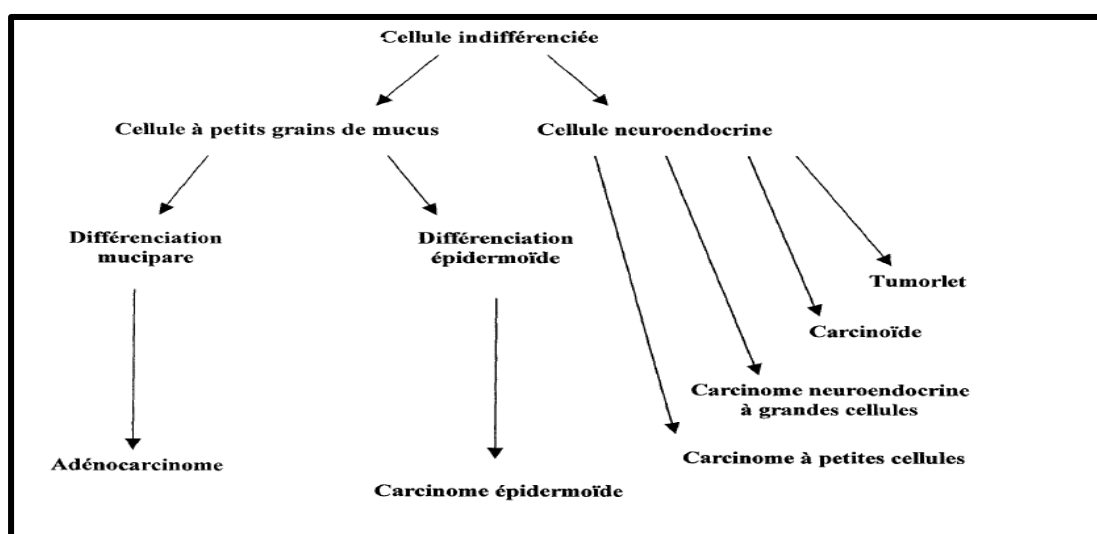


Figure 6 : Hypothèses actuelles concernant l'origine cellulaire des différents types Histologiques de cancers bronchiques (Scheid, 2002).

5.3. Carcinogénèse bronchique :

La transformation de l'épithélium bronchique normal au stade de tumeur maligne se fait par un processus multi-étapes (**Clément-Duchêne, 2009**) (Figure 7).

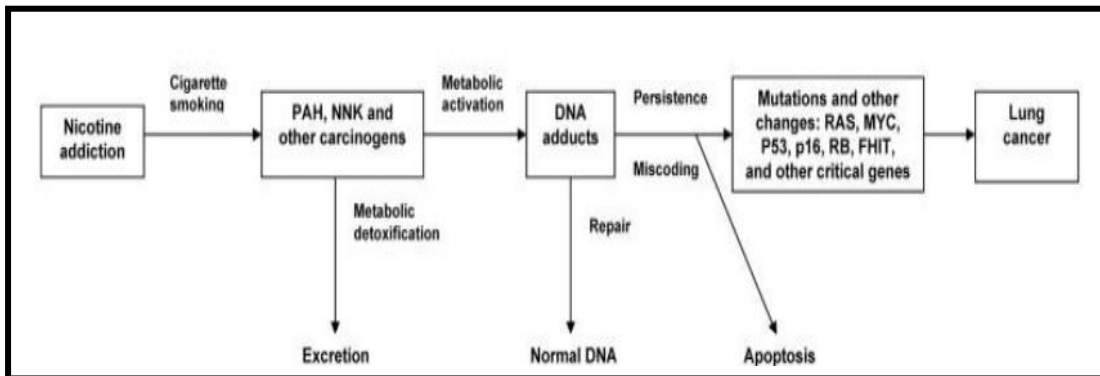


Figure 7 : Schémas montrant le lien entre la nicotine et le cancer bronchique via l'effet des cancérigènes contenus dans le tabac et l'induction de multiples mutations génétiques (**Mohamad, 2012**).

Il semble exister des modifications génétiques liées à l'exposition au tabac, réversibles ou non à l'arrêt du tabac.

Les différents cancérigènes vont agresser l'épithélium bronchique et entraîner un premier stade de métaplasie puis de dysplasie puis de carcinome in situ. Si la membrane basale est atteinte, il s'agit d'un carcinome invasif qui va se développer localement puis à distance (formation de cellules métastatiques). Les cancérigènes contenus dans le tabac vont entraîner la formation de lésions et de mutations de l'ADN conduisant vers le processus de carcinogénèse bronchique.

La transformation d'une cellule normale en cellule tumorale est un phénomène multi-étapes avec tout d'abord une prolifération cellulaire, puis une abolition de la mort cellulaire programmée, une néo-angiogenèse puis un pouvoir d'envahissement de la membrane basale et de dissémination à distance (**Clément-Duchêne, 2009**) (Figure 8).

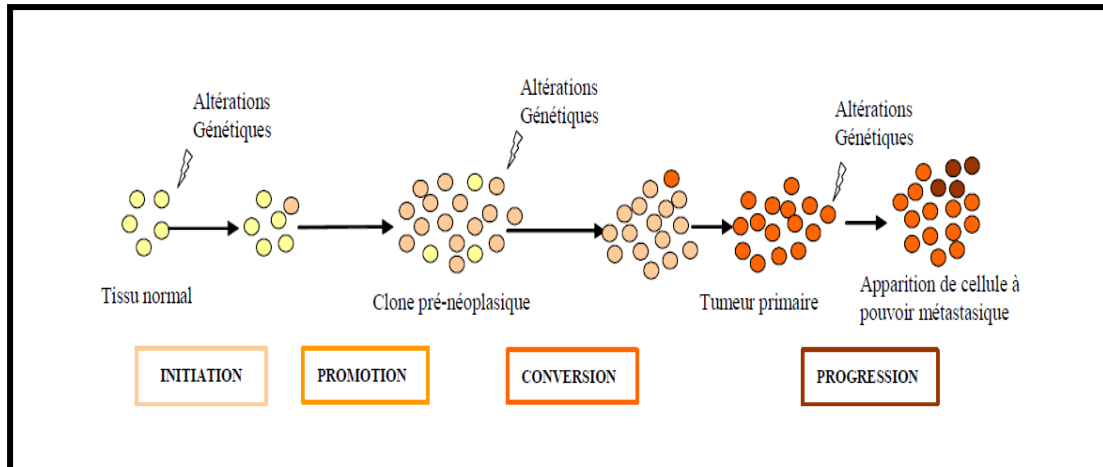


Figure 8 : Représentation schématique des différentes étapes de la carcinogenèse pulmonaire (Moreau, 2006).

5.4. Histologie de cancer bronchique

Dans la classification OMS de 2015, on distingue 2 types histologiques de cancer bronchique (Annex1).

5.4.1. Cancers bronchique non à petites cellules (CBNPC) :

Le cancer du poumon (ou cancer bronchique) non à petites cellules est le nom générique d'un groupe de cancers du poumon. Ces cancers sont qualifiés de « non à petites cellules », car les cellules observées dans la tumeur ne semblent pas petites au microscope. Le cancer du poumon non à petites cellules peut apparaître n'importe où dans les tissus qui tapissent les voies aériennes des poumons (Chater, 2013-2014), les sous-types les plus fréquemment rencontrés sont, dans l'ordre décroissant, les adénocarcinomes (40-60%), les carcinomes épidermoïdes (30-40%) et les carcinomes à grandes cellules (10%) (Peters.S, 2009). Les CBNPC représentent la très grande majorité des cancers du poumon tant chez l'homme que chez la femme (80%) (A. Ben Aissa, 2012).

a. L'adénocarcinome (ADK) :

Présent (40-60%) des cancers bronchiques, il est de localisation périphérique, il s'agit d'une tumeur épithéliale maligne à différenciation glandulaire (Clément-Duchêne, 2013).

b. Carcinomes épidermoïdes (CE):

Présente (30-40%), Il s'agit d'une tumeur grise blanchâtre, friable avec une prolifération de cellules carcinomateuses ressemblant aux cellules malpighiennes normales avec des ponts intercellulaires de kératine **(Clément-Duchêne, 2013)**.

c. Carcinome à grandes cellules (CGC):

Représente 10% des patients atteints de CP. Il regroupe les carcinomes à grandes cellules indifférenciés et les carcinomes neuroendocrines à grandes cellules. c'est un cancer agressif et de mauvais pronostic **(Bousquet, 2010)**.

5.4.2. Cancers bronchique à petites cellules (CBPC) :

Il représente 20 % des cancers bronchiques en France et est formé de cellules de petite taille, en nappe, de forme ronde ou ovale, à index mitotique élevé. La nécrose est massive La proportion du cancer à petites cellules au sein des cancers bronchiques a diminué de 17.6 % à 12.95 % entre 1986 et 2002. Il est en augmentation chez les femmes (28% en 1973 et 50% en 2002). Il est lié au tabagisme **(Clément-Duchêne, 2013)**.

Le CBPC se différencie des autres CP par un ensemble de caractéristiques :

- Tumeur d'origine neuroendocrine (développée à partir des cellules neuroendocrines qui sont dispersées à l'état normal dans tout l'épithélium bronchique)
- Un temps de doublement extrêmement rapide de l'ordre de 30 jours.
- Un pouvoir métastatique très important, par voie lymphatique et sanguine.
- Une très grande sensibilité à la chimiothérapie et à la radiothérapie.
- Une forte probabilité de rechute.**(Chater, 2013-2014)**.

6. DIAGNOSTIC

Le diagnostic du CP permet d'avoir un type histologique et un stade TNM (Tumor Node Metastasis), ces éléments sont importants dans la prise en charge thérapeutique et le pronostic des CP. Environ 80% des patients ont un diagnostic à un stade avancé et donc de nombreux symptômes peuvent être en relation avec le cancer au moment du diagnostic **(Clément-Duchêne, 2013)**.

6.1. Signes cliniques :

Dans 25 % des cas, les patients sont asymptomatiques au moment du diagnostic, d'où l'intérêt potentiel des programmes de dépistage. Par ailleurs, tout signe fonctionnel ou clinique persistant plus de 15 jours chez un fumeur ou ex-fumeur, sans explication, doit faire suspecter un CP.

L'existence d'une proportion non négligeable de non-fumeurs parmi les patients atteints de CP aujourd'hui doit également pousser à suspecter le diagnostic dans cette population également, sur la base des signes suivants (**F. Barlesi, 2014**).

a. Symptômes respiratoires : sont la toux, la dyspnée, les douleurs thoraciques et les hémoptysies.

- La toux est présente dans 45 à 75 % des cas de cancer bronchique et est secondaire à l'obstruction bronchique, à l'existence d'une pneumonie ou d'une pleurésie.
- La dyspnée est présente chez un tiers à la moitié des patients, secondaire à une obstruction, une pleurésie, une lymphangite, une péricardite ou une embolie pulmonaire.
- Les hémoptysies représentent 19 à 29 % des cas.
- Les douleurs thoraciques apparaissent dans 25 à 50 % des cas, par atteinte pariétale ou pleurale (**Clément-Duchêne, 2013**).

b. Les signes généraux : comme l'anorexie, la perte de poids et la fatigue sont aussi très fréquents (**Okkes IM, 2002**), parfois les patients sont asymptomatiques (**Buccheri G, 2004**).

c. Les signes d'atteinte locorégionale sont nombreux comme : l'atteinte du nerf récurrent, du nerf phrénique, le syndrome de Pancoast, le syndrome de Claude Bernard Horner (**Patel AM, 1993**).

d. D'autres signes peuvent révéler un cancer bronchique comme :

Les syndromes paranéoplasiques, présents dans environ 10 % des cas (**Clément-Duchêne, 2009**).

6.2. Examen radiologique

Les radiographies pulmonaires de thorax face-profil (RT) repèrent parfois une image anormale et évoquent sa nature tumorale mais le diagnostic de cancer sera affirmé après prélèvements (**Denotte, 2009**). La Tomodensitométrie thoracique avec injection

(=scanner, TDM), elle, représente l'outil de base pour le bilan d'extension du cancer avec notamment la réalisation du stade TNM, cet examen se fait préférentiellement avant l'endoscopie pour orienter au mieux les prélèvements et donc augmenter sa sensibilité. Elle précise les caractéristiques de la tumeur et l'extension lymphatique **(Wissler, 2012)**. Dans ce cas, la Tomographie par émission de positons au ^{18}F FDG (TEP) est indiquée sauf si des métastases sont déjà visibles sur le scanner thoraco-abdominal et cérébral. Cet examen a une bonne valeur prédictive négative mais une moins bonne spécificité (80%) **(Wissler, 2012)**.

6.3. Anatomie pathologique

Le diagnostic est confirmé par l'examen anatomopathologique, préférentiellement par une histologie plutôt qu'une cytologie **(Wissler, 2012)**, celle-ci pourra être obtenue par divers moyens, complémentaires : Endoscopie bronchique standard, Écho-endoscopie ou Ponction transthoracique, dont la sélection sera faite au mieux de manière multidisciplinaire **(F. Barlesi, 2014)**.

II. LES MARQUEURS TUMORAUX

1. GENERALITES

1.1. Définition :

Ce sont des substances endogènes (protéines, enzymes) présentes naturellement dans l'organisme dans le sang ou d'autres liquides biologiques dont la sécrétion peut être augmentée lors d'un processus pathologique et notamment lors de l'activation de certains gènes au cours de l'oncogenèse ; mais ils peuvent aussi être fabriqués par le corps lorsqu'une tumeur se développe, ou par les cellules cancéreuses elles-mêmes (**Phelip JM, 2013**).

Le meilleur des marqueurs est celui capable de donner un diagnostic de certitude, fiable, reproductible et de définir un pronostic (**Phelip JM, 2013**). Il devrait également avoir une capacité de discrimination complète grâce à d'excellentes spécificité et sensibilité, permettant des valeurs prédictives positives et négatives maximales (**Sarivalasis, Amram, & Dietrich, 2013**)(Annexe 11).

En d'autres termes, le marqueur idéal est une molécule synthétisée exclusivement par la tumeur, différente selon l'organe d'origine, sa concentration doit refléter la masse tumorale, elle doit être détectable à de très faibles concentrations et le test ne doit donner ni faux positifs, ni faux négatif (Kerbrat, 2005). En outre son dosage doit être effectué dans le même laboratoire (**Schillinger, 2011**).

Les marqueurs tumoraux présentent les avantages d'une détection facile, d'être un examen non invasif et un faible coût (**Sarivalasis, Amram, & Dietrich, 2013**). Cependant, cette description reste théorique, et à ce jour, il n'existe aucun marqueur satisfaisant l'ensemble de ces caractéristiques. A l'exception de l'hormone chorionique gonadotrope (hCG) chez l'homme, il n'existe pas de marqueur spécifique de tumeur mais plutôt des molécules dont la présence à forte concentration est associée au cancer (**Riedinger, 2005**).

1.2. Classification des marqueurs tumoraux circulants:

De nombreuses substances présentes en quantité plus importante chez le sujet cancéreux que chez le sujet sain sont utilisées comme marqueur tumoral. Différant par leur origine, leur structure biochimique, leur mode d'activité et leur site d'action. Les marqueurs tumoraux sont généralement des protéines qui peuvent être :

a. Des Antigènes onco-fœtaux

Ils reprennent des structures moléculaires fabriquées par le fœtus. De ce fait, ils sont appelés des antigènes onco-fœtaux. Il s'agit, en pratique, de l'alpha-foeto-protéine (AFP) et de l'antigène carcino-embryonnaire (ACE). Ils sont normalement produits durant le développement embryonnaire. Des concentrations élevées chez l'adulte résultent d'une réactivation de certains gènes contrôlant la croissance cellulaire et sont directement liés à la tumeur.

b. Des antigènes tumoraux

Ce sont des protéines présentes à la surface des cellules tumorales. Ces protéines tumorales se retrouvent dans le sang et sont reconnues par un anticorps spécifique. Elles sont dénommées de la façon suivante :

- Les lettres CA correspondent à Cancer Antigen.
- Le chiffre qui suit CA définit l'anticorps qui reconnaît l'antigène tumoral : (CA 19.9, CA-125, CA 15.3...etc.) **(Riedinger, 2005).**

c. Des hormones :

- peptidiques : telles que l' HCG (humanchorionicgonadotropin)
- Stéroïdes : androgènes
- Amines : sérotonine ; catécholamines

e. Des enzymes

La NSE (Neurone Spécifique Enolase); phosphatase alcaline...etc **(Alexandre, 2010).**

1.3. L'utilité du dosage :

Les principales applications des marqueurs tumoraux sont les suivantes :

- **Dépistage** : recherche de la maladie dans une population asymptomatique (Diagnostic précoce).
- **Diagnostic** : peut apporter la preuve de la nature de la tumeur.
- **Pronostic** : peut préciser l'évolution de la maladie ; traitée ou non.
- **Thérapeutique** : les variations du marqueur reflètent l'efficacité du traitement. (Le suivi : afin de prédire si celui-ci répond au traitement, si la dose doit être ajustée).
- **Surveillance** : permet de dépister les rechutes de façon précoce. (Prise en charge des rechutes) **(Pierrick, 2015).**

1.4. Notion de valeur seuil : C'est une valeur limite de normalité d'un marqueur tumoral, dépend de la technique du test utilisé à partir de laquelle on peut:

- Différencier les sujets sains des sujets malades.
- Représente un compromis entre la spécificité et la sensibilité (Par exemple : PSA seuil à 3 ou 4 ng/ml selon les études) **(Desroys, 2011)**.

1.5. Les problèmes rencontrés :

Il existe de fortes variabilités dans le dosage des marqueurs tumoraux. Les sources de ces fluctuations sont d'origines biologique et/ou analytique.

On distingue deux types de fluctuations biologiques :

La variabilité intra-individuelle liée à l'état du patient (rythme circadien, vieillissement, pathologie bénigne associée...) et la Variabilité interindividuelle inhérente à l'hétérogénéité de la population (origine ethnique, facteurs génétiques...).

Les fluctuations analytiques peuvent provenir de différentes sources :

- **pré-analytique**, correspondant aux variations de la collecte des échantillons jusqu'au début du dosage. C'est à ce niveau-là qu'ont lieu la plupart des erreurs graves et comme pour toute analyse biologique, le respect des règles de bonnes pratiques et des recommandations des fabricants (nature de l'anticoagulant, l'identification de l'échantillon, modalité de prélèvement, de transport et de conservation) est fondamentale.
- **Analytique**, correspondant aux variations importantes entre les techniques, donc absence de standardisation (ex : CA125 : seuil courant 35kU/l, en fait 18 à 53 Ku/l selon la technique utilisée) **(Riedinger, 2005)**.

1.6. Notion de cinétique :

C'est le suivi des dosages successifs d'un marqueur tumoral chez un patient donné en fonction du temps. Son intérêt :

- Dépasse la notion de valeur seuil (le patient devient son propre témoin)
- Permet le calcul d'un certain nombre de paramètres utiles pour le suivi : (Demi- vie, le Nadir et le Temps de doublement.)**(Desroys, 2011)**.

La place des cinétiques de marqueur tumorale en cancérologie se situe à différents stades de la maladie :

- **Syndrome de lyse tumorale** : Augmentation transitoire du marqueur en phase initiale d'un traitement systémique due au repartage du marqueur lié à la lyse tumorale (effet pointe). À différencier d'une progression tumorale sous traitement.
- **Décroissance initiale** : Elle est exponentielle et caractérisée par le temps de demi-vie ($T_{1/2}$), lié à la sensibilité tumorale.
- **Seconde composante de décroissance** : Elle correspond à un ralentissement de la vitesse de décroissance du marqueur liée à une libération résiduelle du marqueur de nature tumorale, physiologique ou nécrotique (liée à une sensibilité clonale).
- **Concentration minimale** : C'est un indicateur de maladie résiduelle (Nadir).
- **Élévation non spécifique** : Augmentation transitoire du marqueur.
- **Récidive biologique** : Élévation exponentielle du marqueur. Le calcul du temps de doublement peut apporter des informations utiles (**Desroys, 2011**)(Figure 10).

