

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

UNIVERSITE DE SAAD DAHLEB BLIDA-1



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Département de Biologie et Physiologie Cellulaire

Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Santé

MEMOIRE DE MASTER EN BIOLOGIE

Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

**Thème**

**Etude du profil immunohistochimique des tumeurs  
neuroendocrines pulmonaires chez des patients Algériens.**

Présenté par :

**M<sup>elle</sup> AMAMRI Sihem**

**M<sup>elle</sup> SFINDJA Assia**

Soutenu publiquement le 20/09/2020. Devant le jury composé de :

<b>M<sup>me</sup> ABDUL HUSSEIN A.</b>	Maitre de Conférences A	USDB1	<b>Présidente</b>
<b>M<sup>me</sup> BENAZOUZ F.</b>	Maitre-Assistante A	USDB1	<b>Examinatrice</b>
<b>M<sup>me</sup> RAHIM I.</b>	Maitre de Conférences B	USDB1	<b>Promotrice</b>
<b>M<sup>r</sup> ZEGGANE A.</b>	Maitre de Conférences A	CHU-Isaad Hassani Beni Messous Alger	<b>Co-Promoteur</b>

**Promotion 2019/2020**

## Remerciements

Ce travail n'a pu être mené à bien qu'avec le soutien de plusieurs personnes que nous voudrions, à travers ces quelques lignes, remercier du fond du cœur.

Tout d'abord nous tenons à remercier **Dieu**, le tout puissant et miséricordieux, qui nous a doté d'intelligence, et nous a maintenu en santé pour accomplir ce modeste travail de recherche.

Nous adressons nos sincères et chaleureux remerciements à notre promotrice **M<sup>me</sup> RAHIM I.** Maitre de Conférences B (USDB1/USTHB). Nous la remercions de nous avoir encadrés, orientés, aidés, encouragés, motivés, conseillés et répondu à nos innombrables questions durant notre recherche. Merci infiniment Madame pour votre disponibilité, votre patience, votre rigueur scientifique et votre sens d'écoute et d'échange.

Nous souhaitons aussi exprimer notre profonde gratitude au Professeur **SLIMANI A.** chef de service (CHU Isaad Hassani à Beni Messous d'Alger) qui nous a ouvert les portes du laboratoire d'anatomopathologie et nous a permis d'effectuer notre projet de fin d'étude. Nous tenons à remercier aussi notre co-promoteur **M<sup>r</sup> ZEGGANE A.** (CHU Isaad Hassani à Beni Messous d'Alger) pour l'expérience enrichissante et pleine d'intérêt durant notre petite période du stage et de nous avoir apporté des précisions dans son domaine d'expertise.

Nous offrons de sincères et chaleureux remerciements aux membres de jury, pour l'honneur qu'ils nous ont fait d'avoir acceptés de lire notre travail. **M<sup>me</sup> Abdul Hussein A.** Maitre de conférence A (USDB 1), pour tout ce qu'elle a pu nous apprendre, qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde et sincère reconnaissance. Nous tenons aussi à remercier **M<sup>me</sup> Benazouz F.** Maitre-assistant A (USDB1) pour nous avoir fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail.

Nous ne manquerons pas d'adresser nos remerciements à l'ensemble du personnel pédagogique et au corps professoral de notre université pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer une bonne formation, sans oublié **M<sup>me</sup> SAADI L.** Maitre de Conférences B (USDB1), Pour son aide dans les démarches administratives.

*J'ai l'immense plaisir de dédier ce modeste travail :*

*A celle qui m'a donnée l'amour et l'affection, ma chère maman,  
que Dieu nous la garde en bonne santé.*

*A celui qui a toujours été mon appui moral, mon cher père, que Dieu  
le garde pour nous.*

*A ma chère sœur Hanan et mon adorable frère Ramzi,*

*A notre encadreur Mme RAHIM I. pour sa coordination, sa patience  
et ses encouragements, et que sans elle ce travail n'aura pas pu voir le  
jour, mille merci.*

*A toute ma famille.*

*A mes grands- parents qui m'ont donné un grand soutien durant tout  
mon cycle.*

*A ma chère amie Ahlem qui était l'exemple de l'amitié pour moi.*

*A toute la promotion BMC 2020.*

*Sihem*

*Quoi que je fasse ou que je dise je ne saurai point vous remercier  
comme il se doit, ma chère maman, mon cher papa,  
votre présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour  
affronter les différents obstacles dans cette vie, vous m'avez encouragé  
pour arriver à ce stade, et vous m'avez jamais dit non à mes  
exigences.*

*Je dédie aussi ce modeste travail à :*

*\*Ma petite sœur Meriem*

*\*Mon fiancé, mes mots sont trop petits pour exprimer toute la  
gratitude que mon cœur contient pour toi, merci d'être toujours là  
pour moi.*

*\*Ma belle-famille.*

*\*Notre promotrice Mme Rahim I. merci pour vos nombreuses  
relectures et corrections de ce mémoire et votre enthousiasme surtout*

*\*Mon cousin « Dr. Lemdani M. ».*

*\*Ma binôme.*

*\*Toute la promotion BMC 2020.*

## Résumé

Les tumeurs neuroendocrines pulmonaires (TNEP), représentent 5% des cancers du poumon, qui constitue la principale cause de mort par cancer dans le monde. L'incidence et la mortalité par TNE pulmonaire sont en augmentation constante malgré les avancées dans le domaine thérapeutique.

Le diagnostic précoce pourrait accroître les chances de réussite du traitement et ainsi la survie des patients. Cette étude avait pour objectif d'étudier l'apport de l'immunohistochimie en ciblant trois marqueurs neuroendocrines spécifiques, la chromogranine A, le CD56/NCAM et la synaptophysine, dans le diagnostic du TNE pulmonaire chez les patients Algériens.

Nous avons réalisé une étude rétrospective sur 67 patients atteints de TNE pulmonaire diagnostiqués entre 2017 et 2019. Les paramètres épidémiologiques, anatomopathologique et immunohistochimique ont été déterminés.

Les résultats épidémiologiques ont révélé une augmentation de l'incidence et la prévalence de la TNE pulmonaire durant les 3 années d'études. Les TNE pulmonaire étaient prédominant chez les hommes âgés de plus de 50 ans.

Les résultats anatomopathologiques suggèrent une prédominance des carcinomes bronchiques à petites cellules (63%), suivie des carcinomes neuroendocrines à grandes cellules (23%), de carcinoïdes pulmonaires atypiques (CA) (9%) et typiques (CT) (5%).

L'étude immunohistochimique montre que la synaptophysine est le marqueur le plus sensible pour les carcinoïdes pulmonaires alors que la chromogranine A et le CD-56 sont souvent exprimés par les tumeurs de bas et haut grade.

Ces résultats suggèrent que l'immunohistochimie pourrait constituer un outil de diagnostic spécifique et ciblé afin de distinguer entre les sous-types de TNE pulmonaire pour une thérapie ciblée.

**Mots clés :** TNE pulmonaire, immunohistochimie, chromogranine A, synaptophysine, CD-56.

## Abstract

Pulmonary neuroendocrine tumors (NET) represent 5% of lung cancers, which are the main cause of death from cancer in the world. The incidence and mortality of pulmonary NET are steadily increasing despite advances in the therapeutic field.

Early diagnosis could increase the chances of successful treatment and also patient survival. The objective of this project was to study the contribution of immunohistochemistry by targeting three specific neuroendocrine markers, chromogranin A, CD56 / NCAM and synaptophysin, in the diagnosis of pulmonary NET in Algerian patients.

We performed a retrospective study on 67 patients with pulmonary NET diagnosed between 2017 and 2019. The epidemiological, clinical, pathological and immunohistochemical parameters were determined.

Epidemiological results revealed an increase in the incidence and prevalence of pulmonary NET during the 3 years of studies. Pulmonary NET were predominant in men over 50 years of age.

Pathological findings suggest a predominance of small cell bronchial carcinoma (63%), followed by large cell neuroendocrine carcinoma (23%), atypical (AC) (9%) and typical (TC) (5%) lung carcinoid.

The study immunohistochemically shows that synaptophysin is the most sensitive marker for lung carcinoid although chromogranin A and CD-56 are often expressed by low and high grade tumors.

These results suggest that immunohistochemistry could be a specific and targeted diagnostic in order to distinguish between pulmonary NET subtypes for targeted therapy.

**Key words :** Pulmonary NET, immunohistochemistry, chromogranin A, synaptophysin, CD-56.

تمثل أورام الغدد الصم العصبية الرئوية 5% من سرطانات الرئة، وهي السبب الرئيسي لوفيات السرطان في العالم. يزداد معدل الإصابات والوفيات بهذه الأورام بشكل ملحوظ على الرغم من التقدم في المجال العلاجي.

يمكن للتشخيص المبكر أن يزيد من فرص الحياة ونجاح العلاج. يهدف هذا العمل إلى دراسة مساهمة الكيمياء النسيجية المناعية في تشخيص أورام الغدد الصم العصبية الرئوية لدى المرضى الجزائريين عن طريق استهداف بروتينات خاصة السيئابتوفيسين، الكروموجرانين A و CD-56/NCAM.

أجرينا دراسة بأثر رجعي على 67 مريضاً يعانون من أورام الغدد الصم العصبية الرئوية تم تشخيصهم بين 2017 و2019، وتم استخراج المعلومات الوبائية وخصائص التشخيص الكيميائية النسيجية المناعية.

أظهرت النتائج الوبائية زيادة في انتشار أورام الغدد الصم العصبية الرئوية خلال 3 سنوات من الدراسة، وهيمنتها عند الذكور الذين تزيد أعمارهم عن 50 سنة.

تشير النتائج التشخيصية إلى غلبة سرطان الرئة ذو الخلايا الصغيرة (63%)، يليه سرطان الغدد الصم العصبية ذو الخلايا الكبيرة (23%) سرطان الرئة الغير نمطي (9%) و(5%) النموذجي.

تشير دراسة الكيمياء النسيجية المناعية إلى أن السيئابتوفيسين هو المؤشر الحيوي الأكثر حساسية لسرطان الرئة الغير نمطي والنموذجي بينما يتم التعبير عن الكروموجرانين A و CD56/NCAM غالباً بواسطة الأورام العالية ومنخفضة الدرجة.

تشير هذه النتائج إلى أن تقنية الكيمياء النسيجية المناعية تمثل دون شك أفضل تقنية من حيث دقة تشخيص أورام الغدد الصم العصبية الرئوية من أجل اختيار العلاج المستهدف المناسب للمرضى.

**الكلمات المفتاحية:** أورام الغدد الصم العصبية الرئوية، تقنية الكيمياء النسيجية المناعية،

كروموجرانين A، سيئابتوفيسين و NCAM/56-CD

*L'acromégalie*, est un trouble neuroendocrinien insidieux est caractérisée par une défiguration somatique progressive acquise, touchant principalement le visage et les extrémités, mais aussi de nombreux autres organes, associée à des manifestations systémiques. La maladie est liée à la production excessive d'hormone de croissance (GH). Cette hypersécrétion de GH provient d'une tumeur pituitaire bénigne monoclonale (adénome) **(Chanson et Salenave., 2008 ; Anoun et Ouahabi., 2017).**

*L'atélectasie*, est l'absence d'air dans tout ou partie d'un poumon. Peut-être causée par une obstruction des voies respiratoires, une compression pulmonaire, une contraction fibreuse ou d'autres facteurs. L'atélectasie pulmonaire est une affection courante associée au cancer du poumon **(Bulbul et al., 2010).**

*Le carcinome du poumon occulte*, impliquant des ganglions lymphatiques médiastinaux sans tumeur primaire identifiable. Détectés par cytologie des expectorations chez les patients qui n'ont aucun signe de maladie sur les radiogénomènes thoraciques de routine. Est une présentation rare **(Martini et Melamed., 1980 ; Romesser et al., 2019).**

*La chimio-embolisation transartérielle (TACE)*, consiste en un cathétérisme sélectif de la ou des branches de l'artère qui alimentent les lésions tumorales. Une chimiothérapie émulsionnée avec du Lipiodol (un produit de contraste lipophile servant de vecteur à la chimiothérapie) est ensuite administrée par ce cathéter, puis les vaisseaux nourriciers de la tumeur sont embolisés à l'aide de fragments de gélatine résorbables (Gelfoam) ou de microsphères. L'embolisation prolonge la durée d'exposition de la tumeur à l'agent cytostatique et permet d'obtenir une nécrose ischémique. La doxorubicine est l'agent cytotoxique le plus couramment utilisé **(Valérie et al., 2014).**

*La chimiothérapie néoadjuvante*, consiste à administrer un traitement systémique aux patientes avant la chirurgie. Il a été initialement utilisé pour réduire les tumeurs inopérables. Le principe de la chimiothérapie néo-adjuvante repose sur les relations entre la cinétique de prolifération tumorale et l'effet de la chimiothérapie **(Pouillart, 2004 ; Issam et al., 2018).**

*Le flush*, est un érythème transitoire, dû à une vasodilatation des vaisseaux cutanés, de mécanismes très variés. Dans la grande majorité des cas, le flush est émotionnel ou médicamenteux, mais ces deux étiologies doivent rester des diagnostics d'élimination. Dans de rares cas, le flush vient révéler une maladie systémique, dont la potentielle gravité doit inciter le clinicien à réaliser un bilan clinique et paraclinique **(Lafont, 2014).**



**Hémoptysie**, se définit par une extériorisation de sang provenant de l'arbre trachéobronchique. Il s'agit d'un motif fréquent de consultation et d'hospitalisation en pneumologie. Dans moins de 5% des cas, l'hémoptysie peut être sévère avec une mortalité de plus de 50% en l'absence de traitement adéquat. L'évaluation de la gravité de l'hémoptysie dépend de la quantité et du débit de sang extériorisé (**Theone et al., 2015**).

**Hypokaliémie**, est présente lorsque les taux sériques de potassium sont inférieurs à la normale. Il s'agit d'un trouble électrolytique assez courant, en particulier chez les patients hospitalisés, avec des causes diverses y compris des causes endocriniennes, et nécessitant parfois des soins médicaux urgents. Elle résulte généralement d'une augmentation de l'excrétion de potassium ou d'un déplacement intracellulaire et moins fréquemment d'une réduction de l'apport en potassium (**Kardalas et al., 2018**).

**Hyponatrémie euvolémique**, se définit par une concentration plasmatique de sodium inférieur à 135 mmol/l. La natrémie est le rapport entre la quantité de sodium dans le liquide extracellulaire et le volume du compartiment extracellulaire. C'est le trouble le plus fréquent chez les patients hospitalisés. Dans le cas d'hyponatramie euvolémique il s'agit d'un syndrome de sécrétion inappropriée d'ADH (SIADH). Devant la baisse de la natrémie, le rein retient alors l'eau de façon inappropriée, il y a ensuite une dilution du sodium dans l'organisme (**Lassond, 2005**).

**Lobectomie**, est l'ablation d'un lobe pulmonaire ou de plusieurs lobes, se fait de plus en plus par chirurgie thoroscopique plutôt que par thoracotomie. Dans une procédure thoroscopique (chirurgie en trou de serrure) (**Berichten, 2009**).

**La lymphadénectomie**, également appelée dissection des ganglions lymphatiques, est une intervention chirurgicale au cours de laquelle les ganglions lymphatiques sont retirés du corps et examinés pour la présence de cellules cancéreuses. Une lymphadénectomie limitée ou modifiée ne supprime qu'une partie des ganglions lymphatiques dans la zone autour d'une tumeur ; une lymphadénectomie totale ou radicale enlève tous les ganglions lymphatiques de la région (**Manfred, 2015**).

**Radiofréquence**, est une technique de radiologie interventionnelle permettant le traitement de lésions tumorales malignes du foie, du poumon et du rein. La taille des tumeurs est le facteur principal de sélection des malades pour cette technique. Les tumeurs de moins de 3 cm sont traitées avec une excellente efficacité que ce soit pour les tumeurs hépatiques, rénales ou pulmonaires (plus de 90% de destruction complète en une seule séance). Les complications de

ce geste varient en fonction de l'organe traité mais restent rares. Le principe de la radiofréquence repose sur l'émission par une électrode émettrice d'un courant alternatif dont la fréquence varie entre 450 et 550 KHz, les ions des tissus situés dans le voisinage immédiat de l'aiguille subissent une agitation à la fréquence du courant émis qui entraîne un échauffement de ce tissu (**Denys et al., 2005**).