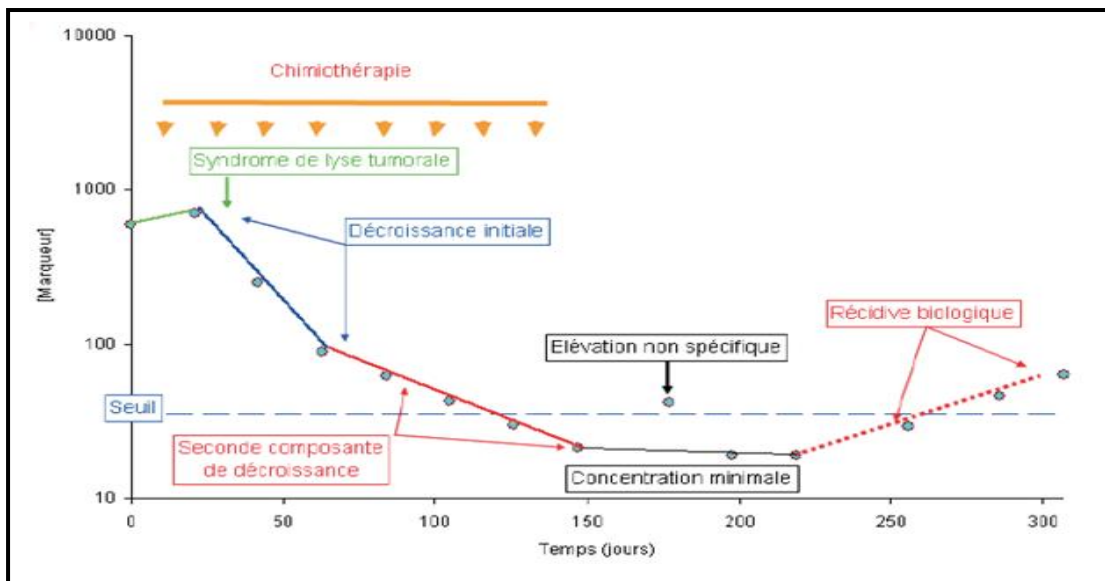


Figure 9 : Cinétique des marqueurs tumoraux tracée en coordonnées semi-logarithmiques (**Desroys, 2011**).

2. LA PLACE DES MARQUEURS TUMORAUX DANS LE DIAGNOSTIC DU CANCER BRONCHO-PULMONAIRE :

Le diagnostic précoce est connu pour mener à la réussite du traitement du cancer. Toutefois, de nombreux patients sont encore diagnostiqués avec un cancer de stade avancé, et donc ne reçoivent pas un traitement efficace. Le diagnostic de la maladie est limité par des symptômes et des signes physiques, et la détection de cancer pulmonaire sans signes précoces est extrêmement difficile (**Clément-Duchêne C. , 2013**).

En outre, L'obtention de tissus pour la biopsie est une méthode utilisée pour le diagnostic final. Cependant, cette méthode ne peut pas être facilement répétée car provoquant des lésions au patient. Par conséquent, l'accent est mis sur les marqueurs tumoraux et leur rôle pour aider au dépistage et le diagnostic des tumeurs (**Xin Li, 2012**). En fait, en cancérologie bronchique aucun marqueur tumoral ne remplit les critères de spécificité et de sensibilité suffisant pour être utilisés à titre diagnostique. En revanche, la détection combinée de multiples marqueurs tumoraux est susceptible d'améliorer la sensibilité et la spécificité du diagnostic clinique de la tumeur ; et de dépister les récurrences tumorales infra-cliniques (**Wen-Jing Wang1, 2013**).

2.1. NEURON-SPECIFIC ENOLASE (NSE)

2.1.1. Propriétés et distribution de l'énolase :

- **Structure :**

La NSE est une enzyme de la voie glycolytique qui catalyse la conversion du 2-phosphoglycérate en phosphoenolpyruvate.

Il existe plusieurs iso-enzymes, qui sont des homo-dimères, exprimés différemment selon les tissus. Trois types de sous-unités α, β, γ ont une masse moléculaire entre 82 et 100 kDa et ayant entre elles plus de 80 % d'homologie et partagent une grande séquence identique . Cependant, chaque iso forme possède une région variable courte située principalement sur la surface de la molécule et pourrait être le site de contact avec différents éléments du cytosquelette ou d'autres composants cellulaires (**Maria Antonietta Isgr, 2015**);(**Tjasa Vizin, 2015**).

2.1.2. Données physiologiques :**a. Gène codant pour la protéine :**

Des gènes différents portés par le chromosome 1 (α -énolase), 17 (β -énolase) et 12 (NSE) codent pour les 3 iso enzymes (**Gaillard.O, 2003**). En dépit d'être exprimé dans la plupart des cellules, le gène codant pour l'enolase n'est pas un gène de ménage depuis son expression mais plutôt varie pendant le développement ou selon les conditions pathophysiologiques (**Tjasa Vizin, 2015**).

b. Biosynthèse :

L' α -enolase est ubiquitaire, la β -énolase est musculaire et la γ -enolase (**$\alpha\gamma$ et $\gamma\gamma$ ou la protéine 14-3-2**) est la Neuron Spécifique Enolase (NSE), est une protéine dimérique de 433 acides aminés de long (**Tjasa Vizin, 2015**).

- La NSE (forme γ ou l'iso-forme $\gamma\gamma$) (**Gaillard.O, 2003**), se retrouve d'abord dans des extraits de tissus cérébraux, puis est présente dans les neurones matures, le tissu endocrine périphérique, et les tumeurs présentant des caractéristiques APUD (Amine Precursor Uptake and Décarboxylation,), tels que CBPC (**Maria Antonietta Isgr, 2015**). Est utilisée comme marqueur de maturation et de différenciation neuronal (**Tjasa Vizin, 2015**).
- La forme α (l'iso-forme $\alpha\gamma$) constitue la non neuronal enolase (NNE) (**Gaillard.O, 2003**). Exprimée en grande quantité dans les cellules non neuronales comme les globules rouges et les plaquettes (**Tjasa Vizin, 2015**).
- L'enzyme active est un dimère de 2 sous-unités non liées de façon covalente de masse moléculaire 78kDa (**Gaillard.O, 2003**).
- Sa demi de vie est de 14 jours (**Gaillard.O, 2003**).
- Il y a une relation significative entre l'activité catalytique et le taux d'antigène gamma énlse qui est assez souvent élevé dans le plasma des malades atteints de cancers bronchique à petites cellules (CBPC) (**Hansen, 2015**).

2.1.3. Concentration physiologique :

- 95% des sujets normaux ont une concentration sérique inférieure à 12,5 ng/ml.
- Des élévations non spécifiques (rarement supérieures à 25 ng/ml) peuvent être observées au cours de :
 - Pathologies pulmonaires bénignes (10 %).
 - Cancers du poumon de type adénocarcinome ou à grandes cellules.

- Tumeurs neuro-endocrines : phéochromocytomes (10–25 %), neuroblastomes (30–55 %)(**Gaillard.O, 2003**).

2.1.4. Gamma-énolase et cancer :

Elle pourrait avoir un rôle multifonctionnel dans la progression du cancer:

- Elle accélère la glycolyse, la principale source d'énergie dans les cellules cancéreuses, en induisant leur prolifération.
- Son extrémité C-terminale peut protéger les cellules tumorales des conditions stressantes et l'action d'agents thérapeutiques de l'apoptose en activant les voies de signalisations favorisant leur invasion et leur migration.
- Son implication dans le remodelage de filaments d'Actines à travers leurs interactions et la fonction de kinase RhoA. (Un régulateur des filaments du cytosquelette) permettant la progression du cancer et la métastase (**Tjasa Vizin, 2015**).

2.2. ANTIGENE CARCINO-EMBRYONNAIRE (ACE)

C'est une glycoprotéine onco-fœtale de surface de haut poids moléculaire de 200 kDa, retrouvée dans le tractus digestif, le foie et le pancréas du fœtus entre le 2^{ème} et le 6^{ème} mois de la vie intra-utérine (**Heron.J.F, 2003**).

Il s'agit d'une molécule d'adhésion de type immunoglobuline, proche des molécules N-CAM, elle est présente au niveau du pôle apical des membranes des cellules épithéliales glandulaires. Elle intervient dans les phénomènes d'interaction des cellules épithéliales et a un rôle dans l'adhésion cellulaire (**Pagès.P, 1998**).

Présent en petites quantités dans le plasma normal, il est très augmenté dans les cancers colorectaux, gastriques et pancréatiques. (**Heron.J.F, 2003**). Il peut également être indiqué pour établir le pronostic de patients atteints de différents cancers, tels que le cancer du sein et du poumon (**Indranath Ghosh, 2013**).

On le retrouve également augmenté dans certaines maladies bénignes y compris la cirrhose, les maladies pulmonaires et la pancréatite (**Xin Li, 2012**).

La perte de polarité des cellules tumorales explique la sécrétion dans le milieu extracellulaire et le passage dans le sang de l'ACE (**Pagès.P, 1998**). Cet antigène est

un outil utile dans le diagnostic du cancer. De plus, est un marqueur d'adhérence des cellules cancéreuses (**Xin Li, 2012**).

- Des concentrations d'ACE inférieures à 4ng/ml ont été trouvées chez 95% des sujets apparemment sains.
- La demi-vie de l'ACE est de 6 à 8 jours (**Heron.J.F, 2003**).
- Des taux élevés d'ACE ont été rapportés dans le CBNPC (**Hai-Feng Qin, 2013**) de sous type adénocarcinome (**Bing Wang, 2014**).
- L'expression sérique de l'ACE chez les patients atteints de CBNPC est liée à la mutation de l'EGFR. En outre, l'expression de l'ACE peut être utilisée comme indicateur référentiel pour prédire l'efficacité thérapeutique des inhibiteurs de la tyrosine kinase EGFR (**Minkyu Jung, 2011**).

2.3. CARBOHYDRATE ANTIGEN-125 (CA-125)

Le CA-125 est une glycoprotéine de poids moléculaire élevé 250 kD, présente dans de nombreux tissus épithéliaux adultes, comme l'endomètre ou les séreuses. Il a également été trouvé dans des cellules d'origines mésothéliales (pleurales, péricardiques...) ainsi que dans de nombreux autres épithéliums (rein, poumons...). Enfin, il peut également être exprimé dans des tissus adultes ovariens normaux. Le CA-125 a une distribution très étendue dans les tissus humains, et manque donc de spécificité (**Duffy.M.J, 2005**).

- Le CA-125 peut être présent sous deux formes : attaché à la surface de ces cellules ou libéré sous forme soluble dans les fluides corporels. Sa sécrétion est permise par une interaction de son récepteur avec le facteur de croissance épidermique, ou l'EGF (Epidermal Growth Factor), provoquant la perte du domaine transmembranaire qui sert d'attachement du CA-125 à la membrane (**Timothy J. O'Brien, 2001**).
- Sa demi-vie biologique est de 7 à 14 jours (**Robert C. Bast, 1983**).
- La concentration sérique du CA-125 est élevée lors d'invasion vasculaire, de destruction de tissu et d'inflammation, associées à un cancer de l'ovaire (**Schillinger, 2011**). Il est très augmenté dans les adénocarcinomes du sein, du pancréas et du poumon (**Duffy.M.J, 2005**). Cependant, des taux élevés peuvent aussi être observés dans des conditions physiologiques, comme en début de grossesse ou pendant les menstruations, ou dans des situations pathologiques

bénignes, telles que l'endométriose, l'altération du péritoine et des séreuses, la présence de kyste, ou encore lors de cirrhose ou hépatite (**Duffy.M.J, 2005**).

- Cet antigène est particulièrement utile pour suivre les cancers du poumon non à petite cellules, (**Yue Can Zeng, 2014**) de sous type d'adénocarcinome (**Yolchiro Matsuoka, 2016**).
- Deux rôles ont pu être décrits :
- **Rôle dans la réponse immunitaire** : il atténuerait la lyse anticorps-cellule par le système du complément. De plus, il pourrait inhiber la réponse cytotoxique des cellules NK, ou « tueur naturel » (Natural Killer). Le CA-125 aurait donc un rôle de suppresseur de la réponse immunitaire anti-tumeur.
- **Rôle d'interaction avec d'autres molécules** : telles que la galectine-1 avec formation de ponts intra- ou inter-moléculaires qui pourraient exercer des réponses extracellulaires, et la mésothéline produite en excès par les cellules cancéreuses (**Urban, 2007**).

2.4. CARBOHYDRATE ANTIGEN (CA19-9)

2.4.1. Présentation générale :

Marqueur antigénique à motif carbohydrates correspondant à un oligosaccharide qui appartient à la famille des antigènes sialylés déterminants du groupe sanguin Lewis a (ou Le^a). Le CA19-9 est présent à la surface des membranes cellulaires auxquelles il se lie par l'intermédiaire d'un ganglioside. L'ensemble forme un composé glycolipidique. Cet antigène est principalement sécrété dans le sérum ou il est porté par une glycoprotéine de type mucine de faible poids moléculaire (**Pagès.P, 1998**).

Le CA19-9 est un ligand de l'E-selectine, molécule endothéliale d'adhésion leucocytaire présente sur les cellules endothéliales activée par les cytokines. Il permet l'adhésion des cellules malignes à l'endothélium vasculaire et la dissémination hématogène des cancers exprimant cet antigène (**Riedinger, 2005**).

2.4.2. Distribution :

Le CA19-9 n'est pas spécifique des tumeurs malignes : il est exprimé dans l'organisme de façon physiologique, plus particulièrement au niveau des cellules épithéliales du tractus digestif. Cet antigène est localisé principalement dans les cellules canalaire pancréatiques, les cellules des voies biliaires, de la vésicule, de l'estomac et du côlon. Il est également présent au niveau des cellules épithéliales salivaires et des tissus du poumon (**Pagès.P, 1998**).

Des taux de CA 19-9 sont également élevés lors de nombreuses maladies bénignes ou inflammatoires tels que la cirrhose 20%, hépatite chronique 33 %, et la pancréatite chronique (**Kerbrat, 2005**).

Des taux élevés de CA19-9 ont été rapportés dans différents tumeurs malignes. Il s'agit plus particulièrement des cancers gastro-intestinaux : tumeurs malignes colorectale, gastriques mais surtout cancers des voies biliaires et du pancréas (**Pagès.P, 1998**). Il peut également être indiqué pour établir le pronostic de patients atteints de cancer de l'ovaire (mucineux 80% et séreux 30%) et du poumon (**Alexandre, 2010**). Des taux élevés ont été rapporté dans le CBNPC. (**Hyun Joo Lee, 2012**).

2.5. HAPTOGLOBINE

2.5.1. Description

L'haptoglobine (Hp) est une glycoprotéine plasmatique. Le foie est le principal organe responsable de sa synthèse. En dehors du foie, le gène de l'Hp est exprimé dans d'autres tissus comme les poumons, la peau, des cellules réticulo-endothéliales de la rate, des ganglions lymphatiques, le thymus, le rein et le tissu adipeux chez la souris (**William.Friedrichs.E, 1995**);(**Jeanine D'Armiento, 1997**). La synthèse hépatique de l'haptoglobine est induite par les cytokines pro-inflammatoire tels que l'interleukine-6 (IL- 6), l'interleukine-1 (IL-1), et le tumor necrosis factor alpha (TNF- α) (**Raynes.J.G, 1991**).

Fixant avec une grande affinité l'hémoglobine libre (Hb) libérée au cours de l'hémolyse intra-vasculaire, pour former un complexe stable (Hp-Hb) qui est

rapidement catabolisé (**Kino, 1980**); (**Higa, 1981**). La demi-vie de la molécule est de 3 à 5 jours (**Chenillot, 2000**).

C'est une protéine présente chez tous les mammifères, mais son polymorphisme n'a été retrouvé que chez l'homme (**Madièye, 2007**). L'haptoglobine présente un polymorphisme génétique avec trois phénotypes majeurs notés (Hp 1-1), (Hp 2-1) et (Hp 2-2) (**Quaye.K, 2008**). Par ailleurs, La protéine d'Hp consiste en 2 chaînes polypeptidiques (α et β) codées par des gènes localisés au niveau du chromosome 16q22 (**Georgina Galicia and JanL.Ceuppens, 2011**). L'haptoglobine est un tétramère de quatre chaînes polypeptidiques : deux chaînes lourdes β et deux chaînes légères α reliées entre elles par des ponts disulfures.

Les concentrations en Hp circulante varient durant la vie. Chez le nouveau-né, elles sont plus faibles (0,2 g/L), mais augmentent rapidement au cours des premiers jours de la vie (**Madièye, 2007**). Elles atteignent les concentrations retrouvées chez l'adulte au bout de 8 à 10 mois (**Kushner, 1982**). Chez les adultes sains, les concentrations d'Hp sont comprises entre 0,38 et 2,27 g/L.

2.5.2. Propriétés fonctionnelles de l'haptoglobine :

Elle possède plusieurs activités biologiques différentes selon ses phénotypes, notamment elle intervient dans:

- la fixation de l'hémoglobine.
- la protection contre les radicaux libres.
- l'influence sur le statut en fer.
- l'inhibition de l'activité vasoconstrictrice de l'hémoglobine.
- l'inhibition de la synthèse des prostaglandines.
- La modulation de la réponse immunitaire (Figure 17).
- l'angiogenèse.
- l'activité antibactérienne (**Madièye, 2007**).

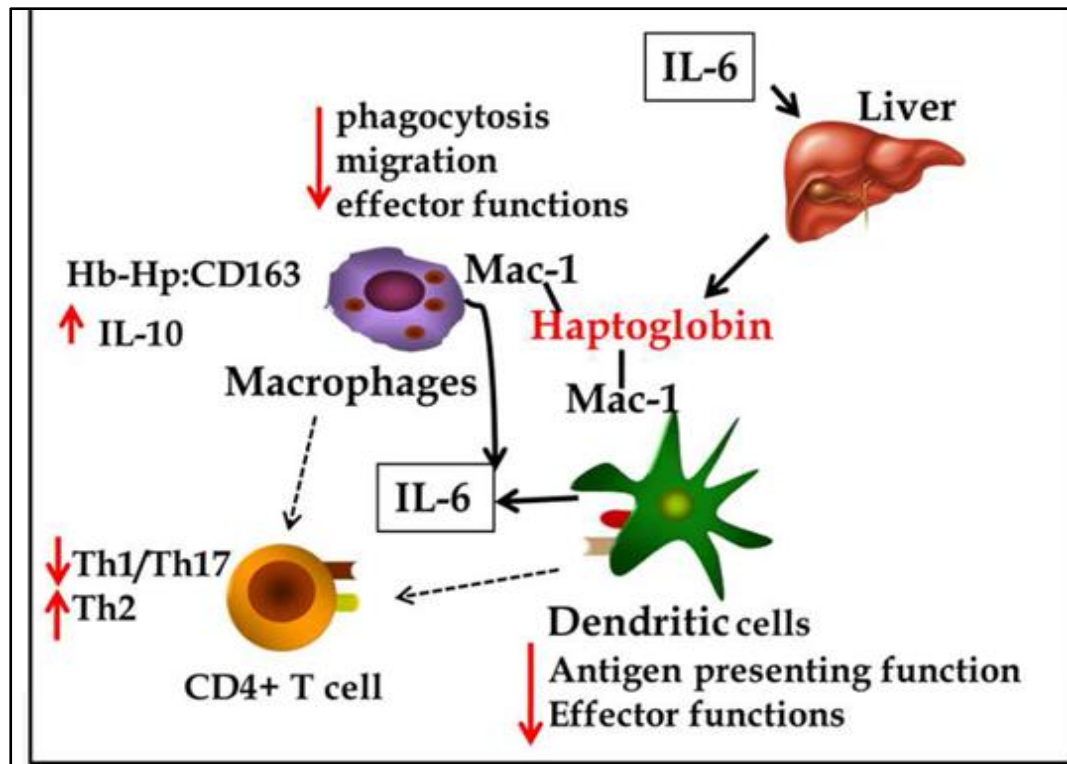


Figure 10 : Représentation schématique du mécanisme potentiel de la régulation des fonctions des cellules immunitaires Par l’Hp (**Georgina Galicia and JanL.Ceuppens, 2011**).

2.5.5. Haptoglobine et cancer

Protéine tétramérique de la phase aigüe de l’inflammation, sa principale fonction est l’élimination de l’hémoglobine libre dans le plasma. Toutefois, elle possède également des propriétés anti-oxydantes et angiogéniques, et aurait un rôle dans la migration cellulaire (**Kymberley Carter, 2007**).

-Les principales causes de variations pathologiques des concentrations sériques d’haptoglobine sont l’inflammation et l’hémolyse. L’inflammation s’accompagne d’une augmentation des concentrations circulantes, alors que l’hémolyse est responsable d’une diminution. L’haptoglobine est utilisée comme marqueur des processus inflammatoires depuis plusieurs dizaines d’années (**Jayle. Owen, 1960**).

-Sa concentration plasmatique augmente en réponse à divers stimuli incluant la grossesse, l’infection, les traumatismes, nécrose tissulaire, l’infarctus du myocarde et d’autres réactions inflammatoires (**Madière, 2007**).

-Les concentrations en Hp du sérum diminuent en cas d'hémolyse intravasculaire, notamment dans toutes les situations où les concentrations en hémoglobine extracellulaire sont élevées, tels que le paludisme, réactions transfusionnelles hémoglobinopathies, valves cardiaques et endocardites **(Madièye, 2007)**.

-Bien qu'elle soit de synthèse hépatique, il lui a été montré une expression différentielle dans les tissus cancéreux **(Thompson.S, 1992); (Mann, 1994) ;(Katnik, 1996) ; (Ang, 2006)**. Il a été rapporté des taux élevés d'haptoglobine dans les cancers du sein, de l'ovaire, du pancréas, les lymphomes malins et les tumeurs uro-génitales et de la vessie **(Mahdi Abdullaha, 2009);(Kymberley Carter, 2007);(Durairaj Mohan Kumar, 2010);(Mirjam B. Smeets, 2003)**.

-Elle pourrait avoir un rôle multi fonctionnel dans l'apparition du cancer :

-Se dissociant de l'haptoglobine, l'hémoglobine libre provoque l'accumulation des radicaux libres à partir du fer héménique par la production de radicaux hydroxyles via la réaction de Fenton **(Sadrzsdeh Sayed M. H., Hallaway, & Eaton, 1984)**, inhibant son activité anti-oxydante et provoquant des dommages cellulaires **(Gutteridge.M.C, 1995)**. L'importance de la formation du complexe Hp-Hb est illustrée par une susceptibilité accrue aux dommages oxydants des tissus dans les conditions d'hypo-ou d'anhaptoglobinémie (Hp 0-0) ou chez les souris déficientes en Hp **(Panter, 1985);(By Sai-Kiang Lim, 2016); (Van Vlierberghe. H, 2004)**.

-En principe, La formation du complexe Hp-Hb et sa fixation au récepteur CD163 laisse suggérer l'exposition d'un nouvel épitope de liaison au récepteur **(Van Vlierberghe. H, 2004)**. Cette fonction du récepteur CD163 est à la base d'un transfert substantiel du fer de l'Hb dans le macrophage **(Mette Kristiansen, 2001)**. L'augmentation des concentrations intracellulaires d'hème avec l'endocytose des complexes Hb-Hp, entraîne une induction rapide de la synthèse de ferritine circulante **(Michel R. Langlois, 2000)**, qui est considérée comme la première ligne de défense immunitaire de l'organisme. En revanche, la dissociation de l'Haptoglobine de l'hémoglobine n'entraîne pas la synthèse de ferritine, elle ne sera plus capable d'activer une réponse immunitaire et donc faciliter l'apparition de cancer **(Madièye, 2007)**.

-Il a été rapporté une fucosylation élevée de l'haptoglobine dans le cancer notamment pancréatique et ovarien **(Sung-Min Kang, 2011)**.

-L'Hp a été décrite comme un facteur angiogénique du sérum nécessaire à la prolifération et à la différenciation des cellules endothéliales pour la formation de nouveaux vaisseaux **(Maria.Cid.C, 1993)(Arredouani.M, 2003)**. L'angiogenèse est un processus physiopathologique, primordial dans la croissance des tumeurs malignes et le développement des métastases **(Madièye, 2007)**.

-Des taux élevés d'Haptoglobine ont été rapportés dans le cancer du poumon du type histologique carcinome squameux (épidermoïde) **(Bing Wang, 2014)**. Aussi, des niveaux élevés de la chaîne beta glycosylée de l'haptoglobine a été rapportée dans le cancer du poumon comparé à d'autres pathologies pulmonaires et d'autres cancers **(Sung-Min Kang, 2011)**.

Le présent travail a été réalisé au sein du laboratoire d'Immunochimie et de Neuro-immunologie au niveau du département d'immunologie de l'Institut Pasteur d'Alger (IPA). Du 1^{er} Février 2016 jusqu'à 30 Mai 2016.

Notre étude a pour **objectif** d'évaluer l'intérêt du dosage sérique des marqueurs tumoraux NSE, ACE, CA125, CA19.9 et de l' Haptoglobine, seuls ou combinés, dans le diagnostic du cancer du poumon. Ainsi qu'évaluer secondairement l'intérêt de ces marqueurs dans le diagnostic différentiel des types de cancers pulmonaires.

II.1. PATIENTS ET METHODES

II.1.1. Patients

Il s'agit d'une étude cas-témoins.

- Les cas : sont les sujets atteints de cancer du poumon confirmé.
- Les témoins : deux populations témoins ont été étudiées
 - 1) Premier groupe : sujets atteints de pathologies pulmonaires bénignes.
 - 2) Deuxième groupe : des sujets sains (donneurs de sang).

a. Les cas (sujets cancéreux)

Trente patients atteints de cancer du poumon ont été recrutés au niveau du service d'oncologie médicale du CHU Blida Frantz Fanon (24 patients) et du CPMC d'Alger (6 patients). Parmi ces patients 27 hommes et 3 femmes ; âgés entre 19-74 ans, avec une moyenne d'âge de 54,68 ans $\pm$ 12,89.

b. Témoins (sujets non cancéreux)

- Les sujets atteints des pathologies pulmonaires bénignes :

Trente et un patients atteints de pathologies pulmonaires bénignes (PPB) ont été recrutés au niveau du service de pneumologie de l'hôpital Brahim Trichine Blida. Les PPB comprenaient la tuberculose pulmonaire, l'asthme, broncho-pneumopathie chronique obstructive ...etc. Parmi ces patients, 30 hommes et une seule femme ; avec des extrêmes d'âges de 16-95ans, l'âge moyenne est de 54,97ans $\pm$ 19,74.

➤ Les sujets sains (les donneurs de sang) :

Trent six sujets apparemment sains donneurs de sang ont été recrutés au niveau du CTS (Centre de Transfusion Sanguine) du CHU Blida. 35hommes et une seule femme, âgés entre 19 et 56ans, la moyenne d'âge est de 32,19 ans $\pm$ 10,02.

I.1.2. Matériels biologiques :

• Prélèvement sanguin :

- un prélèvement de sang veineux a été effectué pour les patients atteints d'un cancer du poumon avant de commencer la cure de chimiothérapie et pour les patients atteints d'une pathologie pulmonaires bénigne à jeûne le matin, afin d'assurer une meilleure qualité des sérums et des plasmas. Deux types de tubes ont été utilisés : un tube sec, qui est un activateur de la coagulation irréversible, il permet l'obtention de sérum après coagulation pour le dosage des marqueurs tumoraux : NSE, CA125, CEA, CA19.9, et un tube EDTA (Acide éthylène-diamine-tétra-acétique) pour le dosage de l'haptoglobine.
- Les sérums et les plasmas ont été obtenus par centrifugation à une vitesse de 3500 Tours/mn pendant 5 minutes, à température ambiante. (Figure 11: Annexe 2)
- Préparation du sérum et du plasma (Figure 12).

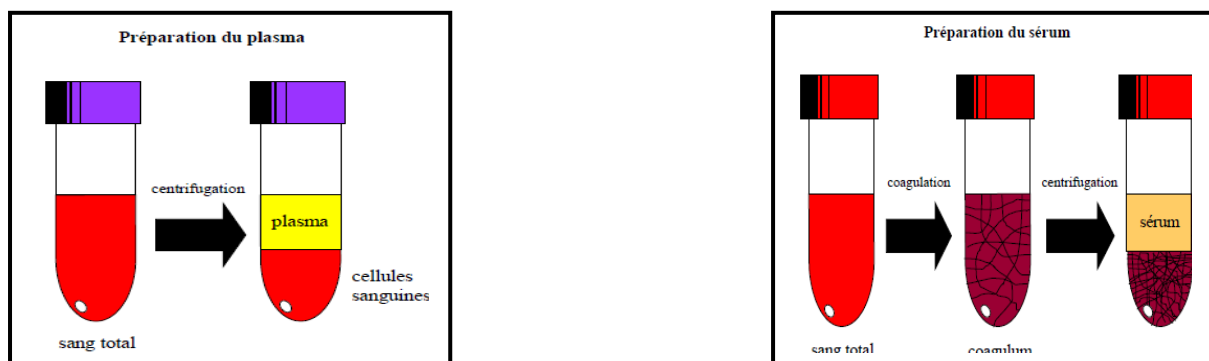


Figure 12: préparation du plasma et du sérum (Olivier Preynat-Seauve, 2010).

- L'aspect visuel du contenu des tubes est vérifié par la suite :
 - absence d'hémolyse.
 - séparation nette des globules rouge et du plasma/sérum.
- Le transport des prélèvements s'est fait dans des glacières. Les échantillons de sérum et de plasma ont été rassemblés et stockés à -20°C jusqu'à analyse.

- Pour chaque patient un consentement éclairé du patient a été obtenu (Annexe 3), et une fiche de renseignement a été remplie pour les patients cancéreux (Annexe 4) et les patients atteints d'une pathologie pulmonaire bénigne (Annexe 5).

I.2.METHODES DE DOSAGE

Nous avons utilisés deux techniques immunologiques :

I .2.1.Technique de chimiluminescence :

Le dosage in vitro de l'antigène CA125, CA19.9, ACE (l'Antigène Carcino-Embryonnaire), et NSE (Neuron Spécifique Enolase) dans le sérum de tous les patients atteints d'un cancer du poumon et les témoins (patients atteints d'une pathologie pulmonaire bénigne et les sujets sains), par technique de chimiluminescence, sur l'automate de la gamme LIAISON Analyser (Figure 13 : Annexe 6).

I.2.2.Technique de turbidimétrie :

La quantification in vitro de l'haptoglobine humaine dans le plasma de tous les sujets a été réalisée sur le turbidimètre SPAPlus (Figure 14 : Annexe 7).

I .2.1.Technique de chimiluminescence

I .2.1.1.Principe du dosage des marqueurs tumoraux (NSE, CEA, CA125, CA19-9), par la technique de chimiluminescence :

La chimiluminescence s'observe suite à une réaction chimique qui produit une molécule se trouvant dans un niveau d'énergie excité. Cette molécule émet alors un rayonnement pour retomber dans son niveau d'énergie fondamental (BAUDUIN Sophie, 2010).

La méthode de détermination quantitative du CA19.9, CA125, CEA, NSE est un dosage immunologique de type sandwich par chimiluminescence.

- **CA19.9** : Le même anticorps anti-CA19.9 hautement spécifique est fixé sur la phase solide (particule magnétique) et est marqué par un dérivé d'isoluminol (conjugué).
- **CA125** : Deux anticorps monoclonaux différents hautement spécifiques sont utilisés pour revêtir la phase solide (particule magnétique) et le conjugué.
- **ACE** : trois anticorps monoclonaux différents hautement spécifiques sont utilisés pour revêtir la phase solide (particule magnétique) et le conjugué.

- **NSE** : Les particules magnétique (phase solide) sont revêtues d'anticorps monoclonal de souris spécifique ; un autre anticorps monoclonal est lié à un dérivé d'isoluminol (conjugué isoluminol-anticorps).
- + Pendant une première incubation, les marqueurs tumoraux CA125, CA19.9, CEA, NSE présent dans les étalons, les échantillons, les contrôles, se lient à l'anticorps monoclonal de la phase solide, après une étape de lavage, le conjugué d'anticorps réagit dans une seconde incubation avec le marqueur tumoral lié déjà à la phase solide.
- + Après incubation, le matériel non lié est éliminé par un cycle de lavage.
- + Ensuite, la réaction de chimiluminescence est débutée par l'injection automatique des réactifs starters dans les modules réactionnels. Le signal lumineux, et par conséquent la quantité de conjugué anticorps-isoluminol, est mesuré par un photomultiplicateur en unités relatives de luminescence (RLU, Relative Light Units) est un indicatif de la concentration des marqueurs tumoraux : CA125, CA19.9, ACE.NSE, présents dans les étalons, les échantillons et les contrôles (Figure : 15).

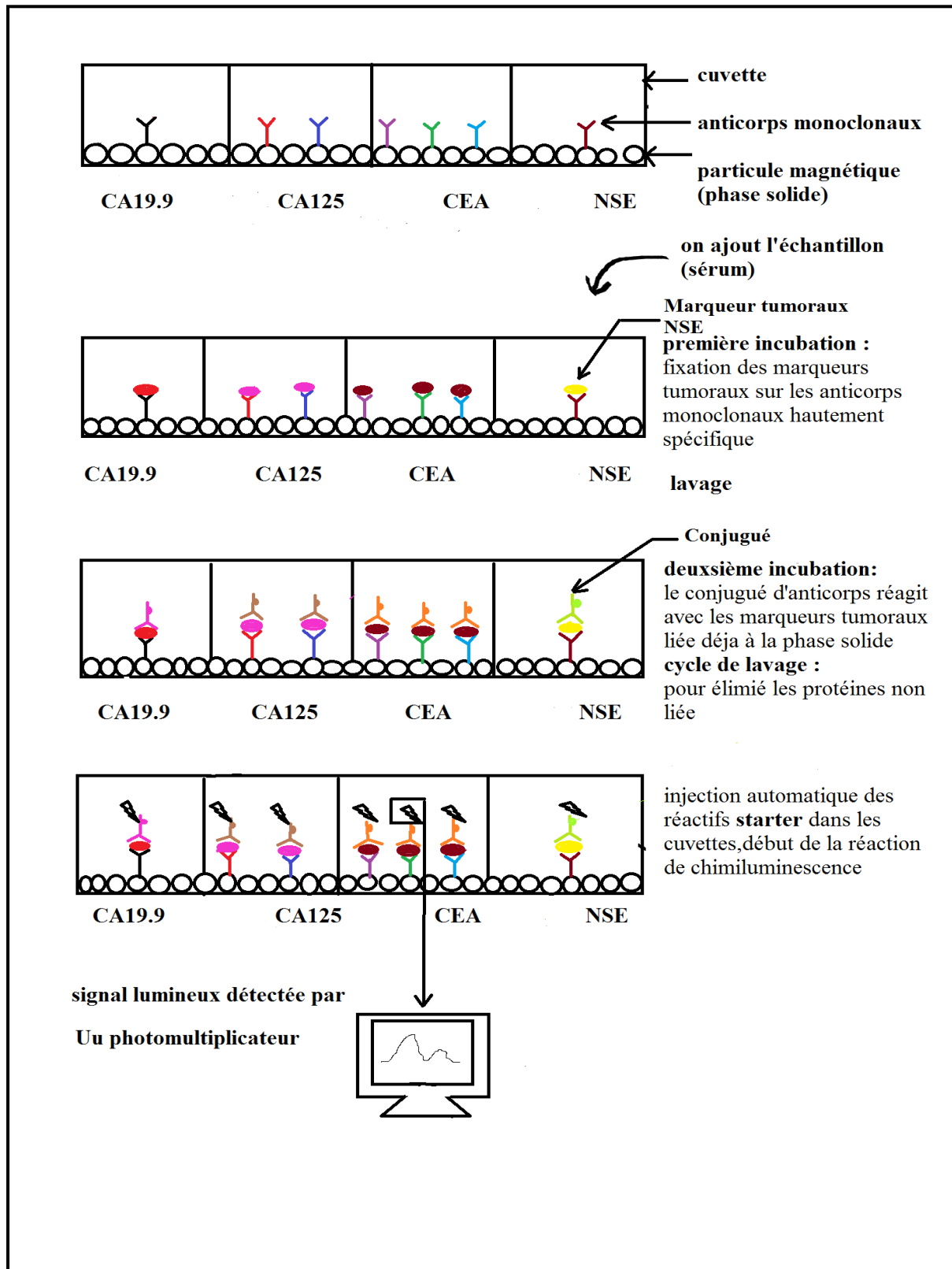


Figure 15 : principe de dosage des marqueurs tumoraux par la technique de chimiluminescence.

I.2.1.2. Les étapes du dosage des marqueurs tumoraux par technique de chimiluminescence :

- a. Mettre les sérums préparés dans des racks échantillons de l'automate (figure 16: Annexe 8).
- b. Introduire dans l'ordinateur de l'automate la liste des paramètres à doser (figure 17 : Annexe 8).
- c. vérifier que les réactifs nécessaires pour le dosage sont à bord de l'automate et en quantité suffisantes (Annexe 9 : Figure 18, 19, 20, 21,22).
- d. Procédure de dosage :
 - L'automate LIAISON exécuté les opérations suivantes (Annexe 9 : tableaux 1,2, 3).

I.2.1.3. Interprétation des résultats :

L'automate calcule automatiquement les concentrations de CA125, CA19-9, CEA, NSE exprimées en : U/ml, U/ml, ng/ml, µg/L respectivement à partir d'une courbe de calibration.

I.2.1.4. Valeurs seuils :

- **CA19.9** : Une étude portant sur des sérums de 94 donneurs de sang apparemment sains a déterminée des valeurs de référence à environ **19U/ml** (95 percentile), une zone grise jusqu'à **37U/ml** est conseillé.
- **CA125** : des concentrations de CA125 jusqu'à **35U/ml** (95eme percentile) ont trouvées chez un groupe de 100 donneurs de sang (50 hommes et 50 femmes) présumés sains. la valeur seuil de référence est dépendante de l'âge, chez les femmes, du cycle menstruel.
- **CEA** : Chez 95% des sujets (500) apparemment sains, les concentrations en CEA sont inférieures à **4ng/ml**.
- **NSE** : Les femmes et les hommes sains montrent normalement des valeurs NSE inférieures à **18,3µg /L** dans le sérum et inférieures à **13µg/L** dans le LCR (95 centile).

I.2.2. Technique de turbidimétrie :

I.2.2.1. Principe du dosage de l'haptoglobine par la technique de turbidimétrie

L'évaluation de la concentration d'un antigène soluble par turbidimétrie implique la réaction de cet antigène avec un antiserum spécifique menant à la formation de complexes insolubles. Lorsqu'un faisceau de lumière traverse cette suspension une partie de la lumière est transmise et concentrée sur une photodiode à l'aide d'un système de lentilles optiques.

La quantité de lumière transmise est directement proportionnelle à la concentration en protéine spécifique dans l'échantillon testé. Les concentrations sont automatiquement calculées à l'aide d'une courbe de calibration enregistrée et stockée dans l'instrument (**fiche technique de réactif, SPAPlus**) (figure 23).