*Les résections du manchon bronchique*, sont définies comme l'ablation d'un segment d'une bronche principale, généralement en conjonction avec la bronche lobaire ou segmentaire impliquée et le tissu pulmonaire associé avec construction ultérieure d'une anastomose bronchique (**Hans, 2014**). Une résection du manchon est indiquée lorsque la tumeur est confinée au lobe supérieur (**Paneth et al., 1987**).

*La segmentectomie*, est l'ablation d'un segment d'un lobe du poumon pour une lésion bénigne ou maligne et comprend la résection des bassins ganglionnaires associés au segment à retirer. La segmentectomie préserve la fonction pulmonaire par rapport à une lobectomie tout en aboutissant à une résection anatomique (**Arnold et Kim.,2018**).

*Le stridor*, est un son respiratoire variable et aigu qui peut être évalué pendant la respiration. En règle générale, le stridor est produit par le flux anormal d'air dans les voies respiratoires, généralement les voies respiratoires supérieures, et est surtout entendu pendant l'inspiration. Cependant, il peut également être présent pendant l'inspiration et l'expiration. Le stridor peut être dû à des malformations et anomalies congénitales ainsi qu'à la phase aiguë d'une obstruction ou d'une infection potentiellement mortelles (**Sicari et Zabbo., 2018**).

*Le syndrome carcinoïde*, fait référence à un groupe de symptômes provoqués par la libération systémique de différents types de facteurs humoraux tels que les polypeptides, les amines biogènes et les prostaglandines, principalement à partir de tumeurs neuroendocrines bien différenciées (**Sudha et al., 2020**).

*Le syndrome cave supérieur*, traduit une obstruction de la veine cave supérieure qui peut être aiguë ou chronique, partielle ou totale. Elle peut résulter d'une compression extrinsèque, d'une infiltration de la paroi veineuse par une tumeur ou plus rarement d'une thrombose. Le carcinome bronchique représente l'étiologie la plus fréquente du syndrome cave supérieur de l'adulte (**Montcouquiol, 2001**).

*La thérapie ciblée par radionucléides* : est l'une des directions les plus développées de la médecine nucléaire. Contrairement à la thérapie par faisceau externe conventionnelle, la

thérapie par radionucléides ciblée cause moins de dommages collatéraux aux tissus normaux et permet une administration ciblée de médicaments à des malformations néoplasiques cliniquement diagnostiquées, ainsi que des cellules métastasées et des groupes cellulaires, fournissant ainsi une thérapie systémique du cancer. La thérapie radionucléide ciblée repose sur l'utilisation de molécules de haute affinité comme vecteurs de radionucléides pour les cellules tumorales. Les produits pharmaceutiques destinés à la thérapie ciblée par radionucléides sont souvent injectés par voie intraveineuse ou intracavitaire. Après l'injection, ces médicaments pénètrent dans la circulation sanguine et atteignent finalement leur cible - une molécule cible à la surface des cellules tumorales. Un radionucléide attaché au produit pharmaceutique interagit directement avec la cellule de la tumeur (**Gudkov et al., 2016**).

*La tomodensitométrie (TDM)*, ou scanographie/scanner ; permet une excellente étude du parenchyme pulmonaire du fait de sa très bonne résolution spatiale. De faibles différences d'atténuation et les modifications du parenchyme pulmonaire au cours de phénomènes inflammatoires aigus peuvent être facilement reconnues. Les coupes réalisées en haute résolution permettent de décrire beaucoup mieux qu'une simple radiographie thoracique peut apporter des éléments de présomption sur le germe en cause, par des arguments sur le mode de contamination ou de propagation. Elle permet également de mieux préciser l'extension des lésions et de participer au diagnostic différentiel des affections (**Jeanbourquin et al., 2004**).

*Wheezing*, ou la respiration sifflante est la manifestation symptomatique de tout processus pathologique qui provoque une obstruction des voies respiratoires. Le wheezing est un son musical, aigu et fortuit généré n'importe où du larynx aux bronchioles distales pendant l'expiration ou l'inspiration. Wheezing est souvent ressentie par les personnes souffrant d'asthme ; cependant, il peut être entendu chez les personnes ayant des corps étrangers wheezing dépendent également de l'emplacement de l'obstruction dans les voies respiratoires. Dans les tumeurs malignes, l'obstruction se situe généralement dans les voies respiratoires supérieures, plus proximales (**Pujan, 2020**).

## Liste des abréviations

**ACTH** : Adreno Cortico Tropic Hormone

**ASH-1** : Achaete-scute homolog 1

**BAX** : Bcl-2 Associated X

**Bcl-2** : B Cell Lymphoma

**CA** : Carcinoïde Atypique

**CASP8** : cysteine-aspartic acid protease

**CBPC** : Cancer Bronchique à Petites Cellules

**CgA** : Chromogranine A

**CGRP** : peptide lié au gène de la calcitonine

**CHU** : Centre Hospitalier Universitaire

**CNE** : Cellule Neuroendocrine

**CNEP** : Cellule Neuroendocrine Pulmonaire

**CNEGC** : Carcinome Neuroendocrine à Grandes Cellules

**CT** : Carcinoïde Typique

**CTLA4** : Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen-4

**DAB** : 3,3'-Diaminobenzidine

**DIPNECH** : Hyperplasie des Cellules Neuroendocrines Idioplasiques Diffuses

**DLL3** : Protéine Delta-like 3

**ERBB4** : Erb-B2 Receptor Tyrosine Kinase 4

**GnRH** : Gonadotropin Releasing Hormone

**GRP** : Bombesine de mammifère

**H2O2** : Peroxyde d'hydrogène

**HE** : Hématoxyline éosine

**HPF** : High-Power Field

**HRP** : Horseradish peroxidase

## Liste des abréviations

**5-HT** : 5-hydroxytryptamine

**IASLC** : International Association for the Study of Lung Cancer

**IHC** : Immunohistochimie

**IGF1** : Insulin-like growth factor 1

**IGF-1R** : Insulin-like Growth Factor-1 Receptors

**Menin** : néoplasie endocrine multiple 1

**NCAM** : molécule d'adhésion aux cellules neurales

**NE** : Neuroendocrine

**NSE** : émolase spécifique des neurones

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**PCR** : polymerase chain reaction

**PD-1** : Programmed Death-1

**PET** : Positron emission tomography

**RB1** : Rétinoblastome-1

**SWI / SNF** : switch/sucrose non-fermenting

**SIADH** : Syndrome de sécrétion inappropriée d'hormone antidiurétique

**STK11** : Sérine-Thréonine Kinase11

**SYN** : Synaptophysine

**TBS** : Tris-Buffered Saline

**TDM** : Tomodensitométrie

**TKIs** : Inhibiteurs de tyrosines kinase

**TNE** : Tumeurs Neuroendocrines

**TNEP** : Tumeurs Neuroendocrines Pulmonaires

**TNM** : Tumor-Nodes-Metastasis

**TP53** : Tumor Protein 53

## Liste des abréviations

**TRS** : Target Retrieval Solution

**TTF-1** : Thyroid-Transcription Factor-1

**VEGF** : Vascular Endothelial Growth Factor

**VND** : Vésicules à Noyau Dense

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Anatomie de l'appareil respiratoire et organisation cellulaire de la muqueuse respiratoire .....	4
<b>Figure 2.</b> Histologie des tumeurs neuroendocrines pulmonaires .....	6
<b>Figure 3.</b> Aspect macroscopique des différents types des tumeurs neuroendocrines pulmonaires .....	8
<b>Figure 4.</b> Schéma récapitulatif de la physiopathologie des TNE pulmonaires.....	13
<b>Figure 5.</b> Schéma récapitulatif du principe d'immunohistochimie basé sur la méthode des polymères.....	25
<b>Figure 6.</b> Répartition du nombre de nouveaux cas entre 2017 et 2019.....	28
<b>Figure 7.</b> Répartition des patients atteints de TNE pulmonaire selon le genre.....	29
<b>Figure 8.</b> Répartition des patients atteints d'un TNE pulmonaire selon le genre en fonction des années.....	30
<b>Figure 9.</b> Répartition des patients atteints de TNE pulmonaire dans quatre tranches d'âge.....	31
<b>Figure 10.</b> Répartition des patients atteints de TNE pulmonaire selon le type histologique.....	33
<b>Figure 11</b> Coupes histopathologiques de carcinoïde typique.....	34
<b>Figure 12.</b> Coupes histopathologiques de carcinoïde atypique.....	35
<b>Figure 13.</b> Coupes histopathologiques de carcinome neuroendocrine à grandes cellules...	36
<b>Figure 14.</b> Coupes histopathologiques de carcinome neuroendocrines à petites cellules...	36
<b>Figure 15.</b> Répartition des patients atteints de TNE pulmonaire selon le Profil immunohistochimique.....	38
<b>Figure 16.</b> Immuno-marquage à l'aide de l'anticorps anti-CgA, anti-Syn de carcinoïde typique.....	40
<b>Figure 17.</b> Immuno-marquage à l'aide de l'anticorps anti-CgA, anti-Syn et anti-CD-56 de carcinoïde atypique.....	41
<b>Figure 18.</b> Immuno-marquage à l'aide de l'anticorps anti-CD-56, anti-Syn et anti- CgA de carcinome à grandes cellules.....	41
<b>Figure 19.</b> Immuno-marquage à l'aide de l'anticorps anti-CD-56, anti- CgA et anti- Syn de carcinome à petites cellules.....	42

**Figures annexe**

**Figure 20.** Automate d'immunohistochimie

**Figure 21.** Bain marie

**Figure 22.** Appareil de la déshydratation

**Figure 23.** Microtome

**Figure 24.** Appareil de l'inclusion

**Figure 25.** Tampon de démasquage

**Figure 26.** Tampon de lavage

**Figure 27.** Xylène

**Figure 28.** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

**Figure 29.** Amplifiant (HRP)

**Figure 30.** kit DAB (chromogène + tampon)

**Figure 31.** Etapes de fixation des biopsies dans le formol à 10%

**Figure 32.** Étapes de déshydratation, inclusion et confections de blocs de paraffine

**Figure 33.** Etapes de coupes histologiques

**Figure 34.** Etapes de coloration hématoxyline- éosine (H-E)

**Figure 35.** Etape de déparaffinage

**Figure 36.** Etapes de démasquage

**Figure 37.** Etapes de blocage de peroxyde endogène.

**Figure 38.** Incubation de prélèvement avec l'anti corps primaire

**Figure 39.** Révélation du complexe AC-AG par le chromogène DAB

**Figure 40.** Contre coloration des prélèvements et l'obtention d'une lame d'immunohistochimie

**Figure 41.** Interprétation des lames à l'aide d'un microscope électronique



## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Classification anatomopathologique des tumeurs neuroendocrines (TNE) pulmonaires selon l'OMS 2015 .....	7
<b>Tableau 2.</b> Classification TNM du cancer du poumon, 8ème édition.....	9
<b>Tableau 3.</b> Stadification des TNE pulmonaire.....	10
<b>Tableau 4.</b> Circuit de la batterie de déshydratation et d'imprégnation du tissu à la paraffine.....	21
<b>Tableau 5.</b> Etapes de coloration hématoxyline- éosine.....	23
<b>Tableau 6.</b> Etapes de l'immunohistochimie (IHC).....	25
<b>Tableau 7.</b> Répartition des patients atteints d'une TNE pulmonaire entre 2017 et 2019.....	28
<b>Tableau 8.</b> Répartition des patients atteints d'une TNE pulmonaire selon le genre.....	29
<b>Tableau 9.</b> Répartition des patients atteints de TNE pulmonaire selon l'âge.....	31
<b>Tableau 10.</b> Répartition des patients atteints de TNE pulmonaire selon le type histologique.....	32
<b>Tableau 11.</b> Profil immunohistochimique des patients atteints de TNE pulmonaire.....	38

<b>Introduction</b> .....	1
<b>CHAPITRE I : Rappels bibliographiques</b>	
<b>I. Tumeurs neuroendocrines pulmonaire (TNEP)</b> .....	3
<b>I.1. Définition des TNEP</b> .....	3
<b>I.2. Anatomie et physiologie du poumon</b> .....	3
<b>I.3. Epidémiologie des TNEP</b> .....	4
<b>I.4. Etiologie des TNEP</b> .....	5
<b>I.5. Apport de l'anatomopathologie</b> .....	5
<b>I.5.1. Classifications des TNEP</b> .....	6
<b>I.5.1.1. Classification anatomopathologique</b> .....	6
<b>I.5.1.2. Classification Tumor-Nodes-Metastasis (TNM)</b> .....	8
<b>I.5.1.3. Stadification histologique des TNE pulmonaires</b> .....	10
<b>I.6. Oncogenèse pulmonaire</b> .....	11
<b>I.6.1. Les cellules neuroendocrines pulmonaires</b> .....	11
<b>I.6.2. Gènes et molécules impliqués dans la Tumorigénèse du TNEP</b> .....	12
<b>I.6.3. Rôle de la chromogranine A, de la Synaptophysine et du CD-56 dans la pathogénèse pulmonaire</b> .....	15
<b>I.7. Présentation clinique, diagnostic et thérapies des TNE Pulmonaires</b> .....	16
<b>I.7.1. Présentation clinique</b> .....	16
<b>I.7.2. Diagnostic</b> .....	17
<b>I.7.3. Thérapies</b> .....	18
<b>CHAPITRE II : Matériel et méthode</b>	
<b>II.1. Matériel</b> .....	20
<b>II.1.1. Matériel non biologiques</b> .....	20
<b>II.1.2. Matériel biologiques</b> .....	20
<b>II.1.3. Patients</b> .....	21
<b>II.2. Méthodes</b> .....	21
<b>II.2.1. Etude anatomopathologique</b> .....	21
<b>II.2.1.1. Etude histologique par coloration à l'hématoxyline-éosine (H-E)</b> .....	21
<b>II.2.1.2. Etude immunohistochimique (IHC)</b> .....	24
<b>CHAPITRE III : Résultats et discussion</b>	
<b>III.1. Résultats cliniques</b> .....	28

## Sommaire

<b>III.1.1.</b> Fréquence de TNEP sur 3 années .....	28
<b>III.1.2.</b> La répartition selon le sexe.....	29
<b>III.1.3.</b> La répartition selon l'âge.....	31
<b>III.2.</b> Résultats anatomopathologiques.....	32
<b>III.2.1.</b> Répartition de TNE pulmonaire selon le type histologique.....	32
<b>III.2.2.</b> Résultats de la coloration Hématoxyline-Eosine.....	34
<b>III.2.3.</b> Profil immunohistochimique des patients.....	37
<b>III.2.4.</b> Résultats d'immunomarquage immunohistochimique des TNE pulmonaires..	40
<b>IV. Discussion</b> .....	43
<b>Conclusion</b> .....	46
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	

## Introduction

Les tumeurs neuroendocrines pulmonaires (TNEP) ont reconnus une nette augmentation au cours de ces dernières années (**Kinslow et al., 2019 ; Simbolo et al., 2019**). Ils représentent 5% des cas de cancer du poumon, qui est lui-même la principale cause de décès par cancer dans le monde (**Windmüller et al., 2019**).

Au niveau mondial, on estime près d'un million de cas de décès par TNEP, ce qui représente 17,6% du taux de mortalité par cancer (**David et Eric., 2013**).

Ainsi, malgré d'importantes avancées, tant dans le domaine de la prise en charge thérapeutique que dans la compréhension des mécanismes moléculaires de la carcinogénèse, la survie reste médiocre et ceci est largement dû à des diagnostics tardifs, à l'absence de symptômes spécifiques, à l'absence de méthodes sensibles de détection précoce, et à l'hétérogénéité des TNEP. Les patients sont généralement diagnostiqués lorsque la maladie est à un stade avancé pour lequel les traitements curatifs sont rares (**Cameselle et al., 2018**).

Le diagnostic du CBP repose essentiellement sur l'imagerie et la fibroscopie bronchique qui permettent de réaliser des biopsies afin de déterminer le type histologique. Les TNEP constituent donc un problème majeur, pour les oncologues, en raison de leurs caractéristiques morphologiques, ultrastructurales, immunohistochimiques et moléculaires particulières et de leur comportement biologique différent (**Pier Luigi, 2015**).

Cependant les nouvelles modalités thérapeutiques de prise en charge des patients atteints de TNEP exigent un phénotypage précis. Le diagnostic définitif et la distinction des quatre types histologiques, nécessite un panel de marqueurs immunohistochimiques de différenciation neuroendocrine comme la chromogranine A, le CD56 et la synaptophysine (**Simbolo et al., 2019**).

Dans le cadre du projet de fin d'études, il nous a été proposé d'étudier l'apport de l'immunohistochimie dans le diagnostic et la classification histologique des tumeurs neuroendocrines pulmonaires chez des patients Algériens, au CHU Issad Hassani à Beni Messous d'Alger. Nous avons pour objectifs de :

- ✓ Déterminer les caractéristiques épidémiologiques et cliniques de la population étudiée (questionnaires détaillé comprenant entre autre : Age, genre (sexe), facteurs de risque, antécédents personnels...).

## Introduction

- ✓ Etudier les caractéristiques histopathologies des tumeurs neuroendocrines (classification TNM, grade histologique, classification moléculaire) en se basant sur les marqueurs : chromogranine A, synaptophysine, CD56.
- ✓ Rechercher d'éventuelles corrélations entre le profil immunohistochimique et les caractéristiques épidémiologiques de la population étudiée.
- ✓ Rechercher d'éventuelles corrélations entre le profil immunohistochimique et le type histologique de la tumeur neuroendocrine pulmonaire.

La survenue de la pandémie au SARS-Cov2 et l'expansion de la COVID-19, avec le confinement qui s'en est suivi, a contraint les structures sanitaires, dont le CHU-Beni Messous, à annuler les stages des étudiants en biologie. Nous nous sommes limités à une étude rétrospective portant sur les caractéristiques épidémiologiques, anatomopathologiques des TNEP, de la population étudiée. Nous avons aussi enrichi notre étude par une analyse d'articles.

## **I. Tumeurs neuroendocrines pulmonaires (TNEP)**

### **I.1. Définition des TNEP**

Les tumeurs neuroendocrines pulmonaires (TNEP) sont un groupe hétérogène de tumeurs neuroendocrines (TNE), rares, développées à partir des cellules du système neuroendocrinien dans les poumons ou dans les voies respiratoires (bronches) (Kleindienst *et al.*, 2016).

Les cellules du système neuroendocrinien ou « cellules neuroendocrines » sont des cellules ayant à la fois des caractéristiques du système nerveux et du système endocrinien. Ces dernières présentent une structure semblable à celle des cellules nerveuses et produisent des hormones comme les cellules endocrines. Elles sont dispersées de manière diffuse dans tout le corps (le tube digestif, les poumons, la thyroïde, les ovaires, la vessie... etc) (Schlumberger et Baudin., 1997 ; Saint-André et Guyétant., 2000).

### **I. 2. Anatomie et physiologie du poumon**

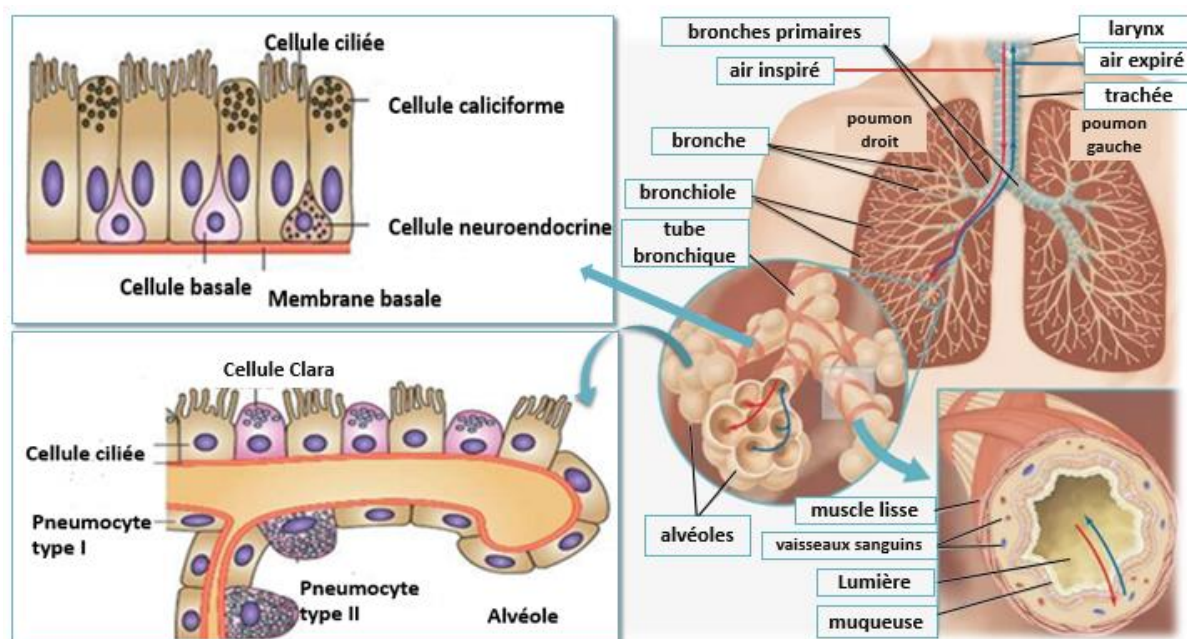
Au nombre de deux, les poumons sont situés dans la cage thoracique et sont séparés l'un de l'autre par le médiastin. Le poumon droit comprend trois lobes alors que le poumon gauche compte seulement deux. Ils sont entourés de deux feuillets appelés plèvres (Figure 1) (Martelli-Reid *et al.*, 2006).

Les poumons reposent sur une vaste nappe musculaire, le diaphragme, qui sépare le thorax de la cavité abdominale. Les contractions musculaires du diaphragme et de la cage thoracique permettent aux poumons de se gonfler et de se dégonfler, par augmentation / diminution du volume de la cage thoracique pour assurer la respiration (Martelli-Reid *et al.*, 2006).

Les poumons font partie du système respiratoire. Constitués de bronches, de bronchioles et d'alvéoles, ils assurent les échanges gazeux entre l'organisme et l'air ambiant. L'air inspiré pénètre par la trachée et s'introduit dans les bronches qui se subdivisent en bronches toujours plus petites puis en bronchioles, débouchant dans les alvéoles (Figure 1). Les alvéoles sont de petits sacs poreux, en forme de bulle, où se déroulent les échanges gazeux avec le sang. Chaque alvéole est entourée de vaisseaux très fins, appelés capillaires, dont elle est séparée par une membrane. C'est à travers cette membrane que l'oxygène est transféré de l'air vers le sang, et en sens inverse, le gaz carbonique éliminé (Figure 1) (Martelli-Reid *et al.*, 2006).

Une muqueuse tapisse l'arbre respiratoire afin d'empêcher les particules étrangères inhalées d'atteindre les parties profondes du poumon. Elle est constituée principalement de trois types

cellulaires : des cellules épithéliales ciliées, des cellules muco-sécrétantes (cellules caliciformes) et des cellules basales (Wissler., 2012). L'épithélium des bronches et bronchioles est formé de cellules épithéliales ciliées, qui participent à l'élimination des agents environnementaux en réalisant le mouvement muco-ciliaire, et des cellules caliciformes productrices de mucus (Hanahan et Weinberg.,2000), En plus des cellules neuroendocrines pulmonaires (CNEP) qui sont impliquées dans de nombreux aspects des fonctions pulmonaires, y compris la détection de l'oxygène des voies respiratoires, la régulation du débit sanguin pulmonaire, la modulation des réponses immunitaires. Ces diverses activités sont médiées par les amines et les peptides libérés par les CNEP (Song et al.,2012). L'épithélium alvéolaire est composé de pneumocytes de type I qui assurent les échanges gazeux entre l'alvéole et la circulation sanguine, et de pneumocytes de type II qui produisent le surfactant (Hanahan et Weinberg.,2000), et les cellules de Clara représentant les acteurs clés de l'homéostasie pulmonaire (Roth et al.,2013).



**Figure 1.** Anatomie de l'appareil respiratoire et organisation cellulaire de la muqueuse respiratoire (Adaptée à Zalcman.,2018 ; Bailey.,2020).

### I. 3. Epidémiologie des TNEP

Les tumeurs neuroendocrines primitives, toutes localisations confondues, sont rares avec 2 à 5 nouveaux cas par an pour 100 000 habitants. Environ 20–30% des tumeurs neuroendocrines touchent les poumons qui, après le tractus gastro-intestinal, constituent la deuxième localisation la plus fréquente des TNE. Les TNE représentent 20–25% des néoplasies pulmonaires

invasives. L'incidence des TNEP a reconnu une augmentation au cours des dernières décennies et a été calculée à environ 1,57/100 000 habitants (**Korse et al., 2013 ; Kleindienst et al., 2016 ; Hendifar et al., 2017**).

Les tumeurs neuroendocrines pulmonaires, selon la classification de l'OMS de 2015 comprennent :

- Les tumeurs carcinoïdes de grade bas à intermédiaire, qui sont subdivisées en carcinoïde typique (CT, bas grade) et en carcinoïde atypique (CA, grade intermédiaire).
- Les tumeurs de haut grade, qui englobent le carcinome bronchique à petites cellules (CBPC) et le carcinome neuroendocrine à grandes cellules (CNEGC).

Le CBPC constitue l'entité la plus fréquente (15–20% des cas). Le CNEGC, le CT et le CA sont nettement plus rares, représentant respectivement 1,6–3%, 1–2% et 0,1–0,2% des cas. Le pic d'âge lors du diagnostic se situe entre 40 et 70 ans ; les CT et les CA s'observent plus souvent chez les femmes, tandis que les hommes semblent plus souvent atteints de CBPC et de CNEGC (**Kleindienst et al., 2016 ; Naidoo et al., 2016**). Ces tumeurs sont la première cause de décès par cancer, avec plus d'un million de décès dans le monde chaque année (17,6% de la mortalité par cancer). En 2008, 342 000 cas de décès ont été enregistrés en Europe (**David et Eric., 2013**).

#### **I. 4. Etiologie des TNEP**

Dans plus de 90% des cas, les TNE surviennent de manière sporadique. Le tabagisme constitue un facteur de risque majeur de développement d'un carcinome neuroendocrine à grandes cellules (CNEGC) et d'un carcinome bronchique à petites cellules (CBPC) alors qu'il ne semble pas avoir d'influence sur la survenue des tumeurs carcinoïdes (**Kleindienst et al., 2016 ; Naidoo et al., 2016 ; Hendifar et al., 2017**). Aucun facteur environnemental ou tabagique ne peut être retenu pour les carcinoïdes. Ainsi, environ 20% à 40% des patients atteints de carcinoïdes typiques ou atypiques sont des non-fumeurs, alors que presque tous les patients atteints de CBPC et CNEGC sont de gros fumeurs de cigarettes (**Fisseler-Eckhoff et Demes., 2012**).

#### **I.5. Apports de l'anatomopathologie**

Les TNEP constitue un groupe particulier et hétérogène de tumeurs avec une absence de mutations génétiques caractéristiques. L'examen l'anatomopathologie constitue, donc, le



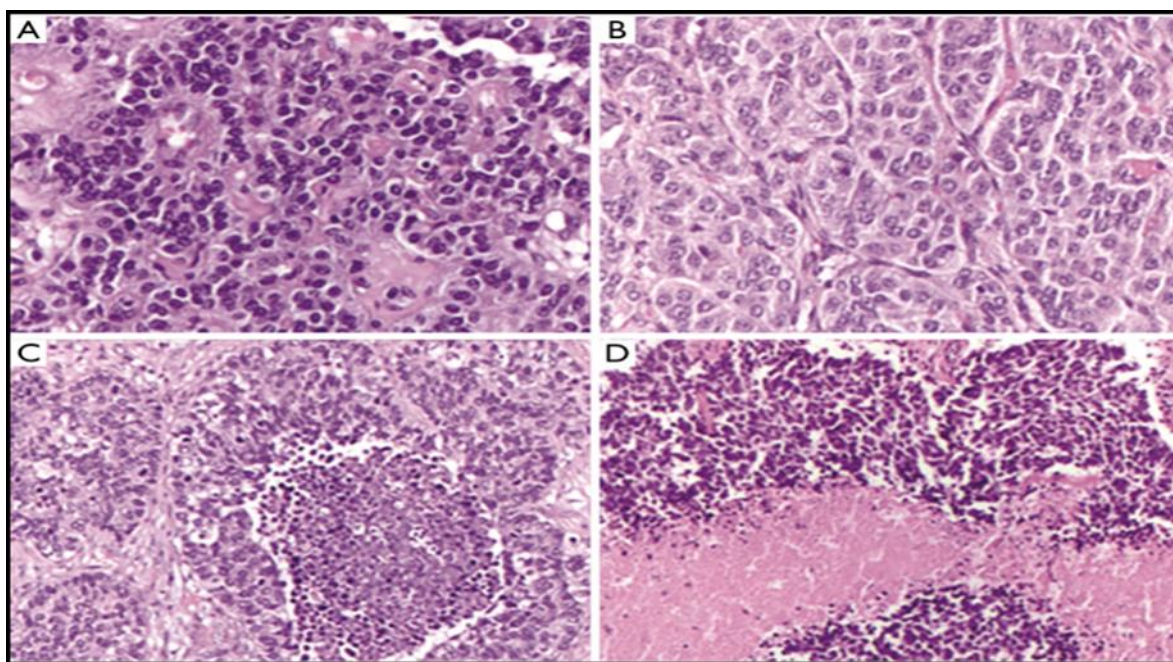
principal outil d'étude des TNEP pour établir une classification adaptée essentielle au diagnostic et au traitement des patients.

### I.5.1. Classifications des TNEP

#### I.5.1.1. Classification anatomopathologique

La première classification internationale des tumeurs neuroendocrines pulmonaires a été proposée en 1981 par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Elle a été révisée en 1985, et réactualisée en 2015 à la lumière des progrès réalisés dans la connaissance des tumeurs pulmonaires. Cette classification est basée sur la taille des tumeurs, le nombre de mitoses, le degré de prolifération ou encore le degré d'extension des tumeurs ainsi que sur la présence et l'étendue des foyers de nécrose (**Tableau I**) (**Travis et al., 2015**).

Le ki67, marqueur de prolifération cellulaire, peut être utile pour déterminer l'agressivité d'une tumeur. En effet, le taux de ki67 est plus élevé pour le CBPC et le CNEGC et moyen à bas pour les carcinoïdes. Ceci a permis de distinguer les tumeurs de haut grade (le CBPC et le CNEGC), des tumeurs de grade bas (CT) à intermédiaire(CA) (**Travis et al., 2015**).



**Figure 2.** Histologie des tumeurs neuroendocrines pulmonaires. (A) Carcinoïde typique (CT) (hématoxyline et éosine, 20 ×) ; (B) carcinoïde atypique (CA) (hématoxyline et éosine, 20 ×); (C) carcinome neuroendocrinien à grandes cellules (CNEGC) (hématoxyline et éosine, 10 ×); (D) carcinome à petites cellules (CBPC) (hématoxyline et éosine, 10 ×) (**Luisella et al., 2017**).

**Les tumeurs carcinoïdes typiques** sont des tumeurs fréquentes, bien différenciées, de malignité de grade bas et indolentes du poumon. Elles présentent un faible indice mitotique

inférieur à 2 mitoses/2 mm<sup>2</sup> (10 champs à fort grossissement ou HPF) sans nécrose, et mesurent au moins 0,5 cm (**Tableau I**). Ce sont des tumeurs hypervascularisées avec un aspect « endocrinoïde ». Les cellules sont régulières au cytoplasme abondant granuleux, disposées en îlots, en palissades, en rosettes ou en travées (**Figure 2**) (**Travis et al., 2015**).

**Les tumeurs carcinoïdes atypiques** sont des tumeurs rares, bien différenciées, de malignité de grade intermédiaire du poumon. Les critères morphologiques de malignité s'appuient sur l'irrégularité cellulaire, la présence d'atypies nucléaires, un indice mitotique élevé compris entre 2 à 10 mitoses/2 mm<sup>2</sup> (10 HPF) et l'existence de nécrose (souvent punctiforme) (**Tableau I**) (**Figure 2**) (**Travis et al., 2015**).