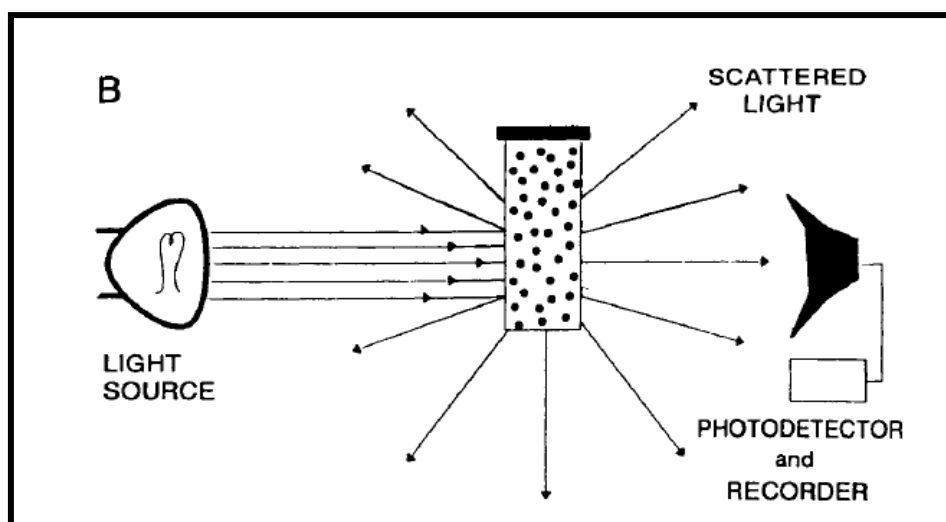


Figure 23: Principe de turbidimétrie (Kricka, 1996).

I.2.2.2. Réactifs nécessaires :

- **Antisérum humain haptoglobine** : ce réactif est mono-spécifique pour l'haptoglobine et il est fourni sous forme liquide stable. Il contient 0,099% d'acide de sodium, 0,1% d'acide E-amino-n-caproïque(EACA), 0,5% de BSA, 0,1% EDTA et 0,01% de benzamidine comme conservateurs.
- **Calibrateurs et contrôles** : ils consistent en des mélanges de sérums humains et sont fournis sous forme liquide stable.
- **Tampon de réaction** : il contient 0,099% d'acide de sodium comme conservateur.

I.2.2.3. Valeur seuils :

	Gamme 95 percentile (g/L)
Haptoglobine	0,32-1,97
(boîte de réactif, SPAPlus)	

I.3. ANALYSE STATISTIQUE

- Pour chaque groupe (cas et témoins) la moyenne et l'écart-type des concentrations en marqueurs tumoraux ont été calculés.
- à l'aide du logiciel GraphPadPrism 5, nous avons effectués les comparaisons entre:
 - ❖ les taux moyens par le *Test ANOVA*, (*Test de Kruskal-Wallis*) entre les trois groupes, le *Test Mann-whitheny* entre deux groupes.
 - ❖ les pourcentages par le test du Chi-square (Khi-deux) dans chaque groupe.
 - $P < 0.05$ significatif.
 - $P > 0.05$ pas de différence significative.
- Nous avons calculé la sensibilité et la spécificité des marqueurs tumoraux seuls et combinés entre les sujets atteints d'un cancer du poumon et les sujets sains selon les formules suivantes :
 - Sensibilité = $VP / VP + FN$
 - Spécificité = $VN / VN + FP$

Tableau	Malades (CP)	Non-malades (SS)
Test positif	VP	FP
Test négatif	FN	VN

- VP (vrais positifs) représente le nombre d'individus malades avec un test positif,
- FP (faux positifs) représente le nombre d'individus non malades avec un test positif,
- FN (faux négatifs) représente le nombre d'individus malades avec un test négatif,
- VN (vrais négatifs) représente le nombre d'individus non malades avec un test négatif (Annexe 10).

➤ **La courbe ROC** (Receiver Operating Characteristic)

Un outil graphique permettant de représenter la capacité d'un test à discriminer entre la population des malades et des non-malades, si on a besoin d'un index simple et quantitatif de la performance d'un test, on utilise à cet effet l'aire sous la courbe ROC (AUC=Area Under the Curve).

- pour un test parfait, l'aire sous la courbe(AUC) égale à 1.
- pour un test avec une discrimination moyenne AUC est de supérieur à 0.5
- pour un test sans valeur discriminante, l'aire sous la courbe (AUC) inférieur à 0,5 (Figure 24).

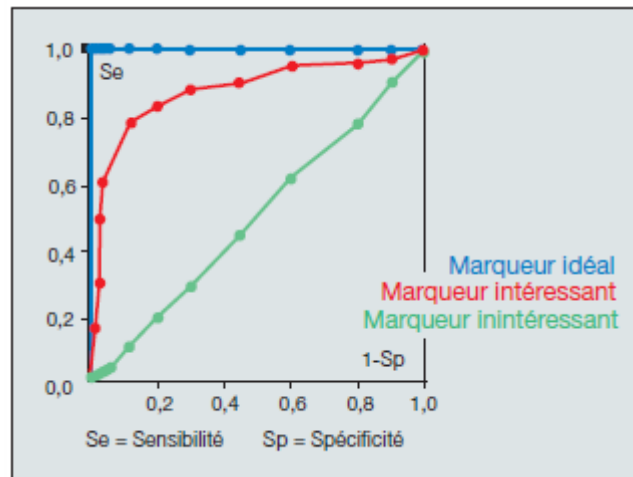


Figure 24 : Courbe ROC pour un marqueur idéal (AUC =1), marqueur intéressant (AUC >0.5) et marqueur inintéressant (AUC <0.5) (Bedossa, 2005)

- Dans notre étude nous avons établi la courbe ROC à l'aide du logiciel GraphPadPrism 5(Annexe 11).

Les résultats de notre étude sont présentés comme suit :

- les caractéristiques des patients,
- Comparaisons des taux moyens sériques des marqueurs tumoraux (MT) entre les différents groupes (CP vs PPB vs SS).
- la sensibilité et la spécificité de ces marqueurs tumoraux seuls et leurs combinaisons,
- la courbe ROC.
- comparaison des taux moyens des marqueurs tumoraux (MT) selon le type histologique, selon le stade, et le statut fumeur/non-fumeurs.

II.1. CARACTERISTIQUES DES PATIENTS

Notre étude a porté sur 30 sujets atteints d'un cancer du poumon (CP), 31 sujets ayant une pathologie pulmonaire bénigne (PPB) et 36 sujets sains (SS).

II.1.1. Patients atteints de cancer du poumon

Trente sujets atteints d'un cancer du poumon (CP) dont l'âge moyen est de 54,68 ans, constitué de 27 hommes (90%) et 3 femmes (10%), 76,66% entre eux sont des fumeurs (23/7) dont la consommation tabagique moyenne est de 39,66(paquet - année) (Tableau 4).

Tableau 4 : Les caractéristiques des patients atteints de cancer du poumon.

N	30
Age (ans, moyenne $\pm$ écartype)	54,68 $\pm$ 12,9
Sexe (hommes / femmes)	27/3
Consommation tabagique (oui / non)	23/7
Consommation tabagique moyenne (paquet-années, moyenne $\pm$ écartype)	39,66 $\pm$ 23,2

Parmi les 30 patients l'adénocarcinome(ADK) représente le type histologique le plus fréquent 46% suivi par 27% de cas de carcinome épidermoïde (CE), 10% de tumeur neuroendocrine (TNE), 7% des patients ayant un lymphome et 3% de cancer bronchique à petite cellule (CBPC) (Figure 25).

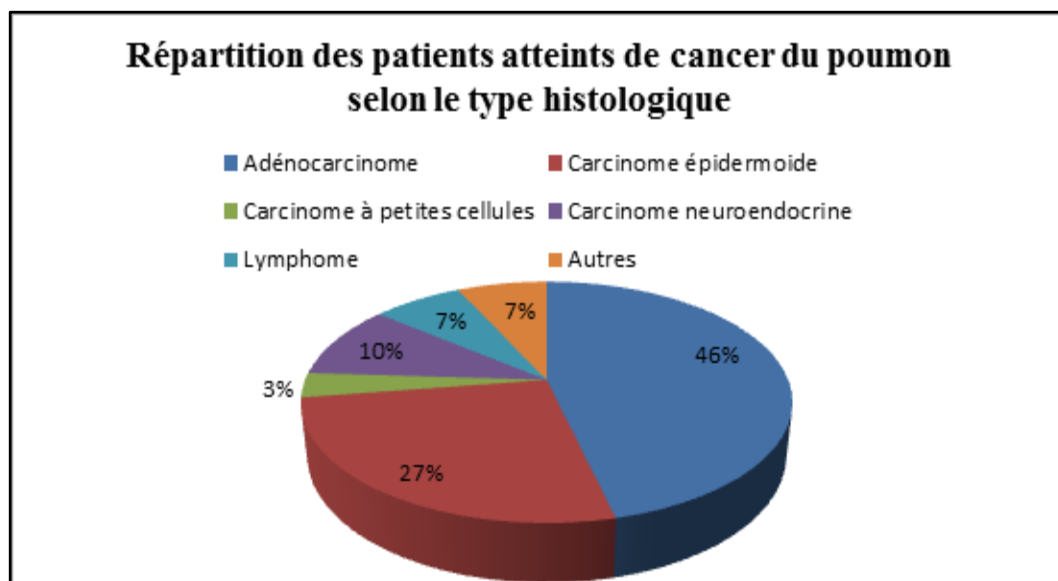


Figure 25 : Répartition des patients atteints d'un cancer du poumon (CP) selon le type histologique.

Tous les types histologiques de cancers du poumon trouvés sont classés selon la gravité et l'état d'avancement de la maladie en stade (I et II), III et IV, leur pourcentage sont présenté dans la figure 26.

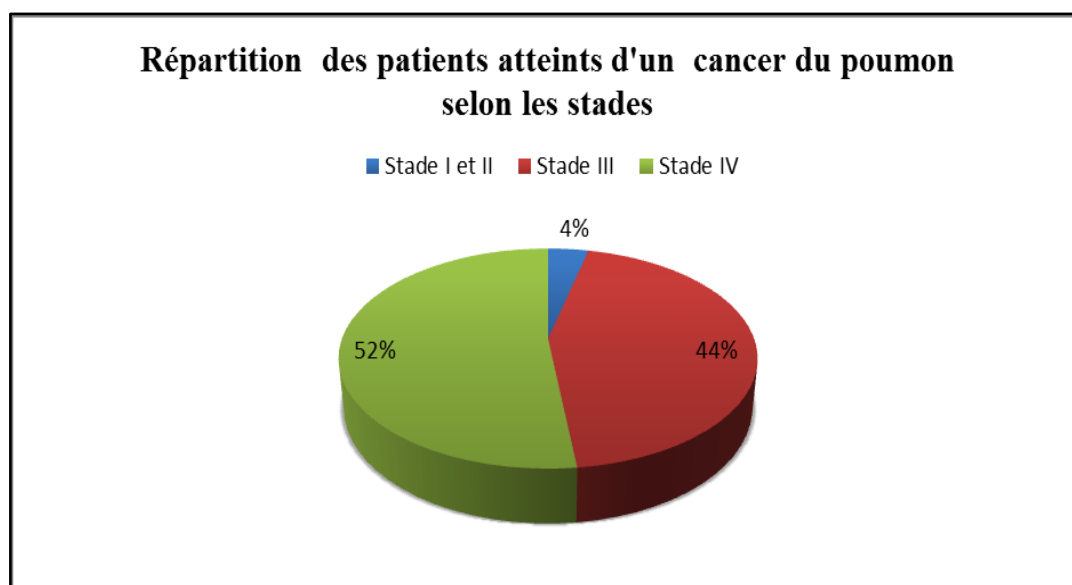


Figure 26 : Répartition des patients atteints d'un cancer du poumon selon le stade.

II.1.2. Patients atteints de pathologie pulmonaire bénigne

Trente et un sujets atteints d'une pathologie pulmonaire bénigne (PPB) dont l'âge moyen est de 54,96 ans, constitué de 30 hommes (96,77%) et une seule femme (32,25%), 77,41% entre eux sont des fumeurs (24/7) avec une consommation tabagique moyenne est de 26,86(paquet - année) (Tableau 5).

Tableau 5 : Les caractéristiques des patients atteints de pathologies pulmonaires bénignes.

N	31
Age (ans, moyenne $\pm$ écartype)	54,96 $\pm$ 19,74
Sexe (hommes / femmes)	30/1
Consommation tabagique (oui / non)	24/7
Consommation tabagique moyenne (paquet-années, moyenne $\pm$ écartype)	26,86 $\pm$ 21,90

Parmi les 31 patients atteints de pathologies pulmonaires bénignes(PPB) ; 28% ont une tuberculose pulmonaire, 24% de pneumopathie, 21% de pneumothorax, 14% d'asthme, 7% de bronchopathie et 3% de broncho-pneumopathies chroniques obstructives (BPCO) (Figure 27).

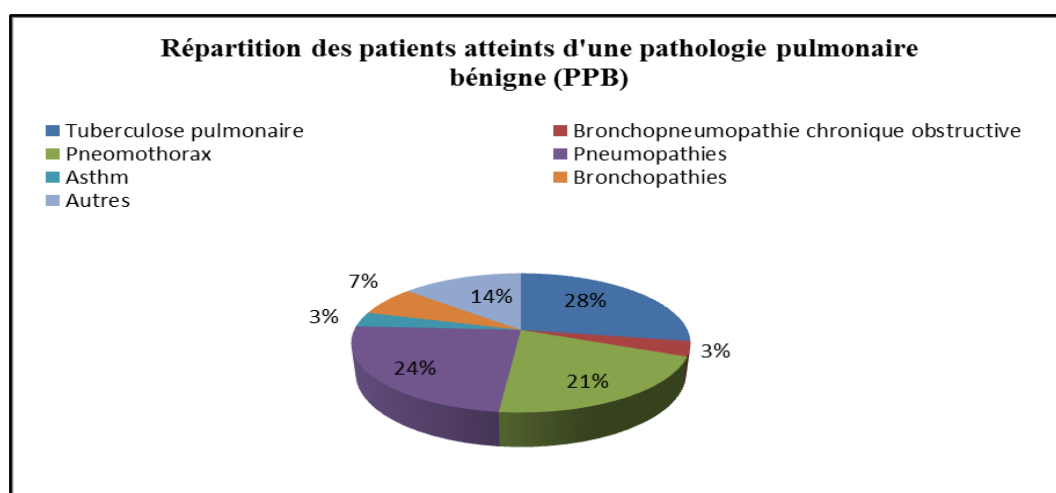


Figure 27 : Répartition des patients atteints d'une pathologie pulmonaire bénigne (PPB) selon le type de pathologie.

II.1.3. Sujets sains

L'âge moyen des 36 sujets sains (SS) est de 32,19 ans, constitués de 35 hommes (97,22%) et une seule femme (2,77%) (Tableau 6).

Tableau 6: Les caractéristiques des sujets sains.

N	36
Age (ans, moyenne $\pm$ écartype)	32,19 $\pm$ 10,02
Sexe (hommes / femmes)	35/1

II.2. DOSAGE SERIQUE DES MARQUEURS TUMORAUX

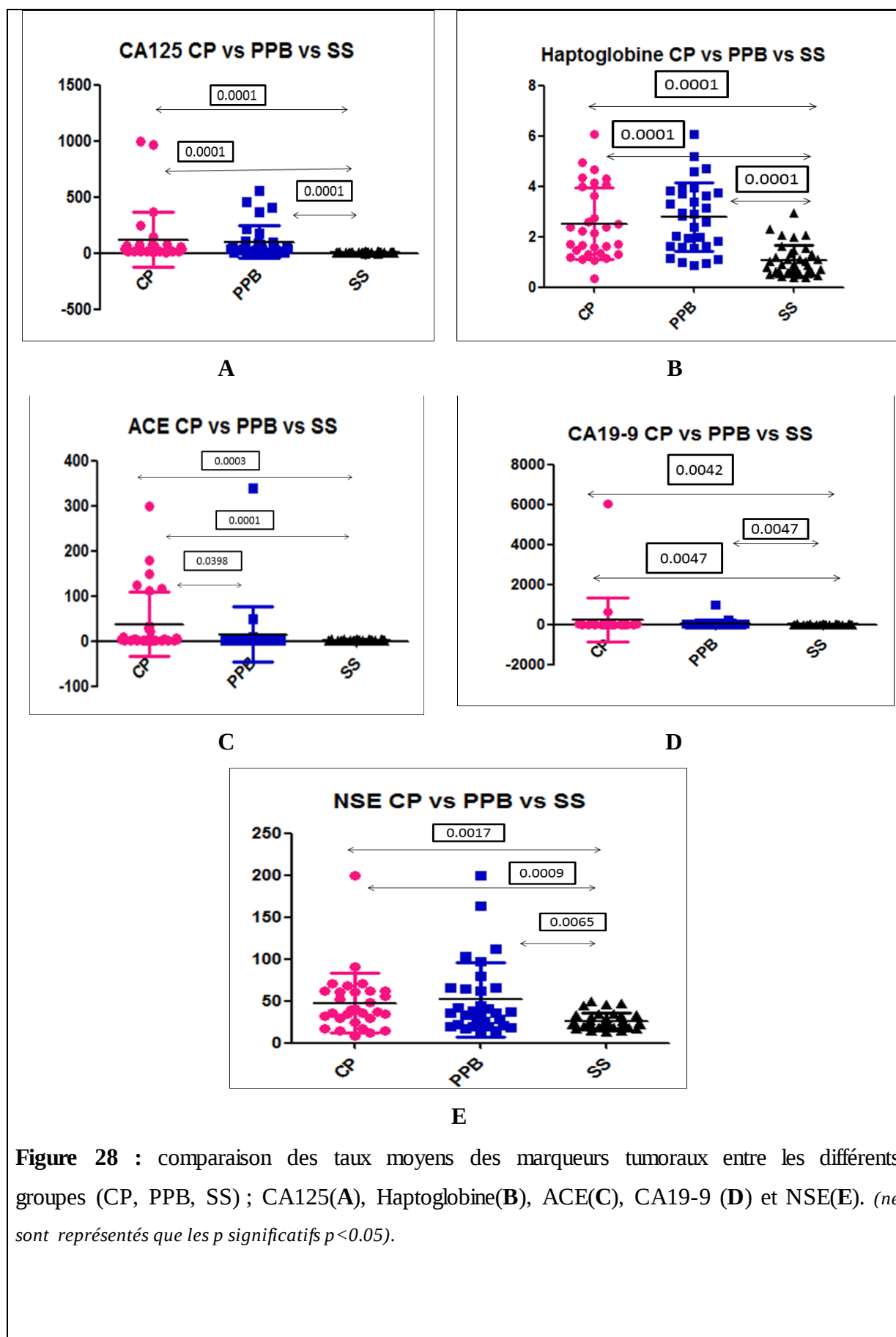
II.2.1. Comparaison des Taux moyens des marqueurs tumoraux entre CP vs SS vs PPB

La comparaison des taux moyens des marqueurs tumoraux ; CA125, Hp, ACE, CA19-9 et NSE entre l'ensemble des groupes (CP vs PPB vs SS) par test ANOVA (test de Kruskal) et entre les deux groupes séparément (CP vs PPB) et (CP vs SS) par test de (Mann-Whitney) est présentée dans le tableau 7 et figure 28.

Tableau 7 : la comparaison des taux moyens des marqueurs tumoraux entre les différents groupes (CP vs PPB vs SS) et entre deux groupes (CP vs PPB), (CP vs SS).

	CP (n=30)	PPB (n=31)	SS (n=36)	P value (CP vs PPB vs SS)	P value (CP vs PPB)	P value (CP vs SS)	P value (PPB vs SS)
CA125 (U/ml)	121,247 $\pm$ 246,238	101,22 $\pm$ 145,335	7,1202 $\pm$ 4,2743	<0,0001 [†]	0,9253 $\ddagger^*$	<0,0001 $\ddagger$	<0,0001 $\ddagger$
Haptoglobine (g/l)	2,52 $\pm$ 1,4311	2,7758 $\pm$ 1,3541	1,0545 $\pm$ 0,610	<0,0001 [†]	0,4932 $\ddagger^*$	<0,0001 $\ddagger$	<0,0001 $\ddagger$
ACE (ng/ml)	37,84 $\pm$ 70,77	15,354 $\pm$ 60,740	2,2194 $\pm$ 0,8214	0,0003 [†]	0,0398 $\ddagger$	<0,0001 $\ddagger$	0,0576 $\ddagger^*$
CA19-9 (U/ml)	245,19 $\pm$ 1102,60	54,32 $\pm$ 180,42	8,74 $\pm$ 11,099	0,0042 [†]	0,6495 $\ddagger^*$	0,0047 $\ddagger$	0,0047 $\ddagger$
NSE (U/ml)	47,51 $\pm$ 35,60	51,64 $\pm$ 43,94	26,043 $\pm$ 9,382	0,0017 [†]	0,09655 $\ddagger^*$	0,0009 $\ddagger$	0,0065 $\ddagger$

([†]) Test ANOVA, Test de Kruskal; ($\ddagger$) test Mann-whitney ; $p < 0.05$ significatives, $P > 0.05$: pas de différence significative(*).