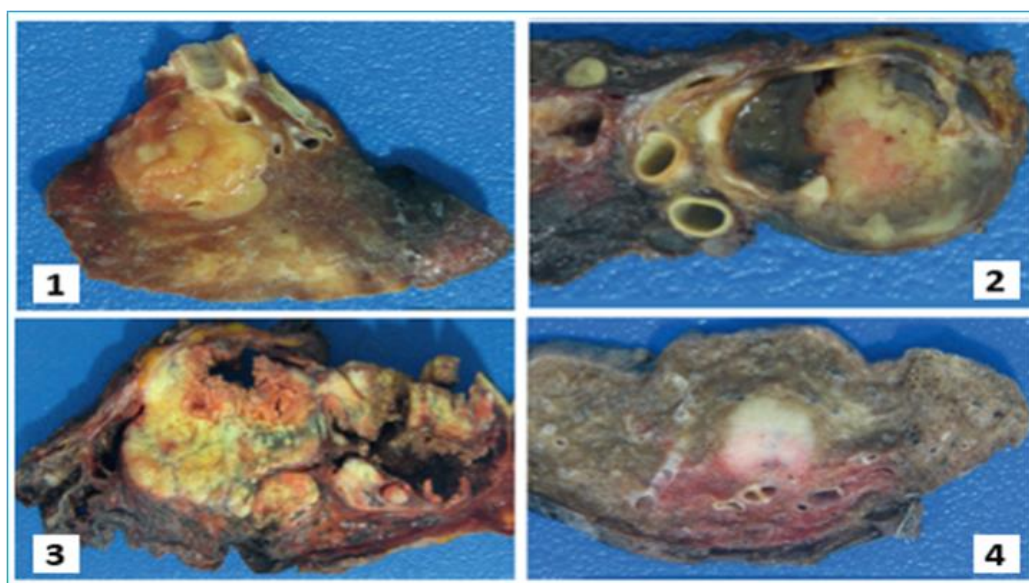
**Les carcinomes neuroendocriniens du poumon à grandes cellules** sont des tumeurs agressives, peu différenciées, de malignité de haut grade du poumon. Les critères morphologiques de malignité s'appuient sur un indice mitotique élevé moyen de 70 mitoses/2 mm<sup>2</sup> (10 HPF) ( $\geq 11$  mitoses/2 mm<sup>2</sup>) et l'existence de nécrose (souvent de larges zones) (**Tableau I**). Les CNEGc sont plus susceptibles de se propager à d'autres parties du corps. Les tumeurs présentent une architecture neuroendocrine en nids, travées, rosettes ou en palissades. Les cellules tumorales sont larges avec un cytoplasme modéré à abondant et un nucléole fréquent (**Figure 2**). Elles sont positives, en immunohistochimie, pour au moins un marqueur neuroendocrine (chromogranine A, synaptophysine et CD56). Le CD56 ou NCAM (*Neural Cell Adhesion Molecule*) est le plus souvent exprimé (plus de 90% des cas) (**Naidoo et al., 2016 ; Travis et al., 2015**).

**Les carcinomes neuroendocriniens du poumon à petites cellules**, ou cancers du poumon à petites cellules, sont aussi des tumeurs agressives, peu différenciées, de malignité de haut grade du poumon et qui se propagent souvent à d'autres parties du corps. Ils sont en général aisément reconnaissables par leur morphologie très caractéristique : un indice mitotique élevé moyen de 80 mitoses/2 mm<sup>2</sup> (10 HPF) ( $\geq 10$  mitoses/2 mm<sup>2</sup>) et l'existence de nécrose fréquente (souvent en larges plages) (**Tableau I**). Les CBPC présentent des cellules de petites tailles avec peu de cytoplasme, un noyau déformé, une chromatine granuleuse et un nucléole absent (**Figure 2**). En immunohistochimie, elles sont positives, en plus des marqueurs neuroendocrines (CD56, chromogranine A et synaptophysine), pour le TTF-1 (*Thyroid-Transcription Factor-1*) dans 90% des cas (**Rouquette Lassalle., 2016 ; Travis et al., 2015**).

**Tableau I.** Classification anatomopathologique des tumeurs neuroendocrines (TNE) pulmonaires selon l'OMS 2015 (**Travis et al., 2015**).

	Carcinoïde typique	Carcinoïde atypique	CNEGC	CPC
Différenciation	Bien différencié	Bien différencié	Peu différencié	Peu différencié
Taille cellulaire	Intermédiaire	Intermédiaire	Intermédiaire à large	Petite à intermédiaire
Indice mitotique	Bas < 2/mm <sup>3</sup>	Intermédiaire 2-10/mm <sup>3</sup>	Haut, médiane : 70 mitoses/2 mm <sup>3</sup>	Haut, médiane : 80 mitoses/2 mm <sup>3</sup>
Marqueurs IH	+++	++ à +++	+ à +++	±
Nécrose	0	+	+++	+++
Ki-67 %	≤ 5 %	5-20 %	50-100 %	80-100 %

CNEGC: carcinome neuroendocrine à grandes cellules ; CPC: Carcinome à petites cellules ; IH: immuno-histochimie.



**Figure 3.** Aspect macroscopique des différents types des tumeurs neuroendocrines pulmonaires. (1) Tumeur carcinoïde typique. Cette tumeur lobée jaune bronzé est associée à une bronche, se développant dans le parenchyme pulmonaire adjacent. Le tissu pulmonaire distal de la tumeur présente une consolidation inégale, probablement due à une obstruction. (2) Pathologie macroscopique d'une tumeur carcinoïde atypique. (3) Pathologie macroscopique du carcinome neuroendocrinien à grandes cellules. Il s'agit d'une grosse tumeur chez un patient souffrant d'emphysème, montrant une surface de coupe jaune bronzée et hémorragique avec de vastes zones de nécrose. (4) Un cancer du poumon à petites cellules réséqué avec une surface de coupe blanc bronzé, trompeusement circonscrite (Alain et Borczuk., 2018).

### I.5.1.2. Classification Tumor-Nodes-Metastasis (TNM)

La conduite thérapeutique est en fonction des types histologiques de la tumeur, du stade auquel les patients sont diagnostiqués, des antécédents, de l'état général et de l'opérabilité du patient (Wissler., 2012). Ainsi, les cliniciens et les pathologistes ont adopté la nouvelle stadification ou classification TNM proposée par l'IASLC (*the International Association for the Study of Lung Cancer*) dans sa 8<sup>ème</sup> édition.

Les critères TNM pour : T (taille des nodules tumoraux), N (envahissement des ganglions lymphatiques) et M (présence ou absence de métastases à distance) se sont basés uniquement sur des facteurs pronostiques. Dans le **Tableau II** sont répertoriées les caractéristiques de cette classification (Kleindienst et al., 2016).

**Tableau II.** Classification TNM du cancer du poumon, 8<sup>ème</sup> édition (Kleindienst et al., 2016).

T-tumeur primaire	TX	<b>Tumeur non évaluable ou mise en évidence de cellules malignes dans les sécrétions bronchiques sans visualisation d'une tumeur à la radiologie ou à la bronchoscopie</b>
	T0	Pas d'indice d'une tumeur primaire
	Tis	Carcinome <i>in situ</i>
	T1	Tumeur de diamètre $\leq 3$ cm, entourée de parenchyme pulmonaire ou de plèvre viscérale, sans mise en évidence bronchoscopique d'une invasion proximale d'une bronche lobaire
	T1a	Tumeur de diamètre $\leq 2$ cm
	T1b	Tumeur de diamètre compris entre $>2$ et $\leq 3$ cm
	T2	Tumeur de diamètre compris entre $>3$ et $\leq 7$ cm Ou envahissement de la bronche principale à $\geq 2$ cm de la carène Ou envahissement de la plèvre viscérale Ou présence d'une atélectasie
	T2a	Tumeur de diamètre compris entre $>3$ et $\leq 5$ cm
	T2b	Tumeur de diamètre compris entre $>5$ et $\leq 7$ cm
	T3	Tumeur de diamètre $>7$ cm ou envahissement de la paroi thoracique, du diaphragme, du nerf phrénique de la plèvre médiastinale, du péricarde pariétal Ou envahissement de la bronche principale à $<2$ cm de la carène (mais sans atteinte de la carène) Ou métastase dans le même lobe pulmonaire
T4	Tumeur de n'importe quelle taille envahissant le médiastin, le cœur, les gros vaisseaux, la trachée, la carène, le nerf laryngé récurrent, l'œsophage, un corps vertébral Ou métastases dans d'autres lobes pulmonaires ipsilatéraux	
N-Ganglions lymphatiques régionaux	NX	Ganglions lymphatiques régionaux non évaluables
	N0	Absence de métastase dans les ganglions lymphatiques régionaux
	N1	Métastases dans les ganglions lymphatiques péribronchiques, hilaires, intrapulmonaires ipsilatéraux
	N2	Métastases dans les ganglions lymphatiques médiastinaux ou sous-carinaux ipsilatéraux
	N3	Métastases dans les ganglions lymphatiques médiastinaux ou hilaires contralatéraux Ou métastases dans les ganglions lymphatiques scaléniques ou sous-claviculaires ipsilatéraux ou contralatéraux

M-Métastases à distance	<b>M0</b>	Absence de métastases à distance
	<b>M1</b>	Présence de métastases à distance
	<b>M1a</b>	Tumeur séparée dans un lobe pulmonaire controlatéral, tumeur avec échappement pleural/péricardique malin
	<b>M1b</b>	Métastases à distance
	<b>M2</b>	

T : fait référence à la taille et à une éventuelle extension locale de la tumeur. N, indique si le cancer s'est étendu aux ganglions lymphatiques (*nodes en anglais*) proches de la tumeur primaire. M, fait référence à la présence de métastases dans d'autres parties du corps. Chaque lettre est suivie d'un chiffre ou d'une autre lettre : Les chiffres de 0 à 4 indiquent le degré d'extension ; La lettre X signifie "ne peut pas être évalué", car l'information n'est pas disponible ; Les lettres 'is', signifiant "*in situ*", peuvent suivre le T et indiquent dans ce cas que la tumeur reste limitée à la couche cellulaire où elle est apparue.

### I.5.1.3. Stadification histologique des TNE pulmonaires

La description TNM du cancer est combinée au processus de groupement par stades. Généralement, dans le cas des cancers bronchiques, la progression tumorale est définie en fonction des stades qui vont de I pour les moins agressifs sans envahissement des ganglions à IV pour les plus agressifs avec présence de métastases (**Hammerschmidt et Wirtz., 2009**). La correspondance entre la classification TNM et les stades du TNE pulmonaire est résumée dans le **Tableau III**.

Les sites de métastases du cancer bronchique sont généralement le cerveau, le foie, les os, les poumons et les glandes surrénales (**Watanabe., 2003**).

**Tableau III.** Stadification des TNE pulmonaire (**Kleindienst et al., 2016**).

STADE		Classification TNM
<b>Carcinome occulte</b>		Tx N0 M0
<b>Stade 0</b>		Tis N0 M0
<b>Stade I</b>	<b>IA</b>	<b>IA1</b> T1a N0 M0
		<b>IA2</b> T1b N0 M0
	<b>IB</b>	T2a N0 M0
<b>Stade II</b>	<b>IIA</b>	T1a N1 M0
		T1b N1 M0
		T2a N1 M0
		T2b N0 M0
	<b>IIB</b>	T2b N1 M0
		T3 N0 M0
<b>Stade III</b>	<b>IIIA</b>	T1 N2 M0
		T2 N2 M0
		T3 N1 M0
		T3 N2 M0
		T4 N0 M0
		T4 N1 M0
	<b>IIIB</b>	T4 N2 M0
		Tout T N3 M0
		Tout T Tout N M1a
<b>Stade IV</b>	Tout T Tout N Tout M1b	

## I.6. Oncogenèse pulmonaire

Les tumeurs neuroendocrines (TNE) prennent naissance dans les cellules du système neuroendocrinien. Les cellules neuroendocrines sont dispersées dans tout le corps. Elles reçoivent des messages (signaux) du système nerveux et y répondent en fabriquant et en sécrétant des hormones. Ces hormones contrôlent de nombreuses fonctions de l'organisme, comme la digestion et la respiration.

Des modifications génétiques et épigénétiques des cellules neuroendocrines déclenche le processus de la tumorigenèse, qui comporte plusieurs étapes successives (**Armaiz-Pena et al., 2009 ; Patel et Galoian., 2018**) :

*Les stades précoces* : correspondant aux étapes initiales traduisant l'émergence et le début de la croissance d'un clone néoplasique, ces derniers sont très mal connus. Au niveau moléculaire la pathogénie des tumeurs neuroendocrines s'oriente vers l'implication de nombreux gènes suppresseurs de tumeurs, notamment le gène de la ménine également appelé NEM (La néoplasie endocrinienne multiple) (**Lamouti., 2012**).

*La phase de croissance locale* : correspondant au développement du clone néoplasique dans l'organe qui lui a donné naissance, c'est habituellement à ce stade que les tumeurs neuroendocrines sont identifiées et diagnostiquées. Ces derniers se développent localement en induisant l'élaboration d'un stroma richement vascularisé (**Lamouti., 2012**).

*La phase de dissémination métastatique* : correspondant à la dispersion et à l'essaimage du clone néoplasique dans l'ensemble de l'organisme. Beaucoup de tumeurs se comportent comme des tumeurs bénignes, sans métastase et sans récurrence après exérèse complète. À l'opposé, d'autres se comportent comme d'authentiques tumeurs malignes, comportant un risque de dissémination métastatique et de récurrence (**Lamouti., 2012**).

### I.6.1. Cellules neuroendocrines pulmonaires

Les cellules neuroendocrines pulmonaires (CNEP) sont une population cellulaire unique et mal connue du poumon. Il s'agit de cellules épithéliales rares dérivées de l'endoderme, qui constituent environ 1% de la population cellulaire des voies respiratoires (**Sui et al., 2018**) qui joueraient un rôle important dans le développement pulmonaire et la fonction des voies respiratoires.

Les CNEP sont soit seule ou forment un amas en grappes de 5-15 cellules appelées corps neuroépithéliaux (CNE ou NEB, *Neuroepithelial body*) réparti dans tout l'épithélium de la trachée, les bronches jusqu'aux bronchioles. Elles agissent comme des senseurs d'oxygène et jouent un rôle dans la surveillance de la concentration des gaz dans les voies respiratoires en réponse à l'hypoxie (**Cutz., 2015 ; Edurne Echevarría., 2019**).

Les CNEP et CNE sont principalement innervés par des fibres sensorielles afférentes d'origine vagale et des fibres efférentes avaient un rôle modulateur potentiel (**Linnoila., 2006**).

Les cellules CNEP et CNE présentent des caractéristiques similaires aux caractéristiques des cellules endocrines. Elles contiennent de nombreux granules cytoplasmiques (VND, vésicules à noyau dense) dans lesquels sont stockés plusieurs médiateurs comme : l'énolase neuronique spécifique (NSE), la chromogranine A (CgA), et la sérotonine (5-hydroxytryptamine, 5-HT), le peptide lié aux gènes de la calcitonine (CGRP), le peptide libérant la gastrine (GRP, bombésine de mammifère) et la calcitonine. Elles expriment des marqueurs spécifiques utilisés dans le diagnostic tels que la synaptophysine (SYN) et la molécule d'adhésion des cellules neuronales (NCAM).

Ces médiateurs pourraient être impliqués dans les interactions paracrines locales avec les cellules pulmonaires adjacentes (épithélium des voies respiratoires, cellules musculaires lisses des voies aériennes et vasculaires, fibroblastes et cellules immunitaires / inflammatoires) via divers récepteurs exprimés par ces cellules critiques pour le développement pulmonaire (**Weichselbaum et al., 2005 ; Sveinung.,2007 ; Cutz., 2015**).

Le GRP et le CGRP semblent avoir des effets mitogènes et de maturation. Ils servent de facteurs de croissance pour plusieurs types de cellules pulmonaires et stimulent la différenciation cellulaires (**Pan et al., 2006 ; Sveinung., 2007**). Le CGRP exerce également un effet immunorégulateur et joue un rôle chimiotactique sur les éosinophiles dans les voies respiratoires et en outre inhibe les actions favorisant l'œdème des médiateurs inflammatoires (**Sveinung., 2007**).

### **I.6.2. Gènes et molécules impliqués dans la Tumorigenèse du TNEP**

Des mutations des gènes suppresseurs de tumeurs et des pro-oncogènes des CNEP conduisent à la formation et la progression des TNEP.

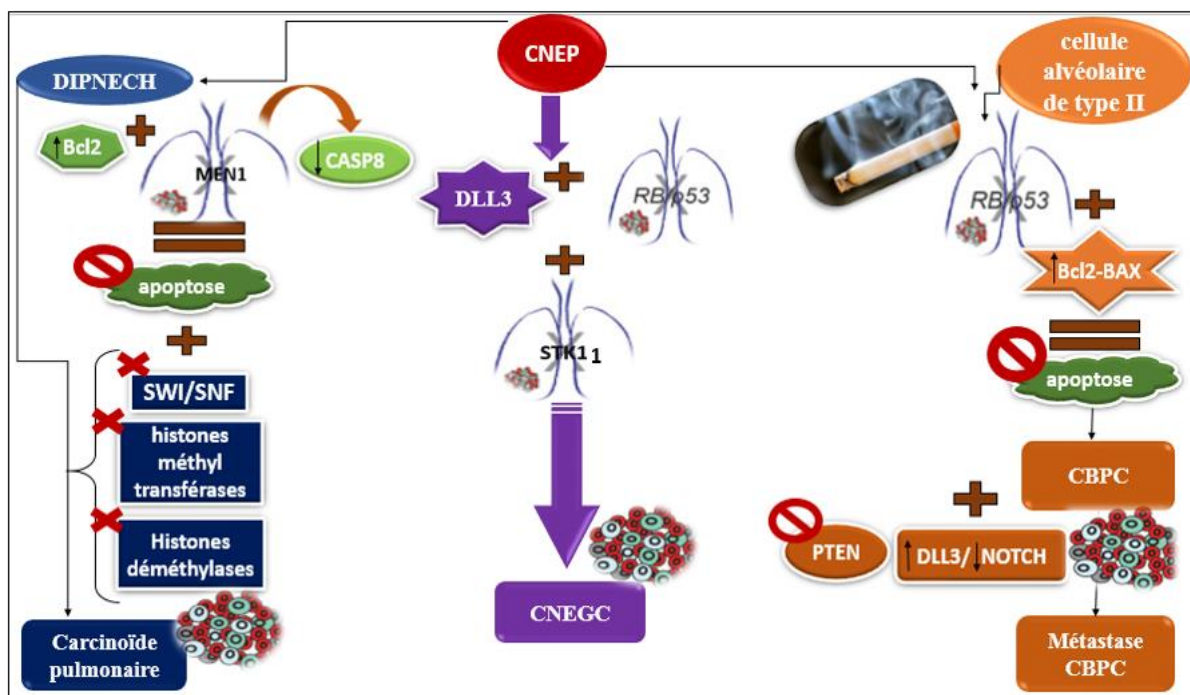
**Les carcinoïdes typiques (CT) et atypiques (CA)** proviennent des DIPNECH (*hyperplasie des cellules neuroendocrines idiopathiques diffuses*), une lésion préinvasive rare. La DIPENCH

est définie comme une hyperplasie des CNEP confinées à l'épithélium respiratoire sans pénétration à travers la membrane basale. Les lésions DIPNECH s'étendant au-delà de la membrane basale sont connues sous le nom de TNE pulmonaire lorsque les agrégats nodulaires de cellules neuroendocrines mesurent  $\geq 0,5\text{cm}$  (Wolin., 2015).

Lorsque cette lésion hyperplasique NE proliférante acquiert une résistance aux mécanismes apoptotiques, reflétée par l'augmentation des taux de Bcl-2(*B cell lymphoma*), une transition vers un stade tumoral est initiée (Figure 4) (Swartz et al., 2012).

Les étapes ultérieures de la progression des carcinoïdes peuvent inclure l'abrogation de la voie de Menin (néoplasie endocrine multiple 1) qui est une protéine suppresseur de tumeur. La Menin 1 joue un rôle important dans le contrôle du cycle cellulaire et l'apoptose par régulation à la hausse de l'expression du gène CASP8 (*cysteine-aspartic acid protease*) et inhibe ainsi la prolifération. L'abrogation de la voie de Menin représente ainsi la première anomalie pathogénique définie pour ce type de tumeur (Figure 4) (Swartz et al.,2012).

Le remodelage de la chromatine est la voie la plus fréquemment affectée chez les carcinoïdes pulmonaires avec des altérations des sous-unités du complexe SWI/SNF (*switch/sucrose non-fermenting*). Il est suggéré que l'inactivation de la voie de remodelage de la chromatine a un rôle exclusif et suffisant dans le développement précoce des tumeurs carcinoïdes. Les altérations des histones méthyltransférases et des déméthylases ont également été fréquemment rapportés dans ces lésions (Figure 4) (Sung et al., 2020).





**Figure 4.** Schéma récapitulatif de la physiopathologie des TNE pulmonaires. CNEP : cellule neuroendocrine pulmonaire ; DIPNECH : L'hyperplasie des cellules neuroendocrines idiopathiques diffuses ; CBPC : cancer broncho-pulmonaire à petites cellules ; CNEGC : carcinome neuroendocrine à grandes cellules (**Originale**).

**La cancérogenèse CBPC** peut se produire par diverses voies qui perturbent les mécanismes normaux de réparation de l'ADN. Les mutations courantes dans les CBPC incluent la perte du gène suppresseur de tumeur de RB1 (*rétinoblastome*) et les mutations TP53 (*tumor protein 53*) qui diminuent l'activité pro-apoptotique des cellules cancéreuses (**Basumallik et Agarwal., 2019**).

Des perturbations dans le bon fonctionnement de ces gènes sont souvent induites par des composés mutagènes de la fumée de cigarette. La cellule d'origine pour le CBPC est une CNEP dans la majorité des cas, mais peut également être une cellule alvéolaire de type II. Quel que soit le type d'origine de la cellule, cette cellule reste phénotypiquement normale tout en acquérant des dommages génétiques (**Swarts et al., 2012**).

**Sutherland et al.** (2016) ont montré que la perte de Tp53 et de Rb1 pouvait transformer efficacement les cellules alvéolaires type II et neuroendocrines en cellules CBPC (**Takaaki et al.,2016**).

La famille des protéines de poche pRb interagit avec une myriade de facteurs de transcriptions et de cofacteurs se liant à l'ADN nécessaires à la progression du cycle cellulaire, à l'auto-renouvellement, à l'apoptose, à la sénescence et à la différenciation cellulaire (**Swarts et al., 2012**).

L'évasion de l'apoptose doit être essentielle pour que ces tumeurs se développent. Cependant, la voie de l'apoptose intrinsèque, impliquant les gènes Bcl2 et Bax (*Bcl-2 associated X*), est plus souvent inhibée dans les TNE de haut grade, et en particulier les CBPC. Ceci représente un événement précoce, pouvant précéder les altérations de p53 (**Figure 4**) (**Swarts et al.,2012**)

La progression du CBPC nul Tp53 / Rb1 peut être accélérée par la perte supplémentaire de PTEN (*phosphatase and TENsin homolog*) qui a récemment été proposée comme un événement génétique fréquent mais tardif pendant la tumorigenèse du CBPC (**Cheung et Nguyen., 2015**). Le PTEN est un suppresseur de tumeur critique dans la pathogenèse des CBPC puisqu'il régule les interactions cellulaires avec la matrice extracellulaire et stabilise le génome dans le noyau (**Takaaki et al., 2016**).

D'autres molécules semblent contribuer à la tumorigenèse de CBPC telle que la DLL3 (*protéine Delta-like 3*), un inhibiteur de la voie Notch, impliquée spécifiquement dans la différenciation cellulaire neuroendocrine (**Figure 4**) (**Scott., 2016**).

Les CNEGC impliquent en plus des gènes TP53, RB1 et DLL3 des mutations du gène STK11 (*sérine-thréonine kinase11*), ce dernier est un gène suppresseur de tumeur, qui affecte divers voies cellulaires, notamment le métabolisme cellulaire, la pluripotence et la plasticité phénotypique. Ces rôles fonctionnels de STK11 peuvent contribuer à une différenciation dérégulée et à un phénotype clinique agressif de CNEGC (**Figure 4**) (**Rekhtman et al.,2016 ; George et al., 2018**).

### **I.6.3. Rôle de la chromogranine A, de la Synaptophysine et du CD-56 dans la pathogénèse pulmonaire**

**La chromogranine A (CgA)**, une protéine acide hydrophile de la famille des granines des protéines sécrétoires omniprésentes dans le système nerveux, endocrinien et immunitaire. La chromogranine A est une pro-hormone qui est différenciellement transformée en peptides et qui régulent une gamme de fonctions biologiques telles que la prolifération cellulaire, l'angiogenèse et la sécrétion hormonale. Le taux de CgA est élevé dans certaines conditions pathologiques comme les néoplasmes neuroendocriniens bronchopulmonaires. (**Giovinazzo et al., 2013**).

Des études récentes ont montré le rôle de la CgA dans la progression tumorale. Il semble que la CgA joue un rôle pro-angiogénique par activation du VEGF (*vascular endothelial growth Factor*) (**Sushil et Angelo., 2019**).

**La synaptophysine** est une glycoprotéine qui fait partie intégrante de la membrane granulaire sécrétoire neuroendocrine (**Bhargava et Dabbs., 2011**).

La fonction de la synaptophysine dans les tumeurs neuroendocrines est insaisissable, mais il a été supposé qu'elle peut avoir un rôle dans la biogenèse et le recyclage des vésicules (**Anne-Marie et Jakobsen Ola.,2006 ; Tomita.,2020**).

**Le CD56 ou NCAM (molécule d'adhésion aux cellules neurales)** est un groupe de glycoprotéines de surface cellulaire impliquées dans l'adhésion directe cellule-cellule (**tascilar et al., 2007**).

Il semble que le CD56/NCAM joue un rôle dans la propagation métastatique (**Lantuejoul et al., 1998**).

## I.7. Présentation clinique, diagnostic et thérapies des TNE Pulmonaires

### I.7.1. Présentation clinique

Les symptômes cliniques des TNE pulmonaires dépendent de la localisation de la tumeur. La localisation est centrale dans environ 75% des cas pour les carcinoïdes et dans environ 95% des cas pour le CBPC. Les patients atteints de CBPC présentent des signes d'altération de l'état général (asthénie, anorexie, amaigrissement) et des signes locorégionaux thoraciques liés aux masses tumorales importantes comme une hémoptysie, une toux ou une obstruction bronchique proximale ou un syndrome cave supérieur, des douleurs thoraciques, des pneumonies récidivantes ou un stridor (**Babakoohi et al., 2013**). Les patients atteints de carcinoïdes sont pour la plupart symptomatiques et peuvent se présenter avec des hémoptysies, une toux chronique, de la fièvre, des douleurs thoraciques, une dyspnée, un wheezing unilatéral ou des infections récurrentes. Toutefois, selon les séries, 20 à 50% des CB sont asymptomatiques et découverts fortuitement. Le CNEGC a, quant à lui, une localisation périphérique dans 80–85% des cas et il donne donc bien plus rarement lieu aux symptômes décrits précédemment, mais plutôt à des symptômes pseudo-grippaux non spécifiques ou à des sueurs nocturnes (**Naidoo et al., 2016**).

Une tumeur neuroendocrine est dite fonctionnelle lorsqu'elle s'associe à un syndrome d'hypersécrétion hormonale ectopique, qui provoque des symptômes supplémentaires spécifiques à l'hormone libérée. Des syndromes paranéoplasiques surviennent le plus fréquemment en cas de CBPC, plus rarement en cas de carcinoïdes (1–3% des cas) et inhabituelle dans le CNEGC. Les TNE pulmonaires constituent la cause la plus fréquente de sécrétion ectopique d'ACTH (*Adreno CorticoTropic Hormone*). Le syndrome de Cushing qui en résulte se manifeste entre autres par une hypokaliémie, une alcalose métabolique, une condition métabolique diabétique, une tendance aux oedèmes ou une faiblesse musculaire. Par ailleurs, une sécrétion ectopique de sérotonine peut être responsable d'un syndrome carcinoïde s'accompagnant de flush, tachycardie, hypertension, bronchospasme et diarrhée. Parmi les autres syndromes paranéoplasiques possibles figurent une acromégalie causée par une sécrétion ectopique de GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*) ou le syndrome de sécrétion inappropriée d'hormone antidiurétique (SIADH), qui survient avant tout en cas de CBPC. Le SIADH se manifeste par une hyponatrémie euvolémique et par une osmolarité sérique réduite pouvant aller jusqu'à des symptômes neurologiques, tels que des convulsions ou des états comateux (**Kleindienst et al., 2016 ; Pellat et al., 2016**).

### I.7.2. Diagnostic

La tomodensitométrie (TDM), dite aussi scanographie, avec injection de produit de contraste constitue l'examen de référence pour le diagnostic des TNE pulmonaires. Pour le prélèvement de tissus en vue de l'examen histopathologique, la biopsie peut être réalisée par voie transbronchique en cas de tumeurs de localisation centrale et par voie transthoracique en cas de tumeurs de localisation périphérique (**Kleindienst et al., 2016 ; Pellat et al., 2016**).

Le diagnostic histologique repose sur des arguments histologiques, histochimiques et immuno-histochimiques. Il existe aujourd'hui une large gamme de marqueurs permettant l'identification des cellules neuroendocrines tumorales, qui peut être répartie en plusieurs groupes.

Les marqueurs neuroendocrines proprement dits sont associés aux grains de sécrétion contenant les hormones endocrines, le plus utilisé étant la chromogranine A. Il est cependant parfois nécessaire d'y associer un second marqueur, commun aux cellules endocrines et aux neurones : le plus utilisé est la synaptophysine, une protéine de la membrane des vésicules synaptiques stockant les neuromédiateurs.

Le diagnostic anatomopathologique repose également sur la détermination du profil hormonal. Une forte proportion de tumeurs neuroendocrines est capable de synthétiser et/ou de sécréter une ou plusieurs hormones (sérotonine, calcitonine, gastrine, somatostatine, insuline...). Elles peuvent être détectées par immunohistochimie, hybridation *in situ*, ou encore PCR pour identifier la présence d'ARN messagers. Cependant il est essentiel de corréler ces données aux données cliniques (existence d'un syndrome d'hypersécrétion hormonale) et aux résultats des dosages hormonaux dans le sang périphérique (**Kleindienst et al., 2016 ; Pellat et al., 2016**).

Cependant, un dosage biochimique sérique de la chromogranine A et de l'énolase spécifique des neurones (NSE) est recommandé. D'autres dosage sérique et urinaire sont nécessaires en cas de suspicion un syndrome paranéoplasique. Ainsi, un syndrome carcinoïde pourrait être mis en évidence sur la base de la concentration d'acide 5-hydroxyindolacétique dans les urines de 24 heures ; une acromégalie peut être objectivée par une concentration sérique accrue de GnRH (*gonadotropin-releasing hormone*) ou d'IGF1 (*insulin-like growth factor 1*) (**Kleindienst et al., 2016 ; Pellat et al., 2016**).

### I.7.3. Thérapies

Au cours des trois dernières décennies, il n'y a pas eu d'avancée thérapeutique majeure dans la prise en charge des tumeurs neuroendocrines pulmonaires.

**La résection chirurgicale** avec préservation maximale du parenchyme pulmonaire représente le traitement curatif de choix en cas de tumeurs de stades I et II, et semble être associée à une survie plus longue. Elle peut être également proposée en cas de réponse ganglionnaire significative après une chimiothérapie néoadjuvante comme dans le cas des CNEGC (Kleindienst et al., 2016 ; Roesel et al., 2016).

En cas de tumeurs de localisation périphérique, il convient de réaliser une segmentectomie ou une lobectomie avec lymphadénectomie régionale. En cas de tumeurs de localisation centrale, la résection en manchon, également accompagnée d'une lymphadénectomie régionale, représente la technique chirurgicale de choix) (Kleindienst et al., 2016 ; Pellat et al., 2016).