- La comparaison des taux moyens des marqueurs tumoraux ; CA125, ACE, CA19-9, NSE et Hp entre les trois groupes (CP vs PPB vs SS) montre une différence significative avec ($p < 0,0001$; $< 0,0001$; $0,0003$; $0,0042$; $0,0017$) respectivement.
- La comparaison des taux moyens entre les patients atteints d'un cancer du poumon et les sujets sains a montré une différence significative pour les cinq marqueurs tumoraux, et entre les patients atteints d'une pathologie pulmonaire bénigne et les sujets sains pour les marqueurs tumoraux CA125, Hp, CA19-9 et NSE sauf l'ACE qui ne présente aucune différence mais le p est limite ($p = 0.057$). Cependant, la comparaison entre les patients atteints d'un cancer du poumon et les patients atteints d'une pathologie pulmonaire bénignes ne montre aucune différence significative quant aux taux de ces marqueurs à l'exception de l'ACE ($p = 0.0398$).

II.2.2. Etude de la sensibilité et spécificité des marqueurs tumoraux seuls et combinés

La sensibilité et spécificité des marqueurs tumoraux étaient différentes selon que les marqueurs étaient seuls ou combinés. Les valeurs obtenues avec chaque marqueur seul sont présentés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Sensibilité et spécificité (%) des marqueurs tumoraux.

Marqueurs	Valeurs seuils	Sensibilité (%)	Spécificité (%)
CA125	35 U/ml	56,67	71,64
Haptoglobine	1.97g/l	53,33	62,7
ACE	4 ng/ml	40	92,5
CA19-9	37 U/ml	33,33	92,5
NSE	18.3 U/ml	80	13,4

Ces marqueurs tumoraux montrent une sensibilité de la plus élevée à la plus faible : NSE > CA125 > Hp > ACE > CA19-9 et une spécificité de la plus faible à la plus élevée: NSE < Hp < CA125 < CA19-9 = ACE.

Lorsque les différents marqueurs étaient combinés, la sensibilité a été augmentée et une baisse de la spécificité (tableau 9).

Tableau 9 : sensibilité et spécificité des différentes combinaisons de marqueurs tumoraux.

Marqueurs	Sensibilité (%)	Spécificité (%)
CA125+Hp	76,67	55,2 (37/67)
CA125+Hp+ACE	76,67	56,7(38/67)
CA125+Hp+ACE+CA19-9	<u>96,67</u>	<u>55,2(37/67)</u>
CA125+Hp+ACE+CA19-9+NSE	96,67	10,44(7/67)

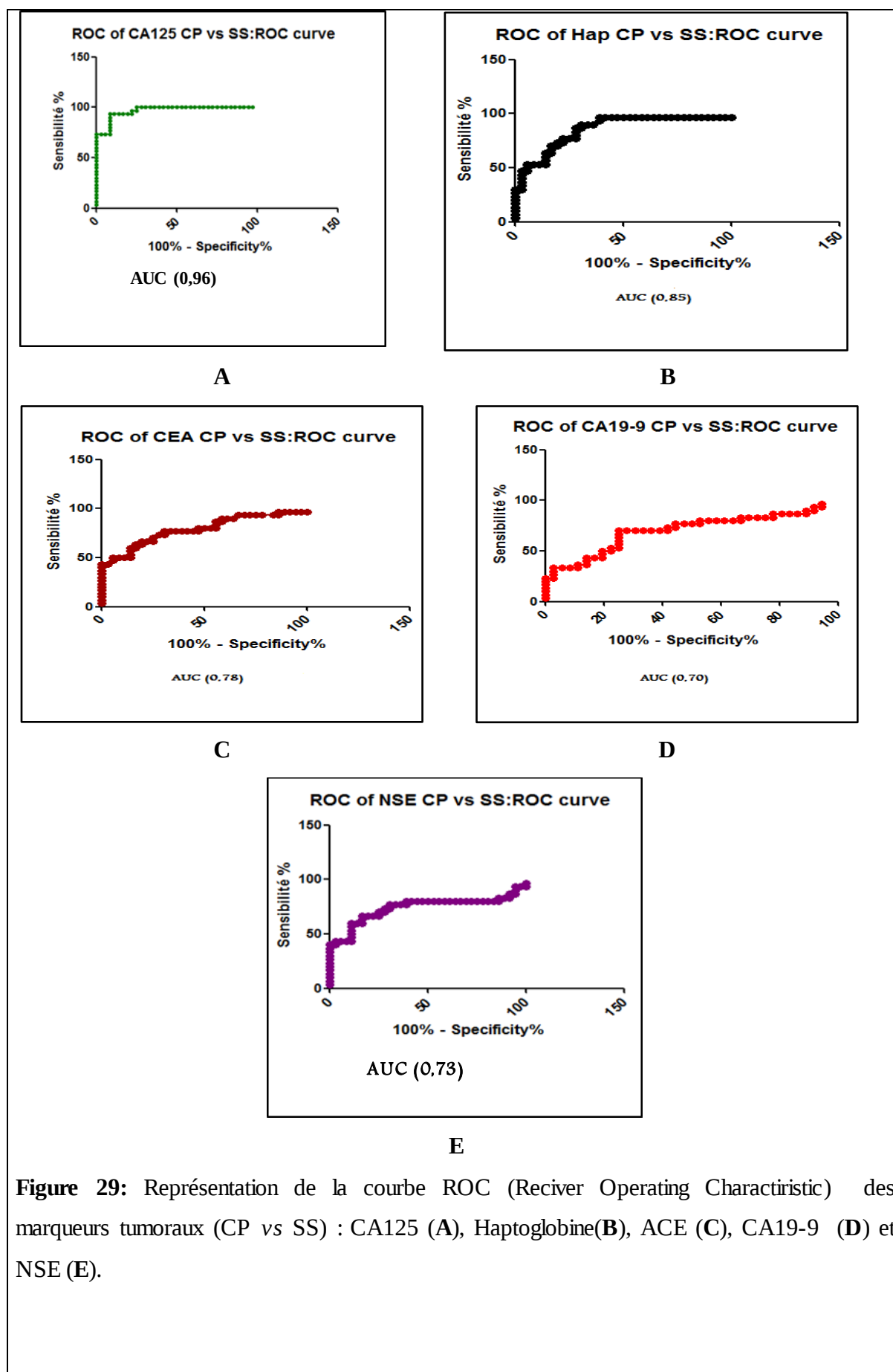
- Les résultats montrent que l'étude de la sensibilité et de la spécificité combinée entre les quatre marqueurs tumoraux ; CA125+Hp+ACE+CA19-9, sont les plus avantageuses (96,66%), (55,2%) respectivement.

II.2.3. Courbe ROC (Receiver Operating Characteristic)

L'aire sous la courbe ROC a été calculée pour les cinq marqueurs tumoraux (MT) ; CA125, Hp, ACE, CA19-9 et NSE afin de comparer la précision de chaque marqueur utilisé dans le diagnostic du CP dans la distinction CP vs SS et CP vs PPB, ainsi que de déterminer les valeurs seuils idéales pour chaque marqueur.

II.2.3.1.Courbe ROC des marqueurs tumoraux chez les patients atteints de cancer du poumon (CP) versus les sujets sains (SS):

Les courbe ROC des marqueurs tumoraux ; CA125, Hp, l'ACE, CA19-9 et NSE chez (CP vs SS) effectuées à l'aide d'un logiciel (GraphPadPrism 5) avec l'aire sous la courbe AUC (Area Under the Curve) déterminée sont représentés dans la figure 29.



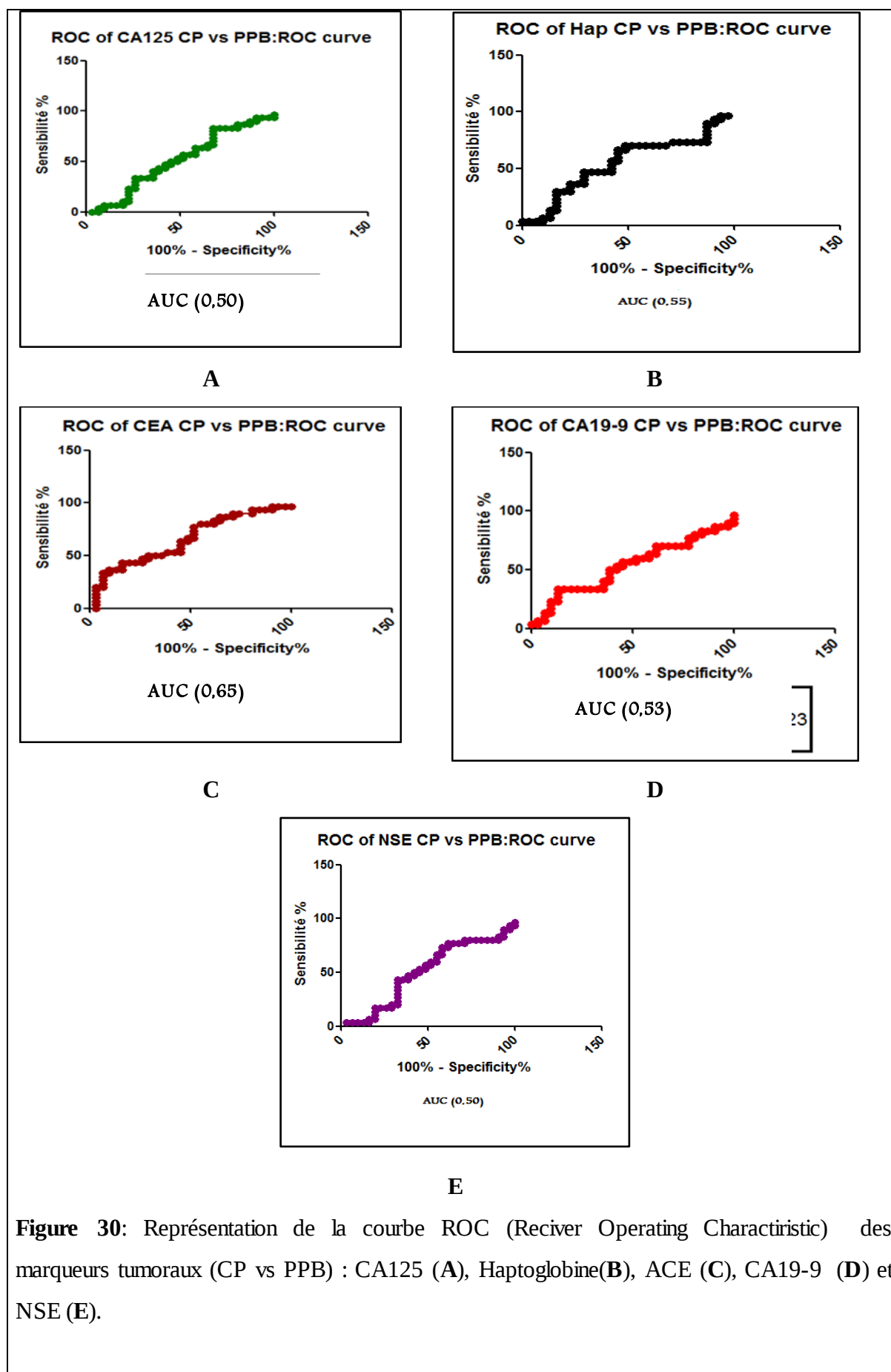
- L'aire sous la courbe(AUC) des marqueurs tumoraux ; CA125, Hp, l'ACE, NSE et CA19-9 est (0,96 ; 0,85 ; 0,78 ; 0,70 ; 0,73) respectivement presque égal 1. Ce qui traduit une bonne discrimination entre les malades (CP) et les non malades (SS).

La courbe ROC permet également de sélectionner un nouveau seuil de positivité pour chaque marqueur tumoral donnant les meilleures sensibilités et spécificités, ces valeurs seuils n'ont pas été très différentes de celles utilisées :

- CA125 : la courbe ROC montre que pour une valeur seuil de 37,66 (U/ml) la sensibilité était de 53,33 % et la spécificité de 100 % ;
- l'haptoglobine : une valeur seuil idéale de 2,028 (g/ml) (sensibilité de 53,33% % et spécificité de 88,89 %) ;
- l'ACE : une valeur seuil de 8,82 (ng/ml) montre une sensibilité de 33,33 % et une spécificité de 100%.
- CA19-9 : une valeur seuil de 40,95 U/ml avec la sensibilité et la spécificité de (26,67 et %, 97,22 %) respectivement.
- NSE : montre à une valeur seuil de 19,71 (U/ml) une sensibilité 80% de et une spécificité de 25%.

II.2.3.2. Courbe ROC des marqueurs tumoraux chez les patients atteints de cancer du poumon versus les patients atteints d'une pathologie pulmonaire :

Les courbe ROC des marqueurs tumoraux ; CA125, Hp, l'ACE, CA19-9 et NSE chez (CP vs PPB) effectuées à l'aide d'un logiciel (GraphPadPrism 5) avec l'aire sous la courbe AUC (Area Under the Curve) déterminée sont représentés dans la figure 30.



- L'aire sous la courbe (AUC) des marqueurs tumoraux était par ordre décroissant : l'ACE (0.65); Hp (0.55), CA19-9(0.53) et 0.50 pour CA125 et NSE. Ce qui traduit une capacité de discrimination faible ou presque nulle entre les malades (CP) et les non-malades (PPB).

II.2.4. Apport des marqueurs tumoraux dans le diagnostic des différents types histologiques de CP.

Pour déterminer dans notre étude le marqueur tumoral cible pour chaque type histologique de CP, nous avons réalisé une comparaison de la fréquence des sujets ayant des marqueurs tumoraux positifs (tableau 10).

Tableau 10 : Comparaison de la fréquence des sujets ayant des marqueurs tumoraux positifs selon le type histologique de cancer du poulmon.

Marqueurs (%)	CBPC (n=1)	CE (n=8)	ADK (n=14)	TNE (n=3)	Lymphome (n=2)
CA125	00	37,5	<u>71,42</u>	33,33	100
Haptoglobine	00	<u>75</u>	35,71	100	50
ACE	00	25	<u>64,28</u>	00	00
CA19-9	00	25	0,42	<u>33,33</u>	00
NSE	<u>100</u>	75	<u>85,71</u>	<u>100</u>	50
CA125+Hp	00	75	<u>78,57</u>	100	50
CA125+Hp+ACE	00	75	<u>78,57</u>	100	50
CA125+Hp+ACE+CA19-9	00	<u>87,5</u>	57,14	100	50
CA125-Hp-ACE-CA19-9-NSE	100	100	100	100	100

- cancer du poulmon du type adénocarcinome (ADK) :NSE>CA125>ACE>Hp>CA19.9. la combinaison CA125+Hp semble être la meilleure.
- cancer du poulmon du type carcinome épidermoïde (CE) : NSE>Hp>CA125>ACE=CA19.9. la combinaison CA125+Hp+ACE+CA19-9 semble la meilleure chez ces patients
- Concernant les tumeurs neuroendocrine (TNE), le cancer bronchique à petite cellules (CBPC) vu le faible échantillonnage aucune conclusion ne peut être émise.

II.2.5. Comparaison des taux moyens des marqueurs tumoraux dans le cancer du poumon selon le stade :

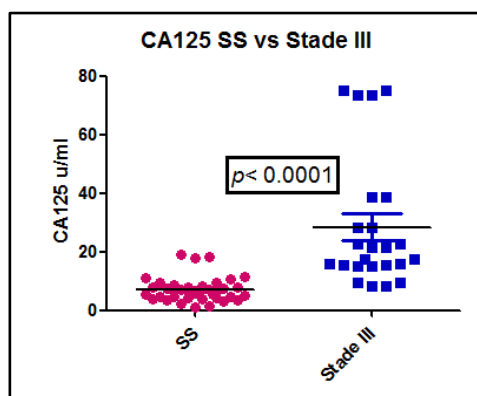
Afin de déterminer si les taux des marqueurs tumoraux variaient selon le stade du cancer du poumon, nous avons réalisé une comparaison des taux moyens des marqueurs tumoraux CA125, Hp, ACE, CA19-9 et NSE, entre les sujets sains et les patients atteints d'un cancer du poumon ayant un stade III ou IV, et entre les deux stades II et IV (le tableau 11), (figures 31,32,33).

Tableau 11: la comparaison des taux moyens des marqueurs tumoraux dans le cancer du poumon selon le stade.

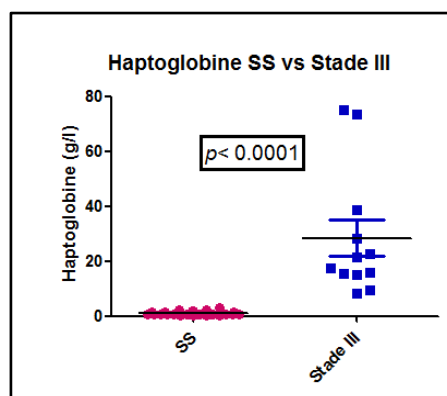
	Sujets sains (n=36)	Stade III (n=12)	Stade IV (n=14)	P value (SS vsStade III)	P value (SS vs Stades IV)	P value (Stade III vs Stade IV)
CA125	7,12 ± 4,27	28,37 ± 22,90	198,77 ± 338,21	< 0.0001‡	< 0.0001‡	0,0221‡
Haptoglobine	1,05 ± 0,61	2,75 ± 1,47	2,48 ± 1,56	< 0.0001‡	0,0007‡	0,625‡ •
ACE	2,21 ± 0,82	17,05 ± 35,06	34,11 ± 57,83	< 0.0001‡	0,0002‡	0,291‡•
CA19-9	8,74 ± 11,09	526,68 ± 1740,54	67,75 ± 161,58	0,0003‡	0,0505‡•	0,857‡•
NSE	26,04 ± 9,38	40,45 ± 23,28	52,11 ± 46,41	0,2682‡	0,0028‡	0,554 ‡•

(‡) : Test Mann-whiteny ; $P > 0,05$ significatif; $P < 0,05$ non significatif (•)

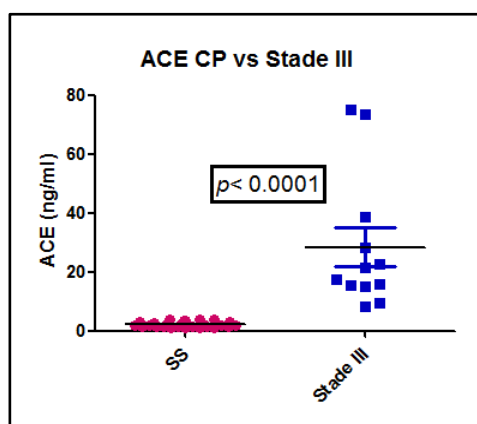
- Une différence statistiquement significative a été retrouvée entre les taux moyens des marqueurs tumoraux CA125, Hp ; ACE, CA19-9, NSE chez les sujets sains et les patients ayant un stade III, de même pour les patients ayant un stade IV sauf pour le CA19-9. Par contre, seul le taux moyen du CA125 a montré une différence entre les deux stades III et IV.