Toutefois une grande partie des patients ne sont donc pas éligibles à un traitement chirurgical puisque la majorité des patients sont diagnostiqués à des stades avancés III et IV ou présentent des métastases ganglionnaires lymphatiques et des métastases à distance. Ainsi, une **chimiothérapie systémique** peut être envisagée en cas de progression tumorale. Une association **radiothérapie-chimiothérapie** pourrait être envisagée en cas de formes localisées non résécables de tumeurs. Il existe trois types d'association radiothérapie-chimiothérapie : séquentielle (la chimiothérapie précède la radiothérapie thoracique), alternée (la radiothérapie est délivrée entre les cures de chimiothérapie sans réduction de doses), et concomitante (les deux traitements sont administrés simultanément). L'association radiothérapie-chimiothérapie de façon concomitante s'avère meilleure dans le cas des CBPC (Le Pechoux et al., 2006 ; Slotman et al., 2015).

De même, en cas de métastases non résécables, des procédés ablatifs locaux, tels qu'une ablation par **radiofréquence** ou **une (chimio-) embolisation transartérielle**, peuvent être utilisés. Pour les patients asymptomatiques présentant un faible indice de prolifération de la tumeur, une stratégie attentiste avec des contrôles d'imagerie étroits tous les 3–6 mois s'avère possible (Kleindienst et al., 2016).

Parmi les autres options thérapeutiques disponibles figurent **les analogues de la somatostatine** et **la thérapie radionucléide** par récepteur de peptide. **Les analogues de la somatostatine** sont envisagés dans le cas des tumeurs à activité hormonale dans le but de contrôler les symptômes provoqués par la sécrétion hormonale. Chez les patients symptomatiques atteints de tumeurs carcinoïdes à activité hormonale, les analogues de la

somatostatine (octréotide, lanréotide) permettent d'obtenir une rémission dans jusqu'à 10% des cas, une stabilisation de la maladie dans 30–50% et un contrôle des symptômes provoqués par la sécrétion hormonale dans 30–60% des cas (**Kleindienst et al., 2016**).

Des **thérapies moléculaires ciblées et des immunothérapies** sont aussi envisageables dans le cas des TNE pulmonaires. Cependant, plusieurs essais n'ont montré aucun bénéfice tandis que d'autres semblent être des pistes prometteuses (**Mamdani et al., 2015**).

À titre d'exemple, une étude de phase II randomisée prospective sur des cancers pulmonaires disséminés (CBPC et non CBPC) associant un traitement par ipilimumab (anti-CTLA4) (*Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen-4*) à une chimiothérapie (carboplatine / paclitaxel) montrait une tendance à l'amélioration de la survie sans progression (basée sur des critères de réponse immunologiques) par rapport à une association chimiothérapie et placebo en cas d'administration des deux traitements en alternance (**Reck et al., 2013**).

D'autres molécules, telles que le nivolumab et le pembrozilumab (anti-PD-1) (*Programmed Death-1*), ont été étudiées. Une phase I/ II ayant comparé un traitement par nivolumab seul *versus* ipilimumab et nivolumab en deuxième ligne de CBPC, rapportait des taux de réponse globale de 15%, et 20 % respectivement (**Antonia et al., 2015**).

Des inhibiteurs des voies de signalisations impliquées dans les processus d'oncogenèse pulmonaire ont été également testés. **Dong wang et al.** Suggèrent qu'un co-ciblage pharmacologique par combinaison d'inhibiteurs du facteur de transcription ASH-1 (*Achaete-scute homolog 1*) et du récepteur IGF-1R (*Insulin-like Growth Factor-1 Receptors*) semble être plus efficace pour éliminer les cellules tumorales dans le cas des CBPC (**Dong wang et al., 2019**).

Deux gènes se sont révélés être mutés dans les tumeurs carcinoïdes pulmonaires, y compris KIT, ERBB4 (*Erb-B2 Receptor Tyrosine Kinase 4*), ces gènes codent pour des récepteurs tyrosines kinases qui sont des récepteurs de surface cellulaire pour de multiples voies de signalisation. Les mutations de ces gènes sont d'importantes cibles thérapeutiques de médicaments thérapeutiques ciblés moléculaires, tels que les TKIs (*les inhibiteurs de tyrosines kinase*) l'imatinib et le sunitinib (**Xiongfei et al., 2020**).

Dans le cadre de notre étude rétrospective, nous avons opté pour une réalisation de deux études, une rétrospective et une prospective chez les patients atteints de TNE pulmonaire. Ce travail a été réalisé au niveau du service d'anatomie pathologique du CHU Issad Hassani à Beni Messous d'Alger.

La survenue de la pandémie au SARS-Cov2 et l'expansion de la COVID-19 a profondément touché plusieurs secteurs, notamment l'enseignement supérieur et la recherche scientifiques, dans le monde et en Algérie. Dans ces circonstances, exacerbées par le confinement total de la wilaya de Blida et d'Alger, notre travail a pris fin le 12 mars 2020, près d'un mois seulement après le début de notre stage au CHU Issad Hassani à Beni Messous d'Alger.

Notre travail a porté sur l'étude de l'apport de l'immunohistochimie dans le diagnostic, la classification histologique de tumeur neuroendocrine pulmonaire (TNEP) chez des patients Algériens. Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée sur 67 patients atteints de TNEP diagnostiqués entre 2017 et 2019.

Une étude prospective a été prévue pour l'année en cours 2020 et que nous n'avons pas pu la réaliser.

## **II.1. Matériel**

### ***II.1.1. Matériel non Biologique***

L'appareillage, les réactifs sont cités en *Annexe I*.

### ***II.1.2. Matériel Biologique***

- Biopsies bronchiques et ponctions transpariétales pulmonaires.
- Anticorps primaires : trois anticorps monoclonaux primaires ont été utilisés pour l'immunohistochimie :
  - Anti-Chromogranine A (*monoclonal mouse anti human Chromogranin A, cat. Nos. GA053, M0869 ; DAKO, Glostrup, Denmark*)
  - Anti-Synaptophysine (*monoclonal mouse anti human Synaptophysin, M7315, DAKO, Glostrup, Denmark*)
  - Anti-CD-56 (*monoclonal mouse anti-human CD-56, M7304, DAKO, Glostrup, Denmark*).
- Anticorps secondaire conjugué à la horseradish peroxidase (HRP) Anti-souris (EnVision + System polymère marqué HRP, K4000 Dako ; Kyoto, Japon)

### II.1.3. Patients

#### A. Critère d'éligibilité des patients

67 patients dont 13 femmes et 54 hommes âgés de 18 à 88 ans ont été inclus dans notre étude. Ces derniers ont bénéficié d'une fibroscopie bronchique ou une ponction transpariétale avec des résultats anatomopathologiques en faveur d'une TNEP primaire ou secondaire.

Les patients ayant un âge inférieur à 18 ans ont été exclus de cette étude.

#### B. Collecte des données

Les données épidémiologiques (âge, sexe) et anatomopathologiques (type histologique et profil immunohistochimique) de l'étude rétrospective ont été obtenues après étude des dossiers cliniques et des comptes rendus anatomopathologiques de 67 patients. Toutes ces données ont été colligées dans une base de données Excel.

## II.2. Méthodes

### II.2.1. Etude anatomopathologique

L'examen anatomopathologique constitue la base du diagnostic et du traitement des cancers (Chorneyko et Butany., 2008).

Les prélèvements (biopsies pulmonaires) sont fixés au formol tamponné à 10% par le chirurgien immédiatement après excision. Ils sont par la suite emmenés au laboratoire d'anatomie pathologique du CHU de Beni Messous.

Une fois fixés, les prélèvements subissent les différents traitements histologiques permettant d'obtenir des coupes histologiques colorées à l'hématoxyline-éosine ou ciblés par une étude immunohistochimique, dans notre cas nous avons utilisé les marqueurs de TNEP, la Chromogranine A, la Synaptophysine et le CD-56 (NCAM).

#### II.2.1.1. Etude histologique par coloration à l'hématoxyline-éosine (H-E)

**Tableau IV.** Circuit de la batterie de déshydratation et d'imprégnation du tissu à la paraffine (Originale).

Etapes	Réactifs	Durée
<b>Fixation</b>	Formol tamponné à 10%	1h
<b>Déshydratation</b>	1 bain d'éthanol 70°	6h



	1 bain d'éthanol 80°	6h
	1 bain d'éthanol 95°	6h
	3 bains d'éthanol 100°	6h x3
<b>Inclusion</b>	3 bains de xylène	3h x3
	3 bains de paraffine	3hx3

### A. Fixation

La fixation est une étape essentielle de l'étude histologique. Elle permet de conserver les tissus dans un état aussi proche que possible de l'état vivant et de s'opposer à l'autolyse tissulaire et à la putréfaction. Les structures sont figées et les antigènes immobilisés *in situ*, afin qu'ils ne soient pas altérés par les différents bains réactionnels. Cette étape doit se faire immédiatement après le prélèvement pour éviter l'autodigestion des tissus et la contamination par des microorganismes.

Une fois au laboratoire, les biopsies pulmonaires sont mises dans des cassettes en plastiques sur du papier joseph puis fixées dans du formol tamponné à 10% pendant 2 à 5 heures. Le temps court de fixation et l'utilisation papier Joseph reviennent à la petite taille des biopsies (0,5 à 2 mm) (**Figure 31, Annexe II**).

### B. Déshydratation et inclusion

L'inclusion a pour objectif de remplacer l'eau contenu dans les tissus par de la paraffine afin de réaliser des coupes fines et régulières. Comme la paraffine est hydrophobe, le prélèvement doit d'abord subir une déshydratation par immersion dans des bains d'éthanol (le fixateur est éliminé) de degré croissant 70°, 80°, 95°, et 100° puis dans des bains de solvant miscible à la paraffine comme le toluène ou le xylène (l'alcool est éliminé). Le prélèvement est ensuite inclus dans de la paraffine fondue par chauffage pendant 3h. La paraffine infiltre et enrobe les tissus et leur donne une consistance solide nécessaire à la confection des coupes histologiques fines. Ces étapes sont automatisées dans un appareil de déshydratation et d'imprégnation (LEICA) (**Figure 32, Annexe II**) et sont résumés dans le tableau IV.

Une fois totalement imprégné, le tissu est placé dans un moule contenant de la paraffine fondue (portée à 56/58°C), la chaleur provoque l'évaporation du solvant et les espaces ainsi libérés sont remplis par la paraffine. Après refroidissement, nous procédons au démoulage des blocs de paraffine formés dont les fragments tissulaires sont inclus.

### C. Coupes histologiques et coloration H-E

**Tableau V.** Etapes de coloration hématoxyline- éosine (Originale).

Etapes	Réactifs	Durée
<b>Déparaffinage</b>	Etuve 100°C	5min
	3 bains de toluène	2min x3
<b>Réhydratation</b>	1 bain d'éthanol 100°	2min
	1 bain d'éthanol 95°	2min
	1 bain d'éthanol 80°	2min
	1 bain d'éthanol 70°	2min
	1 bain d'eau distillée	2min
<b>Coloration H-E</b>	Hématoxyline	10min
	Lavage eau	2min
	Eosine	1min
	Lavage eau	2min
<b>Déshydratation</b>	3 bains d'éthanol 100°	45sec x3
	3 bains de Toluène	45sec x3

Les coupes histologiques fines, de 2 à 5  $\mu\text{m}$  d'épaisseur, sont faites à l'aide d'un microtome (LEICA). Les coupes sont ensuite étalées sur des lames de verre préchauffées au bain-marie à 45°C, puis séchées une nuit à 40-45°C ou 1h à 60°C.

Les coupes sont déparaffinées (physique à l'étuve 80°C pendant 5 min et chimique dans 2 bains de toluène pendant 3 min), puis réhydratées dans des bains d'éthanol de degré décroissant (100°,95°,80°,70°) puis dans l'eau distillée (**Tableau V**). Ces étapes sont indispensables puisque les colorants sont en solution aqueuse.

Les coupes histologiques sont colorées à l'hématoxyline-éosine (H-E), une coloration topographique de routine qui permet au pathologiste d'avoir une vue globale de la morphologie des cellules afin de déterminer leur répartition, architecture et structure. C'est une coloration bichromatique composée d'un colorant nucléaire basique, l'hématoxyline, et d'un colorant cytoplasmique acide, l'éosine. L'hématoxyline colore les noyaux en bleu violet tandis que l'éosine colore les cytoplasmes en rose.

Les coupes sont d'abord colorées par l'hématoxyline pendant 10 minutes puis à l'éosine pendant 1 min. Elles sont rincées après chaque coloration pour éliminer l'excès des colorants. (**Figure 33.34, Annexe II**).

Ensuite, les coupes sont déshydratés grâce à 3 bains d'alcool 100° suivis de 3 bains de toluène pendant 45 sec chacun. Les lames sont montées par des lamelles de verre par-dessus (grâce à des résines synthétiques Eukit) afin de préserver les coupes colorées. Les lames ainsi

montées peuvent être conservées et archivées pendant plusieurs dizaines voire plusieurs centaines d'années.

#### ***D. Observation microscopique***

Le diagnostic des TNEP est basé sur la lecture et l'interprétation des lames histologiques par l'expert pathologiste. Une bonne maîtrise des notions de base d'anatomie, d'histologie et de physiologie est nécessaire afin de discerner les lésions tumorales des lésions non tumorales pour établir un diagnostic définitif et déterminer le type de cancer. (**Figure 41, Annexe II**).

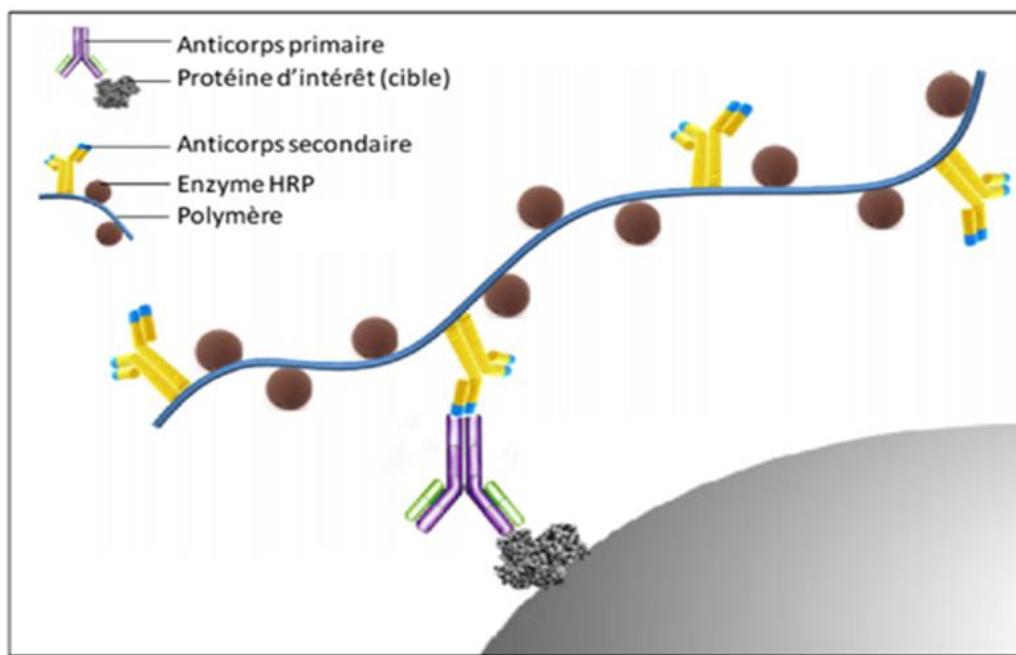
Bien que l'affirmation du diagnostic de TNEP nécessite dans la majorité des cas une étude immunohistochimique, il est dans certains cas clair juste avec la coloration H-E.

#### **II.2.1.2. Etude immunohistochimique (IHC)**

L'immunohistochimie ou « IHC » est une méthode de localisation *in situ* de protéines dans les cellules d'une coupe de tissu.

Elle est basée sur une réaction spécifique immunologique de type antigène-anticorps permettant la détection des protéines (antigène) cellulaires au moyen d'anticorps monoclonaux ou polyclonaux. Le complexe anticorps-antigène (anticorps primaire) peut être visualisé par un anticorps secondaire conjugué à une enzyme (peroxydase) qui peut catalyser une réaction de production de couleur visualisable en lumière blanche du microscope optique (**Clifton et al., 2015 ; Kim et al., 2016**).

Plusieurs systèmes de révélation/ amplification sont utilisés en IHC. Le système avec polymère est celui utilisé dans notre étude. Il s'agit d'une technique en deux étapes, incubation de l'anticorps primaire dirigé contre l'antigène d'intérêt, puis incubation de l'anticorps secondaire directement couplé au polymère de type micropolymère sur lequel les marqueurs sont fixés (**Figure 5**).



**Figure 5.** Schéma récapitulatif du principe d'immunohistochimie basé sur la méthode des polymères (Cordonnier, 2010).

Une analyse immunohistochimique ciblant les marqueurs spécifiques de TNEP, la Chromogranine A, la Synaptophysine et le CD-56 (NCAM) a été réalisée. Dans ce qui suit le protocole détaillé de cette méthode :

**Tableau VI.** Etapes de l'immunohistochimie (IHC) (Originale).

Etapes	Réactifs	Durée
<b>Déparaffinage</b>	Etuve 50°C	24h
	4 bains de toluène	5min x4
<b>Réhydratation</b>	1 bain d'éthanol 100°	5min
	1 bain d'éthanol 95°	5min
	1 bain d'éthanol 80°	5min
	1 bain d'éthanol 70°	5min
	1 bain d'eau distillée	5min
<b>Démasquage antigénique</b>	Tampon pH6 à 95°C	40min
	Lavage d'eau distillée	2min
<b>Blocage des peroxydases endogènes</b>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	5min
	3 Lavages TBS	5min x3
<b>Dépôt d'anticorps et révélation</b>	Anticorps primaires anti-Chromogranine, anti-Synaptophysine, anti-CD-56	1h
	3 Lavages TBS	5min x3
	Anticorps secondaire	15min

	3 Lavages TBS	5min x3
	DAB+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	10min
	3 Lavages TBS	5min x3
<b>Contre coloration à l'hématoxyline</b>	Hématoxyline	10min
	Lavage d'eau distillée	10min
	3 bains éthanol 70°, 80°, 95°	5min
	3 bains d'éthanol 100°	5min
	3 bains de Toluène	45sec x3

### *A. Coupes histologiques*

À l'aide d'un microtome, des coupes histologiques de **4µm** d'épaisseur sont obtenues à partir des blocs de prélèvements pulmonaires inclus en paraffine. Les coupes sont ensuite étalées sur des lames silanisées dans un bain Marie qui contient de l'eau chauffée à 45°C. Le numéro du bloc et l'anticorps utilisé sont mentionnés sur la lame à l'aide d'un crayon.

### *B. Déparaffinage et réhydratation*

La paraffine est éliminée par incubation des lames histologiques dans une étuve à 50°C pendant 24h suivie par un passage dans 4 bains de toluène pendant 5 min. Les lames sont ensuite réhydratées dans des bains d'alcool éthylique à concentration décroissante (100°, 95°, 80°, 70°) pendant 5min chacun. Enfin, les lames sont rincées à l'eau distillée (**Tableau VI**). (**Figure 35, Annexe II**).

### *C. Démasquage antigénique*

Cette étape permet aux antigènes de retrouver leur conformation protéique initiale et les rendre accessibles aux anticorps. Elle consiste à prétraiter les lames avec une solution tampon à pH 6 pendant 40 min à 95°C dans le but de démasquer l'antigène d'intérêt (Chromogranine A, Synaptophysine ou CD-56). Après refroidissement, les lames sont lavées à l'eau distillée. Une chambre humide doit être préparée afin de déposer les lames dessus après avoir encercler les coupes histologiques à l'aide d'un Dakopen®. (**Figure 36, Annexe II**).

### *D. Blocage des peroxydases endogènes*

L'activité des peroxydases endogènes, qui pourrait interférer avec celles des peroxydases exogènes apportées lors de la réaction, est bloquée en déposant à l'obscurité du peroxyde

d'hydrogène l' $H_2O_2$  sur les lames pendant 5 min. Jouant le rôle de substrat de l'enzyme, l' $H_2O_2$  va être consommé par les enzymes endogènes qui seront alors inactives. Cette étape est suivie par trois lavages successifs avec du tampon TBS (*Tris-Buffered Saline*) pendant 5 min. (**Figure 37, Annexe II**).

#### *E. Dépôt d'anticorps et révélation*

Les anticorps primaires utilisés sont des anticorps monoclonaux Dako® d'origine souris, spécifiques aux protéines suivantes : la Chromogranine A, la Synaptophysine et le CD-56. La Chromogranine A et la Synaptophysine sont diluées au 1/200<sup>ième</sup> et le CD-56 est dilué au 1/50<sup>ième</sup>, ils sont ensuite déposés sur les lames. Les lames sont incubées 1 heure à température ambiante et à l'obscurité, puis rincées trois fois avec du tampon TBS pendant 5 min. (**Figure 38, Annexe II**).

L'anticorps secondaire utilisé est un anticorps polymère d'origine souris. Il est couplé à l'enzyme HRP. Il est déposé directement sur la lame et incubé pendant 15 min puis lavé 3 fois avec du tampon TBS pendant 5 min. (**Figure 39, Annexe II**).

La révélation a été réalisée à l'aide du chromogène DAB (3,3'-diaminobenzidine) en présence du substrat de l'enzyme HRP, le  $H_2O_2$ , à l'obscurité pendant 10 min. Le DAB forme un dépôt marron (positif) lorsqu'il réagit avec la peroxydase. Des lavages (3x) sont effectués avec du TBS. (**Figure 39, Annexe II**).

#### *F. Contre coloration*

La contre coloration des coupes histologiques a été réalisée par l'hématoxyline pendant 10 min. Elle permet de colorer les noyaux, les cytoplasmes et les membranes qui n'ont pas été révélés par les anticorps. Elle est suivie par un rinçage à l'eau pendant 10 min, une déshydratation dans des bains de degrés croissants d'alcool éthylique (70°, 80°, 95°, 100°) pendant 5 min, et un éclaircissement dans du toluène. Les lames sont ensuite montées à l'aide de l'Eukitt pour préserver les colorations (**Tableau VI**). (**Figure 40, Annexe II**).

Les lames ont été observées au microscope photonique et interprétées par le médecin anatomopathologiste pour définir la différenciation tumorale, caractériser la tumeur, le stade et le type histologique de cancer.

Le présent travail est une étude rétrospective menée au service d'anatomopathologie du CHU Issad Hassani à Beni Messous d'Alger sur une période de 3 ans, allant du mois de Janvier 2017 au mois de décembre 2019 incluant tous les patients présentant une TNE pulmonaire. Les résultats vont être interprétés et discutés simultanément et présentés en deux volets :

- Dans le premier volet nous allons présenter les caractéristiques épidémiologiques des patients après une analyse des dossiers archivés au niveau du service d'anatomopathologie, dont 67 dossiers de patients ont été inclus.
- Dans le deuxième volet nous présenteront les résultats anatomopathologiques et immunohistochimiques des patients atteints de TNE pulmonaire ciblant la chromogranine A, la synaptophysine et le CD-56.

Nous allons aussi enrichir notre étude par une analyse d'articles de recherche portant sur l'anatomopathologie du TNE pulmonaire.

### III. Résultats et discussion

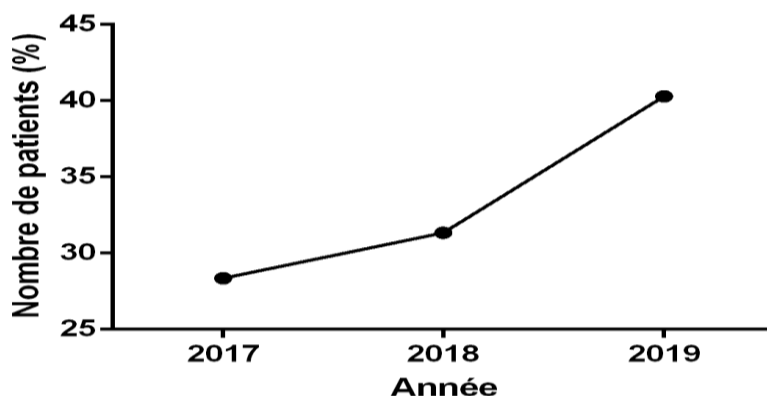
#### III.1. Résultats cliniques

Les données épidémiologiques (âge, sexe) ont été colligées après une analyse rigoureuse de dossiers des patients atteints de TNE pulmonaire des 3 années 2017, 2018 et 2019.

##### III.1.1. Fréquence de TNEP sur 3 années

**Tableau VII.** Répartition des patients atteints d'un TNE pulmonaire entre 2017 et 2019.

Année	2017	2018	2019
% (Cas)	28.35 % (19)	31.34% (21)	40.29% (27)



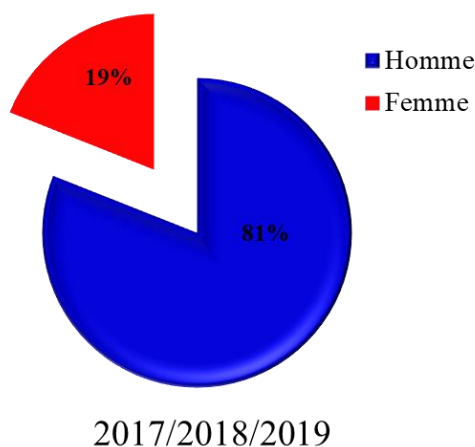
**Figure 6.** Répartition du nombre de nouveaux cas entre 2017 et 2019.

Durant la période concernée par notre étude, du mois de Janvier 2017 jusqu'au mois de décembre 2019, 67 patients porteurs de TNE pulmonaire étaient pris en charge par le service d'anatomopathologie. Avec une moyenne de 22,33 patients/année, le maximum de cas était enregistré en 2019, et le minimum en 2017 avec respectivement 27 et 19 patients (**Tableau VII, Figure 6**).

L'augmentation de l'incidence de la TNE pulmonaire pourrait être due à une utilisation accrue des procédures d'imagerie/endoscopie et à l'utilisation de méthodes de diagnostic plus spécifiques, à une sensibilisation accrue des TNE chez les cliniciens et les pathologistes, et/ou à une augmentation réelle de la fréquence des maladies (**Cai et al., 2016 ; Kinslow et al., 2019**).

### III.1.2. Répartition selon le sexe

Une prédominance masculine a été notée chez les patients atteints de TNEP et ce durant les 3 années de l'étude rétrospective. Parmi les 67 patients, 54 cas étaient de sexe masculin et 13 cas de sexe féminin, avec des pourcentages respectifs de 81% et de 19% (**Tableau VIII, Figure7**). Le sexe ratio H/F est donc de 4,15.

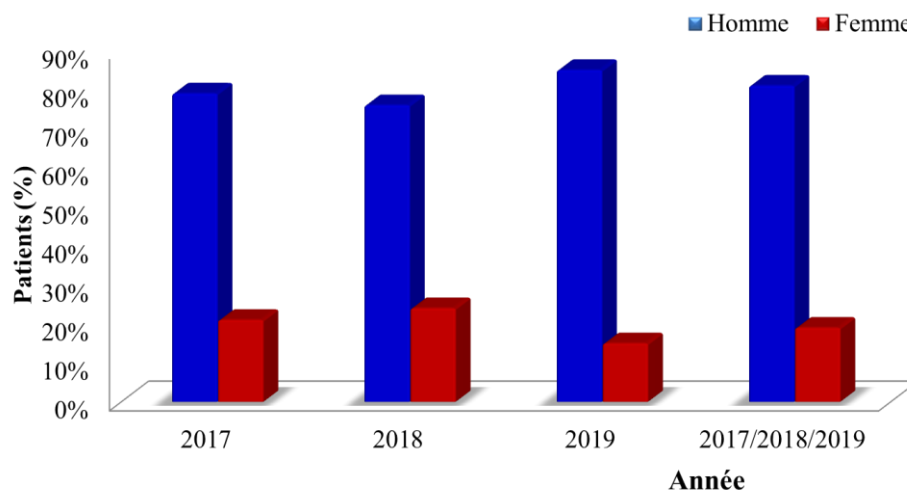


**Figure 7.** Répartition des patients atteints d'une TNE pulmonaire selon le genre.

**Tableau VIII.** Répartition des patients atteints d'une TNE pulmonaire selon le genre.

Année/Genre	Homme % (nombre de cas)	Femme% (nombre de cas)	Total
2017	79 % (15)	21% (4)	19
2018	76 % (16)	24% (5)	21
2019	85% (23)	15% (4)	27
2017/2018/2019	81% (54)	19% (13)	67





**Figure 8.** Répartition des patients atteints d'une TNE pulmonaire selon le genre en fonction des années.

La prédominance masculine a été observée durant les 3 années. Ainsi, en 2017, sur 19 patients atteints de TNE pulmonaires, 15 étaient des hommes (79%), contre 4 femmes (21%), soit un sexe ratio H/F de 3,75. En 2018, 21 cas de TNE pulmonaire ont été diagnostiqués dont 16 cas étaient des hommes (76%) et 5 cas étaient des femmes (24%) soit un sexe ratio H/F de 4, 2. En 2019, les cas de TNE pulmonaire ont connu une hausse où nous avons enregistré 27 cas dont 23 cas étaient des hommes (85 %) et 4 cas étaient des femmes (15%) soit un sexe ratio H/F de 5,75 (**Tableau VIII, Figure 8**).

Nos résultats concordent avec plusieurs travaux de recherche parmi ceux de **Saber et al.** (2018) qui ont également noté une prédominance masculine (88,6%) avec un sexe ratio H/F de 7,75 (**Saber et al., 2018**).

Les mêmes résultats ont été trouvés lors d'une étude réalisée sur 2 ans (entre 2015 et 2016) au niveau du service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques de CHU Tizi Ouzou ; cette étude a révélé une prédominance masculine avec sexe ratio H/F de 7 dont 21 cas étaient des hommes et 3 cas étaient des femmes (**Amirouche et Benserai., 2017**).

La prédominance masculine pourrait être expliquée par les habitudes tabagiques, l'âge précoce de début du tabagisme, la consommation excessive du tabac, et les professions à risque des hommes (**Eldridje, 2011 ; Tahiri-Elousrouti., 2017**).

Cependant, par manque de données dans les dossiers et nous n'avons pas pu vérifier l'implication du tabagisme et des professions dans la survenue du TNE pulmonaire. Ainsi,

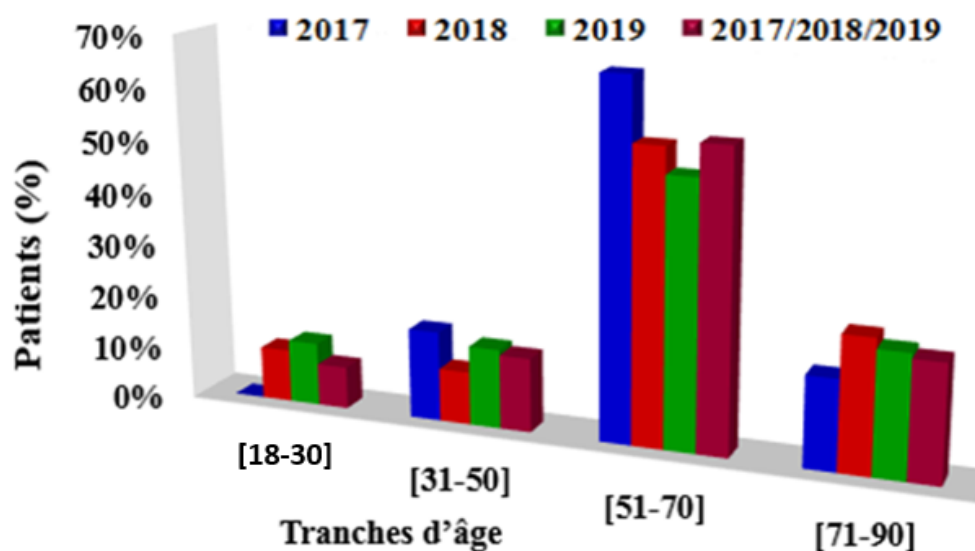
l'étude Egyptienne de **Saber et al.** montre que plus de trois quart des patients (83%) présentaient des antécédents de tabagisme (**Saber et al., 2018**).