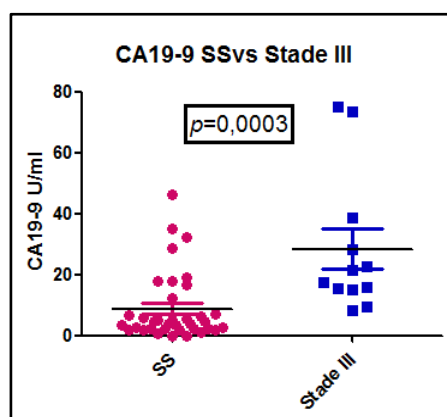
A



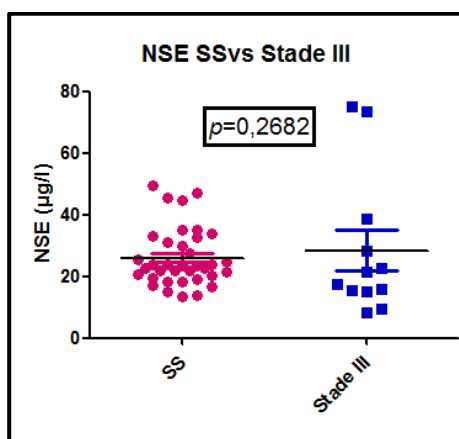
B



C



D



E

Figure 31: Représentation de la comparaison des taux moyens des marqueurs tumoraux dans le cancer du poumon (SS vs stade III) : CA125 (A), Haptoglobine(B), ACE (C), CA19-9 (D) et NSE (E).

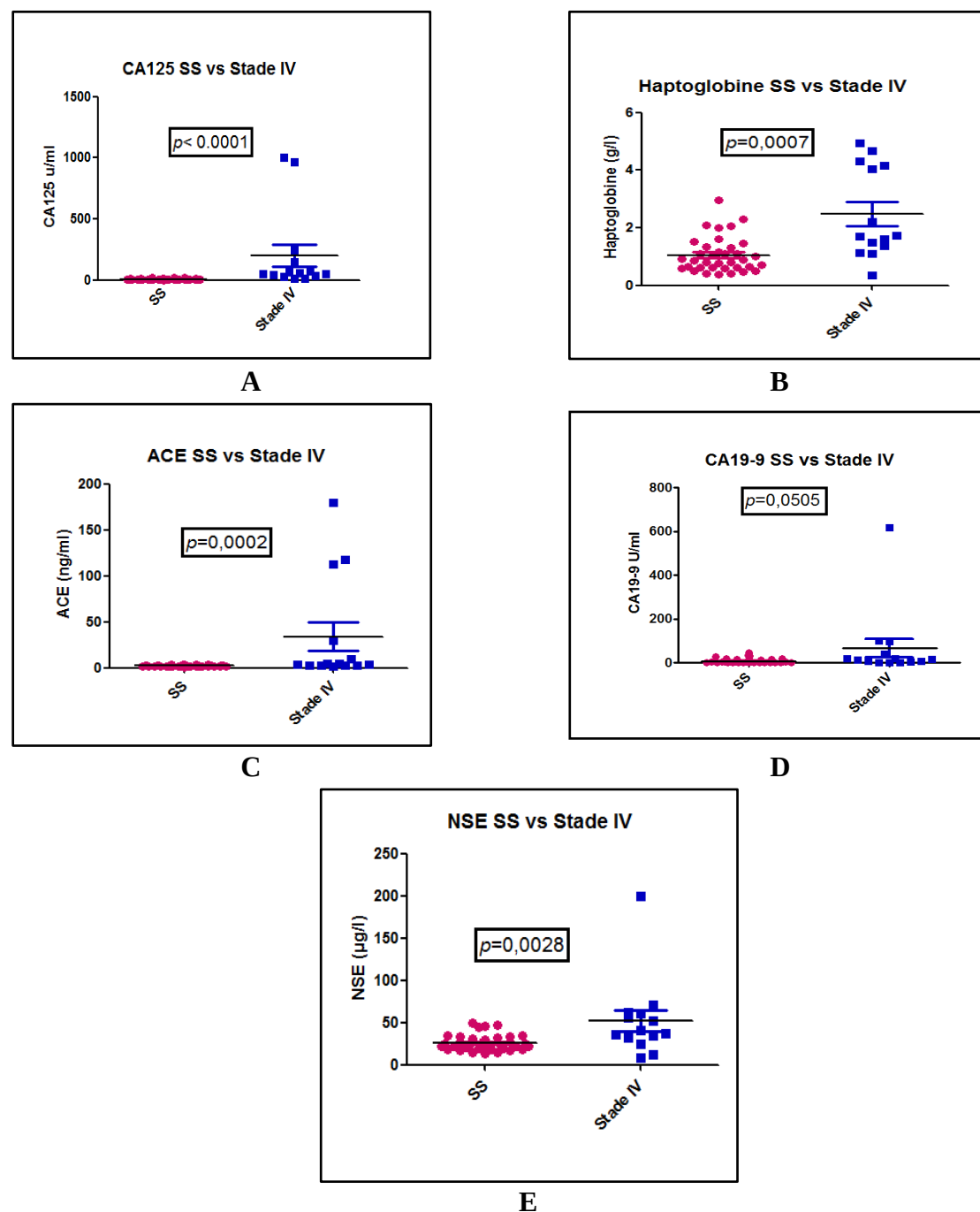
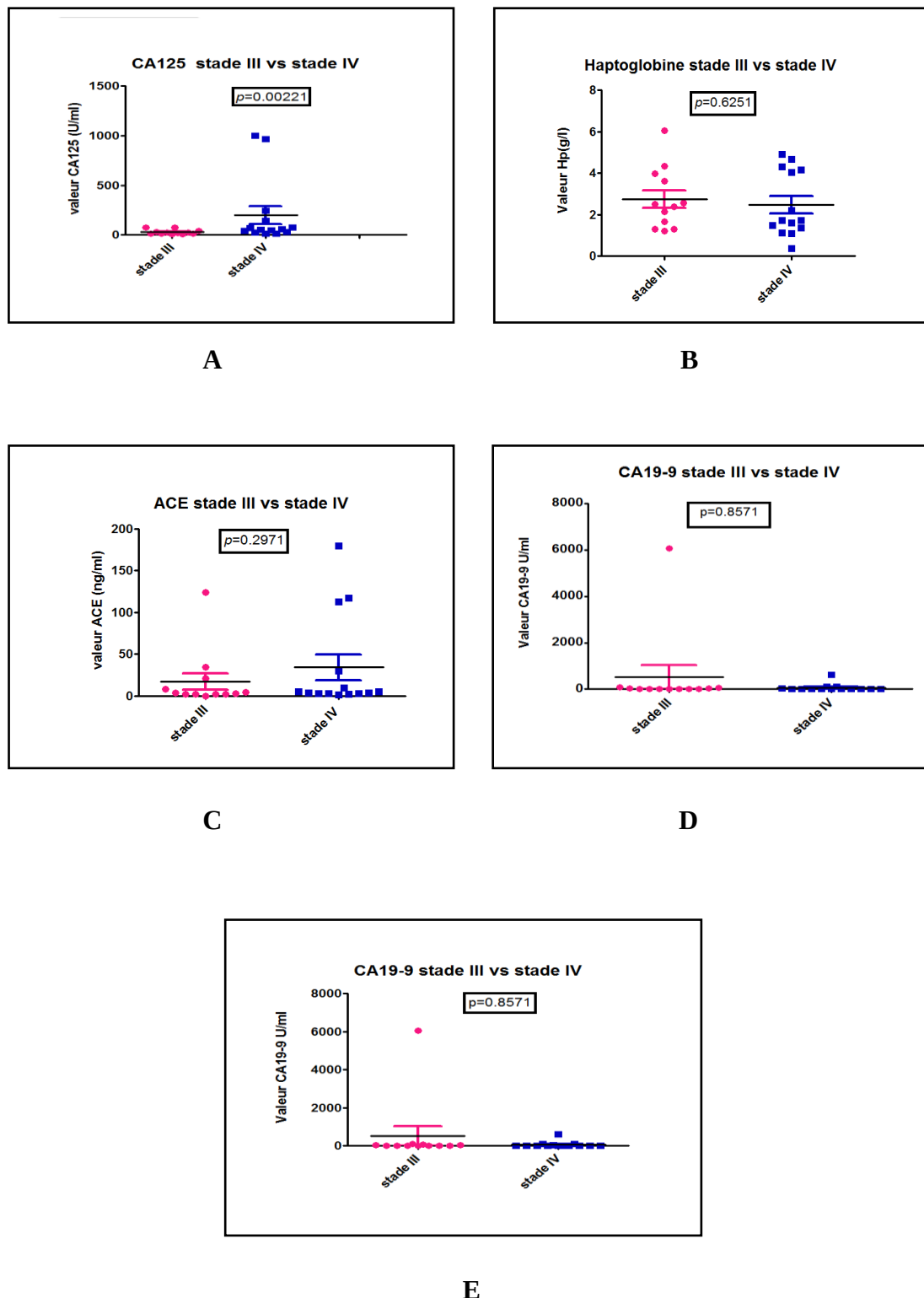


Figure 32: Représentation de la comparaison des taux moyens des marqueurs tumoraux dans le cancer du poumon (SS vs stade IV) : CA125 (A), Haptoglobine(B), ACE (C), CA19-9 (D) et NSE (E).



II.2.6. Comparaison des taux moyens des marqueurs tumoraux dans le cancer du poumon selon le statut fumeurs / non-fumeurs:

La comparaison des taux moyens des marqueurs tumoraux chez ces deux groupes de patients est représentée dans la figure 34 et le tableau 12. Aucune différence n'est observée entre les fumeurs et les non-fumeurs.

Tableau 12 : Comparaison des taux moyens des marqueurs tumoraux dans le cancer du poumon chez les fumeurs et les non-fumeurs

Marqueurs tumoraux	Fumeurs (n=23)	Non-fumeurs (n=7)	P value
CA125	255,52 ± 279,004	70,10 ± 78,80	0,5238 ‡ •
Haptoglobine	5,22 ± 1,54	1,86 ± 0,72	0,5238 ‡ •
ACE	567,89 ± 71,73	45,80 ± 72,43	0,3268 ‡ •
CA19-9	590,4 ± 1258,70	38,63 ± 44,08	0,6590 ‡ •
NSE	93,42 ± 40,29	43,48 ± 12,30	1,0000 ‡ •

(‡): Test Mann-whiteny ; $P < 0,05$ significatif (•)

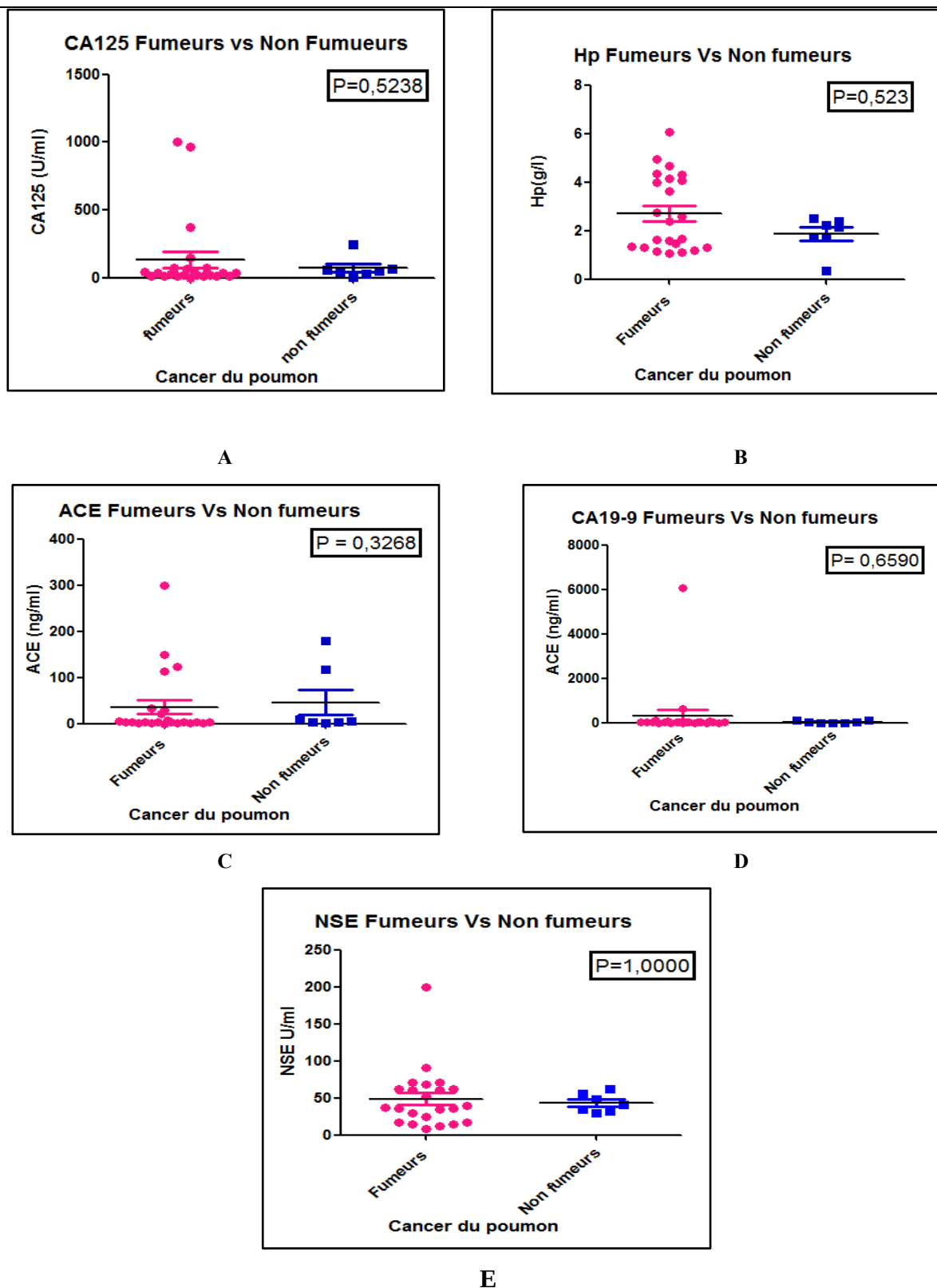


Figure 34: Représentation de la comparaison des taux moyens des marqueurs tumoraux dans le cancer du poumon (Fumeurs vs Non-fumeurs) : CA125 (A), Haptoglobine(B), ACE (C), CA19-9 (D) et NSE (E).

Conclusion & Perspectives

En Algérie et dans le monde, le cancer du poumon constitue un véritable problème de santé publique. Considéré comme la première cause de décès par cancer chez l'homme, l'accroissement de l'incidence de ce type de cancer est étroitement lié à l'augmentation de l'usage du tabac. La diminution de la mortalité et la morbidité de la maladie, repose sur un diagnostic plus précoce de ce cancer. Dans un tel contexte, nous nous sommes proposé d'évaluer l'intérêt du dosage sérique des marqueurs tumoraux (MT) ; CA125, NSE, ACE, CA19-9 et l'haptoglobine, seuls ou combinés, dans le diagnostic du cancer du poumon (CP).

Notre étude a montré que :

- Les marqueurs tumoraux CA125, ACE, CA19.9, NSE et l'Haptoglobine semblent être utiles au diagnostic du cancer du poumon. Cependant, la discrimination Cancer du poumon /pathologies pulmonaires bénignes n'est pas bonne.
- De plus, la combinaison des quatre marqueurs tumoraux : CA125+Hp+ACE+CA19-9 présente une bonne sensibilité (96,66 %) et spécificité (53,33%), nettement supérieure à celles d'un test unique.
- Enfin, Concernant les sous-types de CP : CA125 et l'ACE semblent être plus augmentés chez les patients ayant l'adénocarcinome (ADK), l'haptoglobine chez les patients ayant le carcinome épidermoïde.

A la lumière de ces résultats, nous proposons en perspective, de compléter ce travail par :

- ✓ L'étude ces marqueurs tumoraux sur une plus grande population. En effet, cela permettrait de vérifier les résultats retrouvés, d'avoir une plus grande représentation des différents sous-types de CP.
- ✓ Dosage de ces marqueurs tumoraux au niveau du liquide de lavage broncho-alvéolaire.
- ✓ Réalisation plusieurs dosages chez chaque patients à différents temps, afin d'en évaluer l'intérêt dans le pronostic et le suivi thérapeutique.
- ✓ Etude d'autres marqueurs tumoraux pouvant avoir un intérêt dans le diagnostic de cancer du poumon comme le cyfra-21.

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Pages
1	Tableau représente les volumes nécessaires pour le dosage du marqueur tumoral CEA	(34)
2	Tableau représente les volumes nécessaires pour le dosage du marqueur tumoral CA125	(34)
3	Tableau représente les volumes nécessaires pour le dosage du marqueur tumoral CA19-9	(34)
4	Les caractéristiques des patients atteints de cancer du poumon	(38)
5	Les caractéristiques des patients atteints de pathologies pulmonaires bénignes	(40)
6	Les caractéristiques des sujets sains.	(41)
7	Comparaison des taux moyens des marqueurs tumoraux entre les différents groupes : Cancer du Poumon (CP) versus Sujets Sains (SS) versus Pathologie Pulmonaires Bénignes (PPB).	(41)
8	Sensibilité et spécificité (%) des marqueurs tumoraux.	(43)
9	Sensibilité et spécificité des différentes combinaisons des marqueurs tumoraux.	(44)
10	Comparaison de la fréquence des sujets ayant des Marqueurs Tumoraux positif selon le type histologique du cancer du poumon.	(48)
11	Comparaison des taux moyens des marqueurs tumoraux dans le cancer du poumon selon le stade.	(42)
12	Comparaison des taux moyens des marqueurs tumoraux dans le cancer du poumon chez les fumeurs et les non-fumeurs.	(53)

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	L'appareil respiratoire.	(3)
Figure 2	Anatomie des poumons.	(4)
Figure 3	fréquence des cancers en Algérie : (homme)	(6)
Figure 4	Structure d'un épithélium bronchique.	(8)
Figure 5	Une desquamation importante de l'épithélium bronchique	(9)
Figure 6	Hypothèses actuelles concernant l'origine cellulaire des différents types histologiques de cancers bronchiques.	(9)
Figure 7	Schémas montrant le lien entre la nicotine et le cancer bronchique via l'effet des cancérigènes contenus dans le tabac et l'induction de multiples mutations génétiques.	(10)
Figure 8	Représentation schématique des différentes étapes de la carcinogenèse pulmonaire.	(11)
Figure 9	Cinétique des marqueurs tumoraux tracée en coordonnées semi-logarithmiques.	(18)
Figure 10	Représentation schématique du mécanisme potentiel de la réglementation des fonctions des cellules immunitaires Par l'Haptoglobine.	(26)
Figure 11	Centrifugeuse de modèle : ROTOFIX 32 A	(30)
Figure 12	Préparation du plasma et du sérum.	(30)
Figure 13	L'automate LIAISON Analyser	(31)
Figure 14	L'automate turbidimètre SPAPlus	(31)
Figure 15	Principe de dosage des marqueurs tumoraux par la technique de chimiluminescence	(33)
Figure 16	Racks échantillons	(34)
Figure 17	L'ordinateur de l'automate	(34)
Figure 18	Réactif CA19-9	(34)
Figure 19	Réactif CA125	(34)
Figure 20	Réactif CEA	(34)
Figure 21	Réactif NSE	(34)
Figure 22	Compartiment réactif de l'automate d'immunoanalyse	(34)

Figure 23	Principe de turbidimétrie	(35)
Figure 24	Courbe ROC pour un marqueur idéal ($AUC = 1$), marqueur intéressant ($AUC > 0.5$) et marqueur inintéressant ($AUC = 0.5$)	(37)
Figure 25	Répartition des patients atteints d'un cancer du poumon selon les types histologique	(39)
Figure 26	Répartition des patients atteints d'un cancer du poumon selon le stade.	(39)
Figure 27	Répartition des patients atteints d'une pathologie pulmonaire bénigne (PPB) selon le type de pathologie.	(40)
Figure 28	Comparaison des taux moyens des marqueurs tumoraux entre les différents groupes (CP, PPB, SS) : CA125(A), Haptoglobine(B), ACE(C), CA19-9 (D) et NSE(E).	(42)
Figure 29	Représentation de la courbe ROC (Receiver Operating Characteristic) des marqueurs tumoraux (CP vs SS) : CA125 (A), Haptoglobine(B), ACE (C), CA19-9 (D) et NSE (E).	(45)
Figure 30	Représentation de la courbe ROC (Receiver Operating Characteristic) des marqueurs tumoraux (CP vs PPB) : CA125(A), Haptoglobine (B), ACE (C), CA19-9 (D) et NSE (E).	(47)
Figure 31	Représentation de la comparaison des moyennes des marqueurs tumoraux dans le cancer du poumon (SS vs stade III) : CA125 (A), Haptoglobine(B), ACE (C), CA19-9 (D) et NSE (E).	(50)
Figure 32	Représentation de la comparaison des moyennes des marqueurs tumoraux dans le cancer du poumon (SS vs stade IV) : CA125 (A), Haptoglobine(B), ACE (C), CA19-9 (D) et NSE (E).	(51)

Figure 33	Représentation de la comparaison des moyennes des marqueurs tumoraux dans le cancer du poumon (stade III vs stade IV) : CA125 (A), Haptoglobine(B), ACE (C), CA19-9 (D) et NSE (E).	(52)
Figure 34	Représentation de la comparaison des moyennes des marqueurs tumoraux dans le cancer du poumon (Fumeurs vs Non-fumeurs) : CA125 (A), Haptoglobine(B), ACE (C), CA19-9 (D) et NSE (E).	(54)

Références Bibliographiques

- Alexandre, J. (2010). Du bon usage des marqueurs tumoraux sériques. Revue Francophone des Laboratoires.
- Ang, I. P. (2006). Study of Serum Haptoglobin and Its Glycoforms in the Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma: A Glycoproteomic Approach. Proteome Research , 5(10), 2691-2700.
- Arredouani, M, P. M. (2003). Haptoglobin directly affects T cells and suppresses T helper cell type 2 cytokine release. Immunology, 108, 144–151.
- BELFARHI, Leila. (2011). Les Effet de la Pollution Atmosphérique Sur Les Maladies Respiratoires à Annaba(Asthme)- Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister en physiopathologie cellulaire : Université Mentouri-Constantine ; 67p.
- Ben Aissa. N. Mach. (2012). Le cancer du poumon chez la femme est-il différent ?- Revu Med Suisse ; 8 : 1108-11.
- Bing Wang., Y.-J. H.-X.-N.-R. (2014). Clinical Utility of Haptoglobin in Combination with CEA, NSE and CYFRA21-1 for Diagnosis of Lung Cancer. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 15(22), 9611-9614.
- Buccheri G, Ferrigno D. (2004). Lung cancer: clinical presentation and specialist referral time. Eur Respir J; 24:898-904.
- Chenillot., O. (2000). CRP, Haptoglobine, Orosomucoïde :variations biologiques et valeurs de référence. thèse pour le diplome d'état de docteur en pharmacie, 5-125.
- C. Clément-Duchêne. (2013). Cancer bronchique (Lung cancer)- JOURNAL FRANCO-VIETNAMIEN DE PNEUMOLOGIE ; 04(12): 1-47.
- Christelle, CLÉMENT-DUCHÊNE. (2009). CANCER BRONCHIQUE ET FACTEURS DE RISQUE : EXISTE-T-IL DES MARQUEURS PHENOTYPIQUES SPECIFIQUES ? Docteur de l'Université Henri Poincaré- Nancy-I : université Nancy ; 1,5 ; 217p.
- Chater, Asma. (2013-2014). cancer broncho-pulmonaire et thérapeutique . thèse pour le doctorat en médecine : université Abou Baker Belkaid ; 129p.
- Daniel, Ben lahouès. (2013). Anatomie et physiologie de l'appareil respiratoire : université PARIS.
- DHOUHA, HAJ Mohamed. (2006). Dosage de cotinine urinaire : intérêt pour l'évaluation du statut tabagique- institut supérieur de biotechnologie en Monastir Tunis.

Références Bibliographiques

- Duffy.,M. J. B. (2005). CA125 in ovarian cancer: European Group on Tumor Markers guidelines for clinical use. *Int J Gynecol Cancer* 2005, 15, 679–691.
- Durairaj Mohan Kumar,. B. (2010). Proteomic Identification of Haptoglobin r2 as a Glioblastoma Serum. *Journal of Proteome Research*, 9, 5557–5567 5557.
- E.QUOIX, E. Lemarié. (2011). Epidémiologie du cancer bronchique primitif : aspects classiques et nouveautés- *Revue des Maladies Respiratoires* ; (28) ,1048-1058.
- Emilie BOUSQUET. (2011). Rôle de la GTPase RhoB dans l'oncogenèse pulmonaire-Cancérologie : l'Université Toulouse III - Paul Sabatier ; 12-197p.
- F. Lüthi, C. Monnerat. (2004). Cancer du poumon : portrait 2004- *Revu Med Suisse*.
- F. Barlesi1, P. Tomasini1, C. Fournier, L. Greillier. (2014). Présentation clinique et diagnostic du cancer bronchique- *Revue des Maladies Respiratoires Actualités* ; 6, 341-345.
- Gaillard,.O. (2003). Neuron-specific enolase (NSE). *Immuno-analyse & Biologie spécialisée* 18, 18, 138–139.
- Georgina Galicia and Jan,.L.Ceuppens. (2011, octobre). Haptoglobin Function and Regulation in Autoimmune Diseases. *Clinical Immunology Department, Leuven Belgium*, 229-245.
- Hai-Feng Qin,. L.L. Q.S.J. (2013). Serum CEA Level Change and Its Significance Before and after Gefitinib Therapy on Patients with Advanced Non-small Cell Lung Cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14(7), 4205-4208.
- Hansen,. M. (2015). Serum tumour markers in lung cancer. *Scand J Clin Lab Invest Downloaded*, 93-100.
- Heron,.J.F. (2003, 19 12). Les marqueurs tumoraux. *Cancérologie générale*.
- Higa,. Y. O. (1981). Catabolism of Globin-Haptoglobin in Liver Cells after Intravenous Administration of Hemoglobin-Haptoglobin to Rats. *thej ournalo f biologicalc hemistry .*, 256(23), 12322-12328.
- Hyun Joo Lee,.Y. T. (2012, February). A novel detection method of non–small cell lung cancer using multiplexed bead-based serum biomarker

Références Bibliographiques

- profiling. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 143(2), 421-427.
- **Indranath Ghosh,.D. (2013). Diagnostic Role of Tumour Markers CEA, CA15-3, CA19-9 and CA125 in Lung Cancer. *Ind J Clin Biochem*, 28(1), 24–29.**
 - **Jayle,.Owen, A. F. (1960). A simple method for the determination of clin. path., 13, 163-164.**
 - **Jeanine D’Armiento,. S. S. (1997). Tissue, temporal and inducible expression pattern of haptoglobin in mice. *Gene*, 195, 19-27.**
 - **Johanna, GALMÈS. (2013). Isolement et caractérisation de nouvelles espèces de Torque Teno Mini Virus (TTMV) : implication potentielle dans la pathogenèse de la pneumonie. Sciences de la vie- Préparée au Laboratoire des Pathogènes Émergents de la Fondation Mérieux- Docteur de l’Université de Lyon, délivré par l’École Normale Supérieure de Lyon ; 179p.**
 -
 - **Katnik,. I. G. (1996). An improved ELISA for the determination of sialyl Lewis structures on purified glycoconjugates. *Glycoconjugate Journal*, 13(06), 1043-1047.**
 - **Kerbrat,. P. (2005). Que faire des marqueurs tumoraux.**
 - **Ken André OLAUSSEN. (2006). Contribution à l’étude de marqueurs de la carcinogenèse bronchique et analyse de facteurs prédictifs du bénéfice de la chimiothérapie- DOCTEUR DE L’UNIVERSITE PARIS XI- UNIVERSITÉ PARIS XI ; 11p.**
 - **Kino,.K. T. (1980). Hemoglobin-Haptoglobin Receptor in Rat Liver Plasma Membr. *biological chemistry*, 225(20), 9616-9620.**
 - **Kushner, I. (1982). The phenomenon of the acute phase response. *Ann. N.Y. Acad*, 39-48.**
 - **Kymberley Carter, M. W. (2007). Haptoglobin: a review of the major allele frequencies worldwide and their association with diseases. *Journal compilation 2007 Blackwell Publishing Ltd, Int. Jnl. Lab. Hem.* 2007, 92, 92–110.**
 - **Marie-Pierre WISSLER. (2012).bilan de l’analyse du statut Mutationnel EGFR de 1000 patients atteints d’adénocarcinomes pulmonaires pris en charge par la Plateforme d’oncologie moléculaire- DOCTEUR EN MÉDECINE- Du CHU-CAV de NANCY : UNIVERSITÉ DE LORRAINE,135p.**

Références Bibliographiques

- **Mario, Orozco-Morales., Giovanni, Soca-Chafre., Pedro, Barrios-Bernal., Norma, Hernández-Pedro., Oscar, Arrieta. (2016). Interplay between Cellular and Molecular Inflammatory Mediators in Lung Cancer-Experimental Oncology Laboratory, National Cancer Institute of Mexico (INCan), Thoracic Oncology Unit, National Cancer Institute of Mexico (INCan), Article ID 3494608, 11 pages.**
- **Maxime DENOTTE. (2009). L'UTILISATION DE LA THERAPIE CIBLEE DANS LES CANCERS BRONCHIQUES-le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie : UNIVERSITE HENRI POINCARÉ - NANCY 1 ; 20p.**
- **Madiève, G. P. (2007). Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-érythrocytaire sur le globule rouge. thèse Pour obtenir le grade de Docteur de l'Université Louis Pasteur Spécialité : Biochimie, 6-274.**
- **Mahdi Abdullaha,. H. D. (2009). Expression of the acute phase protein haptoglobin in human lung cancer and tumor-free lung tissues. Pathology–Research and Practice, 205, 639–647.**
- **Mann,.A. R. (1994). Monosaccharide composition of haptoglobin in liver diseases and alcohol abuse:large changes in glycosylation associated with alcoholic liver disease. Clinica Chimica Acta 227 , 69-78.**
- **Maria Antonietta Isgr,.P. B. (2015). Neurone Specific Enolase as a biomarker:biochemical and clinical aspects. Springer Science and Business Media Dordrecht.**
- **Maria.Cid.C, D. S. (1993, March). Identification of Haptoglobin as an Angiogenic Factor in Sera from Patients with Systemic Vasculitis. The Journal of Clinical Investigation, Inc., 91, 977-985.**
- **Mette Kristiansen, J. H.-J. (2001, January 11). Identification of the haemoglobin scavenger receptor. Nature , 409, 198-201.**
- **Michel R. Langlois, M.-E. M. (2000). The Haptoglobin 2-2 Phenotype Affects Serum Markers of Iron Status in Healthy Males. Clinical Chemistry , 46(10), 1619–1625.**

Références Bibliographiques

- Minkyu Jung, S. H. (2011). Prognostic and predictive value of CEA and CYFRA 21-1 levels in advanced non-small cell lung cancer patients treated with gefitinib or erlotinib. *experimental and therapeutic medicine*, 2, 685-693.
- Mirjam B. Smeets, J. F. (2003). The acute phase protein haptoglobin is locally expressed in arthritic and oncological tissues. *Int. J. Exp. Path.*, 84, 69–74.
- Moreau, Dimitri. (2006). Étude de nouvelles cibles moléculaires de cancer broncho-pulmonaire non à petites cellules pharmacomodulées par des substances originales naturelles et synthétiques- Sciences de la Vie et de la Santé- ÉCOLE DOCTORALE CHIMIE-BIOLOGIE: UNIVERSITÉ DE NANTES, 321p.
- M. Locatelli-Sanchez¹, S. Couraud¹, P.J. Souquet. (2015). Épidémiologie du cancer bronchique : données actuelles- *Revue des Maladies Respiratoires Actualités* ; 7, 285-289.
- Okkes IM, Oskam SK, Lamberts H. (2002). The probability of specific diagnoses for patients presenting with common symptoms to Dutch Family physicians. *J Fam Pract* ; 51:31-36.
- Pages.P, P. B. (1998). Marqueurs Tumoraux du cancer du pancrea. *Encyclopédie Médico Chirurgicale, Hépatologie* , 106, 1-6.
- Panter, S. S. (1985 , April). Hypohaptoglobinemia associated with familial epilepsy. *j. exp. med*, 161(4), 748-754.
- Patel AM, Peters SG. (1993). Clinical manifestations of lung cancer. *Mayo Clin Proc*; 68:273-277.
- Phelip JM, C. L. (2013). Les marqueurs sanguins tumoraux en cancerologie digestive. . *Hepato Gastro*, 641-648.
- Philippe SCHEID. (2002). ANOMALIES GENIQUES DE L'EPITHELIUM RESPIRATOIRE : APPLICATIONS DANS LA CARCINOGENESE BRONCHIQUE ET LA MUCOVISCIDOSE- DOCTEUR DE L'UNIVERSITE HENRI POINCARÉ : UNIVERSITE HENRI POINCARÉ, NANCY 1 ; 18p.
- Pierrick, H. (2015). Marqueurs tumoraux: définition,indication,dosage.
- Quaye.K, I. (2008). Haptoglobin, inflammation and disease. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 102, 735—742.

Références Bibliographiques

- Raynes.J.G, S. E. (1991). Acute-phase protein synthesis in human hepatoma cells:differential regulation of serum amyloid A (SAA) and haptoglobin by interleukin-1 and interleukin-6. Clin. exp. Immunol., 83, 448-491.
 - Riedinger, j. -M. (2005). les marqueurs tumoraux sériques des tumeurs solides . chaier de formation , bioformat.
 - Robert C. Bast, J. M. (1983). Epithelial Ovarien Cancer. the New England Journal Of Medecine, 309(15), 883-887.
 - S. Peters, D.C. Betticher.(2009). Rôle de l'EGFR dans le cancer pulmonaire non à petites cellules- Revu Med Suisse ; 5 : 1096-101.
 - Sai-Kiang Lim., H. K. (2016, September 5). Increased Susceptibility in Hp Knockout Mice During Acute Hemolysis. Blood,, 92(6), 1870-1877.
 - Sarivalasis, A., Amram, M.-L., & Dietrich, P.-Y. (2013). Marqueurs tumoraux :quelle utilité en pratique clinique ? Revue Médicale Suisse –, 1102-1107.
 - Schillinger, S. (2011). Les marqueurs tumoraux (MT).
- Sung-Min Kang. (2011). The Haptoglobin b chain as a supportive biomarker for human lung. Mol. BioSyst., 7, 1167–1175.
- Thompson.S, E. D. (1992). Increased fucosylation and other carbohydrate changes in haptoglobin in ovarian cancer. Cancer Letters, 66, 43-48.
 - Timothy J. O'Brien, J. B. (2001). The CA 125 Gene: An ExtracellularSuper structure Dominated by Repeat Sequences. Tumor Biol, 22, Tumor Biol 2001;22:348–366.
 - Tjasa Vizin, J. K. (2015). Gamma-enolase: a well-known tumour marker, with a less-known role in cancer. Radiol Oncol 2015;, 49(3), 217-226.
 - Urban, N. S. (2007). CA125 in Ovarian Cancer. Biomark Med. 2007 December ; 1(4);, 1(4), 513–523.
 - Van Vlierberghea. H, ,. M. (2004, February 3). Haptoglobin polymorphisms and iron homeostasis in health and in disease. Clinica Chimica Acta, 345, 35–42.
 - Wen-Jing Wang, Z. T.-H. (2013). Clinical Observations on the Association Between Diagnosis of Lung Cancer and Serum Tumor Markers in Combination. Asian Pac J Cancer Prev , 14 (7), 4369-4371.

Références Bibliographiques

- **William.Friedrichs.E, A. L. (1995). Expression and Inflammatory Regulation of Haptoglobine Gene in Adipocytes. Biochimical and Biophysical Research communication, 209(1), 250-256.**
- **LI,X.T.A. (2012). Biomarkers in the Lung Cancer Diagnosis: A Clinical Perspective. Neoplasma 5 , 59 (5).**
- **Xin Li, J. L. F. (2012, septembre). Combining multiple serum biomarkers in tumor diagnosis: A clinical assessment. 23, : 153-160.**
- **YOUNES Mohamad. (2012). Etude des relations entre les mutations EGFR/KRAS et les altérations de la voie p53/p14ARF et caractérisation d'une nouvelle cible thérapeutique, le complexe neurotensine et son récepteur1, dans les cancers bronchiques non à petites cellules : THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE ; 20-253 p.**
- **Yue Can Zeng, R. W.L.S.L.C.Z.N.D.H.P. (2014, june 10). Serum CA125 level predicts prognosis in patients with multiple brain metastases from non-small cell lung cancer before and after treatment of whole-brain radiotherapy. Medecine Oncologie, 31(48), 43-48.**

(Boite de réactif, SPAPlus) ; (boite de réactif, LIASON).

Annexe 1

Classification OMS (2015) des Tumeurs du poumon

Classification OMS 2015

Tumeurs épithéliales

Adénocarcinomes

- Lepidic
- Acinaire
- Papillaire
- Micropapillaire
- Solide
- Mucineux invasif
 - o Invasif mixte mucineux et non mucineux
- Colloïde
- Fetal
- Entérique
- Adénocarcinomes à invasion minime
 - o Non mucineux
 - o mucineux
- Lésions préinvasives
 - o Hyperplasie atypique adénomateuse
 - o Adénocarcinome in situ
 - Non mucineux
 - Mucineux

Carcinomes épidermoïdes

- Kératinisant
- Non kératinisant
- Basaloïde
 - o Lésions préinvasives : Carcinome épidermoïde in situ

Tumeurs Neuroendocrines

- Carcinomes à petites cellules
 - o Carcinomes à petites cellules combiné
- Carcinome neuroendocrine à grandes cellules
 - o Carcinome neuroendocrine à grandes cellules combiné
- Carcinoïdes
 - o Carcinoïde typique
 - o Carcinoïde atypique
 - o Lésions préinvasives : Hyperplasie neuroendocrine diffuse idiopathique

Carcinomes à grandes cellules

Carcinomes adénosquameux

Carcinome pléomorphe

Carcinome à cellules fusiformes

Carcinome à cellules géantes

Carcinosarcome

Blastome pulmonaire

Autres carcinomes non classés

- Carcinome lymphoépithélioma-like
- Carcinomes NUT

Tumeurs de type glandes salivaires

- Carcinome mucoépidermoïde
- Carcinome adénoïde kystique
- Carcinome épithélial-myoépithélial
- Adénome pléomorphe

Papillomes

- Papillome épidermoïde
 - o Exophytique
 - o Inversé
- Papillome glandulaire
- Papillome mixte épidermoïde et glandulaire

Adénomes

- Pneumocytome sclérosant
- Adénome alvéolaire
- Adénome papillaire cystadénome mucineux
- Adénome des glandes muqueuses

Tumeurs mésenchymateuses

- Hamartome pulmonaire
- Chondrome
- Tumeurs pécomateuses
 - o Lymphangioliomyomatosis
 - o PEComa : tumeur bénigne à cellules claires
 - o PEComa , tumeur maligne
- Tumeur myofibroblastique peribronchique congénitale
- Lymphangiomatose pulmonaire diffuse
- Tumeur myofibroblastique inflammatoire
- Hémangioendothéliome épithélioïde
- Blastome pleuropulmonaire
- Sarcome synovial
- Sarcome de l'intima de l'artère pulmonaire
- Sarcome pulmonaire myxoïde avec translocation EWSR1 – CREB1
- Tumeurs myoépithéliales
 - o Myoépithéliale
 - o Carcinome myoépithéliale

Tumeurs lymphohistiocytiques

- Lymphome extra-ganglionnaire de la zone marginale du tissu lymphoïde associé aux muqueuses (Lymphome MALT)
- Lymphome B diffus à grandes cellules
- Granulomatose lymphomatoïde
- Lymphome intra vasculaire à grandes cellules B
- Histiocytose Langerhansienne pulmonaire
- Maladie d'Erdheim-Chester

Tumeurs d'origine ectopique

- Tumeurs à cellules germinales
 - o Teratome mature
 - o Teratome immature
- Thymome intra-pulmonaire
- Mélanome
- Méningiome NOS

Annexe 2



Figure 11:centrifugeuse de modèle : ROTOFIX 32 A

Annexe 3

Formulaire d'information et de consentement (version arabe etfrançais)

1. Version français

Université de Blida -1-

Formulaire d'information et de consentement

Thème de l'étude :

Apport de dosage des marqueurs tumoraux NSE, ACE, CA125, CA19.9 et Haptoglobine dans le diagnostic du cancer du poumon.

1) Identification

Chercheur : ZAABAT.N

Co-chercheur : MELZI.A

Directeur de recherche : DJEDDOU Djamila / CHABANE Chahrazed

Programme d'enseignement: mémoire de fin d'étude en Master II

L'adresse e-mail :

Numéro de téléphone :

Lieu de réalisation de cette étude : Institut Pasteur Algérie (IPA)

2) Renseignement au participant

Vous êtes invité(e) à participer de façon volontaire à une étude. Avant d'accepter d'y participer, il est important de lire ce formulaire qui en décrit l'objectif et les modalités pratiques. Vous avez le droit de poser à tout moment des questions en rapport avec cette étude.

3) Objectif de la recherche

Ce projet est réalisé dans le cadre d'un mémoire de maîtrise sur la direction de l'université BLIDA 1, le chef du département des sciences de la nature et de la vie, faculté de la biologie et physiologie cellulaire (BPC).

- Evaluer l'intérêt des marqueurs tumoraux Neuron Spécifique Enolase (NSE); Carcino-Embryonic Antigène (CEA) ; haptoglobine (Hp) ; carbohydate-antigen 19-9 (CA19-9), isolés et combinés dans le diagnostic du cancer du poumon.
- Evaluer l'utilité de l'haptoglobine en tant que biomarqueur dans le cancer du poumon.
- Evaluer l'intérêt de ces marqueurs dans le diagnostic différentiel des types de cancers pulmonaires.

4) Participation à la recherche :

Votre participation à notre projet de mémoire de fin d'étude qui sera réalisé au laboratoire d'immunochimie et neuro-immunologie, Département immunologie à l'institut pasteur d'Algérie dont votre liquide biologique nous permettra de doser ces différents marqueurs tumoraux en utilisant la technique de chimiluminescence et laturbidimétrie , durant la période de mars à mai 2016, et mis en disposition la fiche de renseignement (ensemble de questions).

5) Avantages et inconvénients :

En participant à cette recherche, vous ne courez pas de risques ou d'inconvénients particuliers. En participant à cette recherche, vous pourrez contribuer à l'avancement des connaissances sur le diagnostic du cancer du poumon. Vous pourrez également mieux vous connaître.

6) Droit de retrait :

Votre participation est entièrement volontaire. Vous êtes libre de vous retirer en tout temps par avis verbal, sans préjudice et sans devoir justifier votre décision. Si vous décidez de vous retirer de la recherche, vous pouvez communiquer avec le chercheur, au numéro de téléphone indiqué à la dernière page de ce document. Si vous vous retirez de la recherche, les renseignements personnels et les données de recherche vous concernant et qui auront été recueillis au moment de votre retrait seront détruits.

7) Remerciements :

Votre collaboration est importante à la réalisation de ce projet et nous tenons à vous en remercier.

8) Consentement :

Je reconnais avoir lu le présent formulaire de consentement et consens volontairement à participer à ce projet de recherche .je reconnais aussi que le responsable du projet a répondu à mes questions de manière satisfaisante et que j'ai disposé suffisamment de temps pour réfléchir à ma décision de participer.je comprends que ma participation à cette recherche est totalement volontaire et que je peux mettre fin en tout temps, sans pénalité d'aucune forme, ni justification à donner. Il me d'en informer le responsable du projet.

Signature du participant : Date : Nom (lettres moulées) et coordonnées :

Je déclare avoir expliqué le but, la nature, les avantages, les risques du projet et avoir répondu au meilleur de ma connaissance aux questions posées.

Signature du responsable du projet : Date : Nom (lettres moulées) et coordonnées :

Pour toute question relative à la recherche, ou pour vous retirer de la recherche, vous pouvez communiquer

Avec :

Au numéro de téléphone suivant :

Ou à l'adresse de courriel suivante :

2. Version arabe

جامعة البليدة - 1-

نموذج موافقة للمشاركة في دراسة البحث

عنوان الدراسة

فائدة علامات الورم في تشخيص سرطان الرئة

1- الباحثان الرئيسيان رقم 1: Dr. ZAABAT et Dr. MELZI

الهاتف والبريد الإلكتروني:

الباحثتان الرئيسيتان رقم 2: الطالبة CHABANE Chahrazed والطالبة DJEDDOU Djamilia

الهاتف والبريد الإلكتروني:

البرنامج التعليمي: Mémoire de fin d'étude- Master II-

الموقع حيث سيتم إجراء الدراسة: معهد باستور بالجزائر - قسم المناعة-

2- معلومات إلى المشارك:

هذا المشروع هو جزء من أطروحة الماجستير تحت إشراف الجامعة البليدة 1، رئيس قسم علوم الطبيعة والحياة، كلية البيولوجيا والفيزيولوجيا الخلوية.

3- لماذا يُطلب منك أن تشارك في هذه الدراسة؟

يرجى قراءة هذه المعلومات بعناية: يُطلب منك أن تتبرع بدمك وبسائل غسل القصبات (إن وجد)؛ سوف تسمح لنا جرعة مختلف علامات الورم باستخدام تقنية chimiluminescence و تقنية turbidimétrie هذه العينات البيولوجية سوف تتحقق في مخبر كيمياء المناعة وعلم المناعة العصبية، في قسم المناعة في معهد باستور بالجزائر ؛ و سنتيح لك وثيقة معلومات (مجموعة من الأسئلة).

يمكنك ان تطلب المزيد من التوضيح أو المعلومات بشأن هذه الدراسة من الباحث الرئيسي أو شركائه الباحثين.

4- لماذا يجري هذا البحث؟

إن الغرض من هذه الدراسة هي :

- * تقييم قيمة علامات الورم هابتوغلوبين NSE ؛ CEA ؛ CA19-9 ، معزولة او جنباً إلى جنب في تشخيص سرطان الرئة.
- * تقييم هذه العلامات في التشخيص التفريقي من أنواع فرعية من سرطان الرئة.
- * تقييم استعمال الهابتوغلوبين كإحدى علامات سرطان الرئة.

5- إلى متى ستستمر هذه الدراسة؟

سوف تستمر الدراسة خلال الفترة من مارس حتى مايو عام 2016.

6- ما هي الفوائد المحتملة إذا كنت تشارك في الدراسة؟

إن المعلومات التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة سوف تساهم في تقدم المعرفة على تشخيص سرطان الرئة..

7- ما هي المخاطر المحتملة والايجابيات إذا كنت تشارك في الدراسة؟

من خلال المشاركة في هذا البحث، لا يوجد أي خطر أو ضرر أو السلبيات الخاصة.

شكر:تعاونكم مهم في تحقيق هذا المشروع ومشكورين.

8- المشاركة الطوعية / الانسحاب

ان المشاركة طوعية تماماً. يمكنك سحب موافقتك في أي وقت. إذا اخترت عدم مشاركتك في الدراسة أو انسحابك في وقت لاحق من هذه الدراسة، سوف لن تتأثر الرعاية الطبية التي يتلقاها او تتغير بأي شكل من الأشكال. إذا كنت ترغب في سحب من الدراسة، يمكنك الاتصال بالدكتور المشرف :.. يجوز للباحثين ان يقرروا وقف مشاركتك في هذه الدراسة دون الحصول على إذنك إذا شعروا أنها قد تكون سيئة لك.

9- بمن سيتم الاتصال للحصول على أجوبة على أسئلتك ومخاوفك وشكواك؟

إذا كان لديك أي أسئلة ، مخاوف أو شكاوى، إذا كان لديك أي أسئلة حول حقوقك أو مصلحتك كمشارك في هذا المشروع، يرجى الاتصال بالباحث الرئيسي للدراسة، والمدرجة على الصفحة الأولى من هذه موافقة للاستفهام حول حقوق كمشارك في البحث أو مشاركتك في هذه الدراسة.

إذا كان لديك أي أسئلة بخصوص هذه الدراسة، يرجى الاتصال بأي من الأطباء المدرجة أسماءهم على الصفحة الأولى من وثيقة الموافقة المستنيرة هذه.

10- الموافقة على المشاركة في الدراسة

لقد قرأت الوصف أعلاه من هذه الدراسة. وقد تمت الإجابة على جميع أسئلتي. وأنا أعلم أنه يمكنني أن أرفض مشاركتي أو الانسحاب من الدراسة في أي وقت. أعطي موافقتي بحرية على مشاركتي في هذه الدراسة. أنا أفهم أنه من خلال التوقيع على هذا النموذج قد أوافق على مشاركتي في الدراسة. وقد تلقيت نسخة من هذا النموذج لأخذها معي.

اسم المريض توقيع المريض التاريخ

11- بيان موافقة الشخص الحاصل على الموافقة

أشهد بأنه تم الشرح للمريض بشكل كامل ومناسب عن طبيعة الدراسة البحثية المذكورة أعلاه وقد قدمت الاجابة على أي سؤال كان لديه.

توقيع الباحث الرئيسي/المعين التاريخ

Annexe 4:

La fiche de renseignement pour les sujets cancéreux

La fiche de renseignement

➤ **Renseignements administratifs :**

- Nom :
- Prénom :
- la date de naissance/Age : / /
- Sexe : H ☐ F ☐
- Profession :
- Adresse :
- Originaire de :
- Tél :
- e-mail :

➤ **Renseignements cliniques :**

- Symptômes :
 - Toux ☐ Perte de poids ☐ Dyspnée ☐
 - Douleur thoracique ☐ Hémoptysie ☐ Fièvre ☐
 - Asymptomatique ☐
 - Autres :
- Depuis :
- Diagnostic :
- Histologie :
 - ✓ Cancer pulmonaire à petite cellule (CBPC) ☐
 - ✓ Cancer pulmonaire non à petite cellule (CBNPC) : ☐
 - cancer épidermoïde ☐

ANNEXE

- adénocarcinome ☐
- cancer à grandes cellules. ☐

- Le stade du cancer broncho-pulmonaire

Précoce (I et II) ☐ localement avancé (III) ☐ Métastatique (IV) ☐

- Antécédents personnels/ Facteurs de risque :

- Maladie pulmonaire

chronique :

- Tabagisme : Non ☐ Oui ☐ Nombre de cigarettes/J :

Entourage immédiat : Non ☐ Oui ☐

.....

- Facteur de risque

professionnel :

- Antécédents de cancer:

Poumon.....

.....

Autre :

.....

- Antécédents familiaux :

- Cas de Cancer du poumon : Non ☐ Oui ☐

Lien de parenté :

- Autre : Non : ☐ Oui ☐ Lequel :

Lien de parenté.....

- Traitement:

Chirurgie Préciser.....☐ radiothérapie ☐ traitements médicaux
(chimiothérapie et thérapies ciblées). ☐

- Echantillon recueilli : Sang : Oui ☐ Non ☐

Liquide de lavage broncho-alvéolaire : Oui ☐ Non ☐

ANNEXE

- La date de prélèvement et l'heure de prélèvement/...../.....
àh.
- L'heure de centrifugation : àh.
- Remarque Particuliers :
 - Aspect de prélèvement :
 - Quantité insuffisante :
 - Type de prélèvement :
 - **Résultat de dosage :**
Chaque paramètre :
 - NSE :
 - Haptoglobine :
 - CA19-9 :
 - ACE :

Fiche de renseignements pour les patients atteints de pathologie pulmonaire bénigne

Fiche de renseignements

➤ **Renseignements administratifs :**

- Nom :
- Prénom:
- La date de naissance/Âge : / /
- Sexe : F ☐ H ☐
- Profession :
- Adresse :
- Origine de :
- Tél :

➤ **Renseignements cliniques :**

- Le type de pathologie pulmonaire:

Tuberculeuse ☐ asthme ☐ bronchite chronique ☐

BPCO ☐ fibrose pulmonaire ☐ sarcoïdose ☐

Pneumopathie interstitielle ☐

Autres :

- Les signes associés :
- Depuis :
- Diagnostic :
- Type du traitement :

ANNEXE

- La durée:/...../..... .

- Antécédents :

➤ Épidémiologiques :

- Cicatrice BCG :.....
- Notion de contagement tuberculeux :.....

- Familiaux : cancer de poumon Oui ☐ Non ☐

- Lien parental :

- Autres :.....

➤ Toxique :

- Personnels/ Facteurs de risque :

- Tabagisme : Non ☐ Oui ☐ Nombre de cigarettes/ jour :
.....

- Entourage immédiat : Non ☐ Oui ☐
.....

➤ Médicaux :.....

➤ Chirurgicaux :.....

- Echantillon recueilli : Sang : Oui ☐ Non ☐

Liquide de lavage broncho-alvéolaire : Oui ☐ Non ☐

- La date de prélèvement et l'heure de prélèvement/...../.....
àh.

- L'heure de centrifugation : àh.

➤ Remarque Particuliers :

- Aspect de prélèvement :
- Quantité insuffisante :
- Type de prélèvement :

➤ **Résultat de dosage :** Chaque paramètre :

- NSE :

ANNEXE

- Haptoglobine :
- CA19-9 :
- ACE :

Annexe 6:



Figure 13: l'automate LIAISON Analyser

Annexe 7 :



Figure 14 : l'automate turbidimètre SPAplus

Annexe 8



Figure 16: racks échantillons



Figure 17: l'ordinateur de l'automate

Annexe 9



Figure 18: réactif CA19-9



Figure 19 : réactif CA125



Figure 20: réactif CEA



Figure 21 : réactif NSE

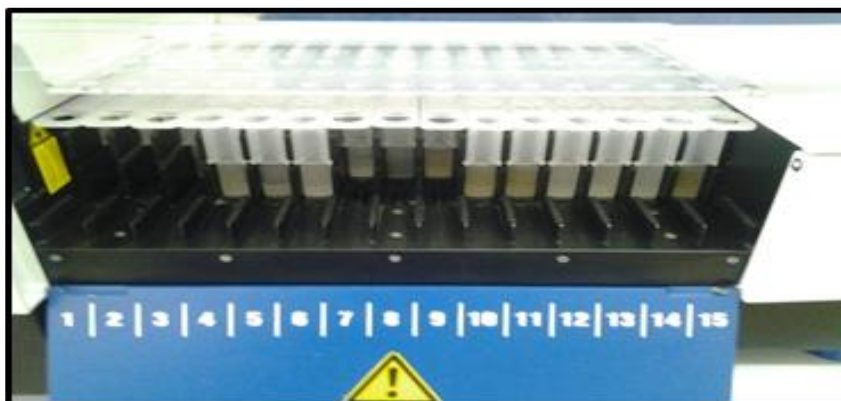


Figure 22: compartiment réactif de l'automate d'immunoanalyse

Tableau 1: tableau représente les volumes nécessaires pour le dosage du marqueur tumoral ACE

	50	µL	Étalon, échantillon ou des contrôles
+	270	µL	Tampon A
+	20	µL	Particules magnétiques revêtues
	10	min	Incubation suivie d'un cycle de lavage
+	100	µL	Conjugué
	10	min	Incubation suivie d'un cycle de lavage
	3	s	Mesure de la luminescence

Tableau 2: tableau représente les volumes nécessaires pour le dosage du marqueur tumoral CA125

	100	µL	Étalon, échantillon ou des contrôles
+	100	µL	Tampon A
+	20	µL	Particules magnétiques revêtues
	10	min	Incubation suivie d'un cycle de lavage
+	200	µL	Conjugué
	10	min	Incubation suivie d'un cycle de lavage
	3	s	Mesure de la luminescence

Tableau 3 : tableau représente les volumes nécessaires pour le dosage du marqueur tumoral CA19-9

	100	µL	Étalon, échantillon ou des contrôles
+	100	µL	Tampon 1
+	20	µL	Particules magnétiques revêtues
	10	min	Incubation suivie d'un cycle de lavage
+	170	µL	Tampon 2
+	30	µL	Conjugué
	10	min	Incubation suivie d'un cycle de lavage
	3	s	Mesure de la luminescence

Annexe 10

Sensibilité et spécificité

a. Sensibilité :

La sensibilité d'un test est déterminée sur une population de patients dont on sait qu'elle est porteuse de la maladie M parce qu'elle a subi un test de référence. Elle est définie par la proportion (%) de patients qui ont la maladie recherché et dont le test est positif, en d'autres termes par la proportion de patients malades de la maladie M que le test détecte correctement (vrais positifs). Par opposition, la proportion de patients porteurs de la maladie M que le test n'a pas identifiés des résultats faussement négatifs.

b. Spécificité :

La spécificité d'un test est déterminée sur une population de patients dont on sait qu'elle n'est pas porteuse de la maladie M parce qu'elle a subi un test de référence. Elle est définie par la proportion (%) de patients qui n'ont pas la maladie recherchée et dont le test est négatif, en d'autres termes par la proportion de patients non malades

de la maladie M que le test détermine correctement (vrais négatifs). par opposition, la proportion de patients non porteurs de la maladie M chez qui le test est positif sont des résultats faussement positifs.

- c. **Valeur prédictive positive (VPP)** est la probabilité positive que le patient, dont le test est positif, soit effectivement malade. $VPP = Vp / (Vp + Fp)$
- d. **Valeur prédictive négative (VPN)** est la probabilité négative que le patient, dont le test est négatif, ne soit pas malade. $VPN = Vn / (Vn + Vp)$

Annexe 11

La courbe ROC

Un outil graphique permettant de présenter la capacité d'un test à discriminer entre la population des malades et des non-malades : la courbe de Receiver operating characteristic ou ROC.

La courbe ROC représente en ordonnée la proportion de tests positifs parmi la population malades (la sensibilité) en fonction de la proportion de tests positifs parmi la population non-malade. (Complément de la spécificité ou -1spécificité, en abscisse), pour toutes les valeurs-seuil envisageables du test. Pour un test qui discriminerait parfaitement entre malades et non malades, il est possible de trouver une valeur seuil ayant une sensibilité et spécificité de 100%, qui correspond au coin supérieur gauche du graphique.

Dans ce cas la courbe ROC longe l'axe des ordonnées et le haut du graphique. En revanche, si un test a une capacité de discrimination nulle, la proportion de positifs parmi les malades sera égale à la proportion de positifs parmi les non-malades, quelle que soit la valeur seuil. Dans ce cas-là la courbe ROC est la courbe d'identité, à 45 degrés. La plupart des tests se trouve entre ces deux extrêmes. Un test étant meilleur que sa courbe ROC se rapproche du coin supérieur gauche de graphique. (T.Pernger, A.Perrier., 2004).

Air sous la courbe

ANNEXE

Si on a besoin d'un index simple et quantitatif de la performance d'un test, la courbe ROC une image complexe-ne ne fait pas l'affaire. On utilise à cet effet l'aire sous la courbe ROC. Pour un test parfait, l'aire sous la courbe vaut 1. Pour un test sans valeur discriminante, l'aire sous la courbe vaut 0.5. **(T.Pernger, A.Perrier., 2004).**

L'air sous la courbe résume la capacité du test à discriminer entre malades et non malades.

La courbe ROC peut permettre de sélectionner la valeur seuil en fonction du contexte clinique et des caractéristiques du test.

Cet outil graphique met en rapport la proportion de vrais positifs (parmi les malades) avec la proportion de faux positifs (parmi les non-malades) pour toutes les valeurs seuil du test. En résumé, la courbe ROC est un moyen nécessaire pour exclure une maladie (sensibilité élevé) ou pour en établir le diagnostic (spécificité élevé).