### III.1.3. Répartition selon l'âge

L'âge des patients variait entre 18 et 88 ans et la moyenne d'âge était de 59 ans. Plus que la moitié de l'effectif des patients, soit 56 % (36 cas) étaient inclus dans la tranche d'âge comprise entre 51 et 70 ans, suivie par la tranche d'âge comprise entre 71 et 90 ans et qui représentait 22% (14 cas) des patients. Les patients dont l'âge compris entre 31 et 50 ans représentaient 14% (9 cas) alors que seul 8% (5 cas) des patients avaient moins de 30ans (**Tableau IX, Figure 9**). Nous n'avions pas d'information sur l'âge de 4,47% (3 cas) des patients de notre étude.

**Tableau IX :** Répartition des patients atteints de TNE pulmonaire selon l'âge.

Année /Age	[18-30]	[31-50]	[51-70]	[71-90]
2017	0%	17% ( 3 )	67%(12)	17%(3)
2018	10% (2)	10% ( 2 )	55%(11)	25%(5)
2019	12%(3)	15% ( 4 )	50% (13)	23% (6)
2017/2018/2019	8%(5)	14% (9)	56% (36)	22%(14)



**Figure 9.** Répartition des patients atteints de TNE pulmonaire dans quatre tranches d'âge.

L'âge moyen de survenue du TNE pulmonaire a été estimé à 62 ans en 2017, à 59 ans en 2018 et à 56 ans en 2019. Nos résultats suggèrent une prédominance de TNE pulmonaire chez les personnes âgées ayant un âge supérieur à 51 ans. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés dans plusieurs études dont 2 études égyptiennes et autre italienne qui ont mentionné

un âge moyen respectif de 52 ans, 61,6 ans et 62,3 ans (**Mokhtar et al.,2016 ; Simbolo et al.,2017 ; Saber et al.,2018**).

La prédominance de TNEP a été également mentionnée dans l'étude des états unis qui a enregistré un âge moyen de 66 ans tandis que l'étude américaine et suisse ont enregistré un maximum de cas dans les tranches d'âges comprises entre 55 et 64 ans et entre 40 et 70 ans, respectivement (**Cai et al., 2016 ; Kliendiensta et al.,2016 ; Ling et al.,2019**).

L'âge de survenue du TNEP est variable d'une série à une autre selon le pays, le niveau des soins dans chaque région, et les habitudes tabagiques des populations (**Tahiri-Elousrouti, 2017**).

### III.2. Résultats anatomopathologiques

#### III.2.1. Répartition de TNE pulmonaire selon le type histologique

Nous avons réparti les cas de TNE pulmonaire, objet de notre étude, selon les types histologiques, comme indiqué par l'organisation mondiale de la santé (**Travis et al., 2015**). Cette répartition nous a permis de constater une prédominance des carcinomes bronchiques à petites cellules (CBPC) qui représentaient 63% (36 cas) des cas suivie des carcinomes neuroendocrines à grandes cellules (GNEGC) qui représentaient 23% (13 cas). Les carcinoïdes pulmonaires atypiques (CA) et typiques (CT) représentaient, respectivement, seulement 9% (5 cas) et 5% (3 cas) des cas de TNE pulmonaires (**Tableau X, Figure 10**).

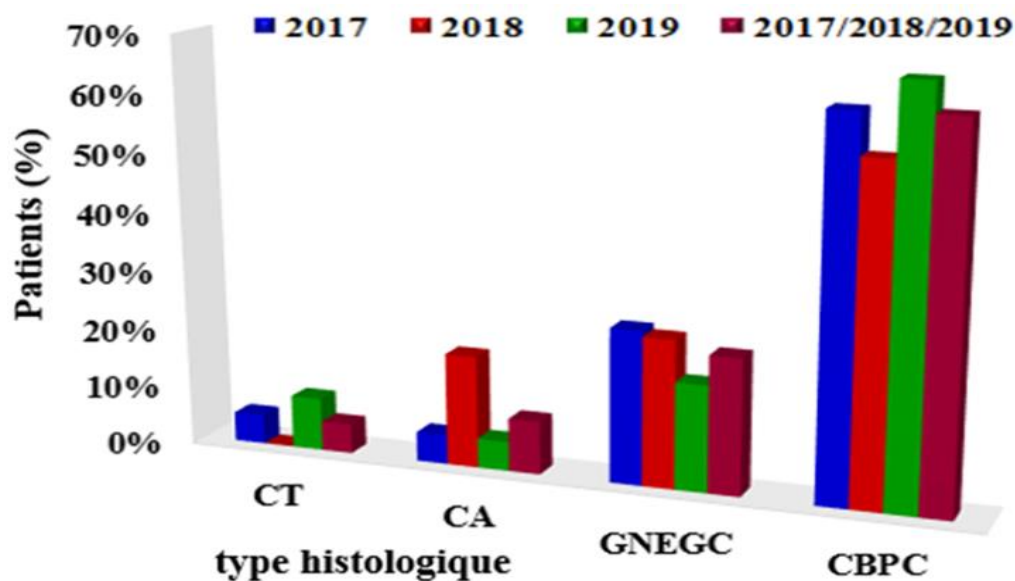
Cette répartition des types histologiques s'applique aux 3 années de l'étude avec toujours une prédominance des CBPC suivie de GNEGC, et de CA et CT (**Tableau X, Figure 10**).

10 cas soit 14,92% parmi les 67cas de TNE pulmonaires n'ont pas été classés histologiquement.

**Tableau X.** Répartition des patients atteints de TNE pulmonaire selon le type histologique.

Type histologique	CT	CA	GNEGC	CBPC
2017	5% (1 cas)	5% (1 cas)	26% (5 cas)	63% (12 cas)
2018	0% (0 cas)	19% (3 cas)	25% (4 cas)	56% (9 cas)
2019	9% (2 cas)	5% (1 cas)	18% (4 cas)	68% (15 cas)
2017/2018/2019	5% (3 cas)	9% (5 cas)	23% (13 cas)	63% (36 cas)

CT : carcinoïde typique ; CA : carcinoïde atypique ; CNEGC : carcinome neuroendocrine à grandes cellules ; CBPC : carcinome bronchique à petites cellules.



**Figure 10.** Répartition des patients atteints de TNE pulmonaire selon le type histologique. CT : carcinoïde typique ; CA : carcinoïde atypique ; CNEGC : carcinome neuroendocrine à grandes cellules ; CBPC : carcinome bronchique à petites cellules.

En 2017, les carcinomes bronchiques à petites cellules (CBPC) représentaient 63% (12 cas), les carcinomes neuroendocrines à grandes cellules (GNEGC) représentaient 26% (5 cas), et les carcinoïdes pulmonaires atypiques (CA) et typiques (CT) représentaient 5% (1cas) des cas de TNE pulmonaires (**Tableau X, Figure 10**).

En 2018, les carcinomes bronchiques à petites cellules (CBPC) représentaient 56% (9 cas), les carcinomes neuroendocrines à grandes cellules (GNEGC) représentaient 25% (4 cas), les carcinoïdes pulmonaires atypiques (CA) représentaient 19% (3 cas) des cas de TNE pulmonaires alors qu'aucun cas de carcinoïdes pulmonaires typiques (CT) n'a été enregistré (**Tableau X, Figure 10**).

En 2019, les carcinomes bronchiques à petites cellules (CBPC) représentaient 68% (15 cas), les carcinomes neuroendocrines à grandes cellules (GNEGC) représentaient 18% (4 cas), les carcinoïdes pulmonaires atypiques (CA) et typiques (CT) représentaient respectivement 5% (1 cas) et 9% (2 cas) des cas de TNE pulmonaires (**Tableau X, Figure 10**).

Nos résultats sont en accord avec plusieurs études qui ont démontré une prédominance des CBPC. **Saber et al.** (2018) ont constaté les CBPC (68,6%) étaient le type histologique majoritairement présent, suivi des CNEGC (20%) et des CT (11,4%) (**Saber et al., 2018**). De même, (**Mokhtar et al. 2016**) ont montré, dans une étude menée sur une période de 10 ans (2000-2009), une prédominance des CBPC (92,8%) **Mokhtar et al., 2016**). Une autre étude

libanaise, réalisée entre 2001 et 2012 sur 194 patients atteints de TNE pulmonaire, a révélé que les CBPC (66,5%) étaient le type histologique le plus fréquent, suivi des CT (12,4%), des CNEGC (9,8%) et des CA (3,6%) (**Kesrouani et al., 2016**).

De même une étude européenne de **Slavova et al.** (2011) sur un échantillon chirurgicalement réséqué de 49 patients avec TNE pulmonaire a été constaté : carcinoïde typique (CT) 20 (40,8%), carcinoïde atypique (CA) 7 (14,3%), le carcinome pulmonaire à petites cellules (CBPC) 20 (40,8%) et le carcinome neuroendocrinien à grandes cellules (CNEGC) 2 (4,1%) (**Slavova et al., 2011**). Sur les 20 cas inclus d'une étude chinoise, 9 étaient des tumeurs carcinoïdes typiques et 11 étaient des tumeurs carcinoïdes atypiques (**Xiongfei et al., 2020**).

La fréquence élevée du carcinome à petites cellules pourrait être liée au facteur de risque principal qui est le tabac. Il a été démontré que le CBPC survient essentiellement chez les fumeurs (**Pellat et al., 2016**).

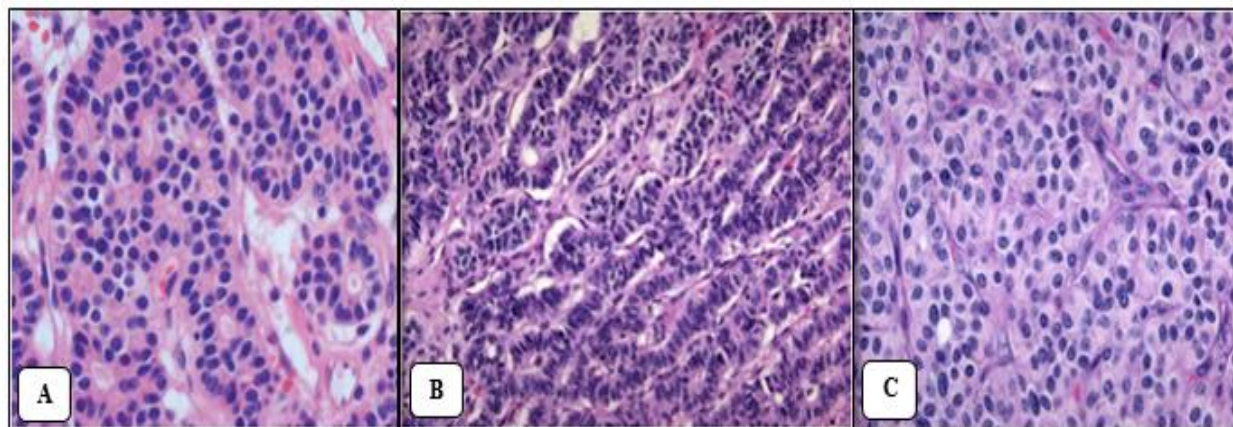
### **III.2.2. Résultats de la coloration Hématoxyline-Eosine**

Notre étude a été enrichie avec une analyse d'article portant sur une étude histologique par coloration à l'Hématoxyline-Eosine (H-E).

Les caractéristiques morphologiques du TNE pulmonaire comprennent les rosettes, la nidification, la formation de pseudorosettes, les trabécules et la palissade (**Thunnissen et al., 2017**).

Dans ce qui suit nous allons représenter les résultats de l'identification morphologique par coloration H-E des différents types histologiques du TNE pulmonaire.

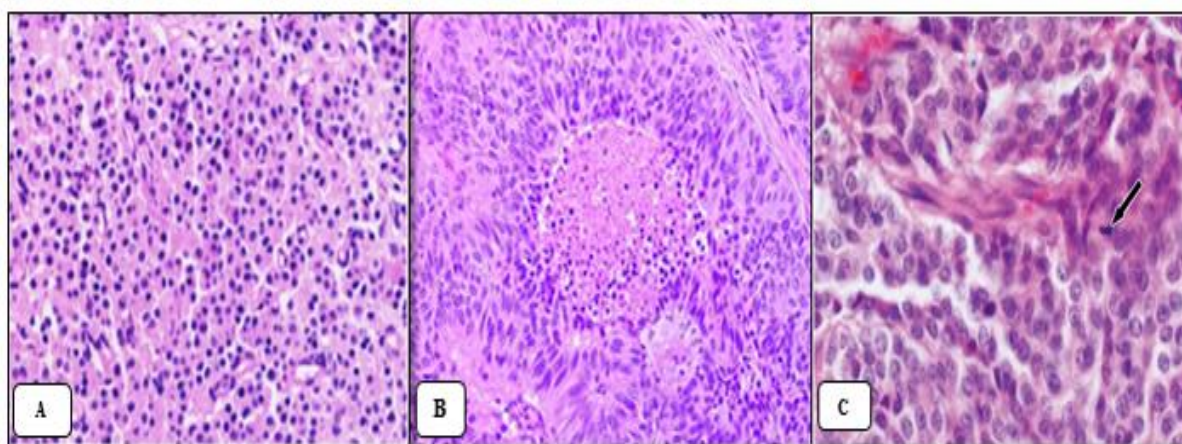
#### **✓ Carcinoïde typique**



**Figure 11.** Coupes histopathologiques de carcinoïde typique (Coloration à l'hématoxyline-éosine). A et B (G× 100), C (G×400) (Chong *et al.*, 2006 ; Leslie et Litzky., 2010).

L'histologie du carcinoïde typique montre de petits nids de cellules uniformes (**Figure 11 A**) (Chong *et al.*, 2006) avec des noyaux plus ovoïdes en apparence (**Figure 11 B**) (Leslie et Litzky., 2010). La chromatine nucléaire est finement granulaire mais pas de nucléation proéminente. Les cellules tumorales sont disposées selon un schéma caractéristique de nids et de trabécules (**Figure 11 C**) (Leslie et Litzky., 2010).

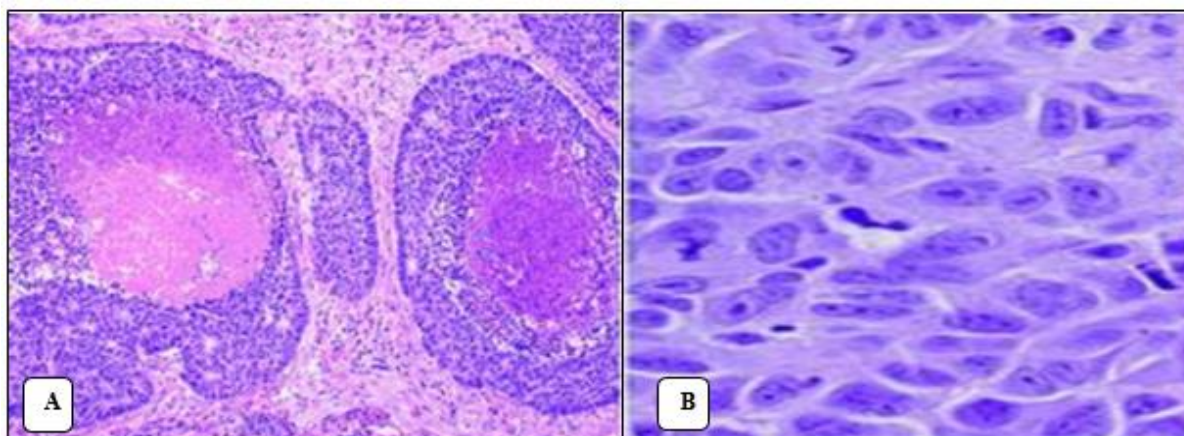
✓ *Carcinoïde atypique*



**Figure 12.** Coupes histopathologiques de carcinoïde atypique (Coloration à l'hématoxyline-éosine). A et C (G× 400), B (G× 200) (Chong *et al.*, 2006 ; Franks et Galvin., 2008 ; Bargoutya *et al.*, 2019).

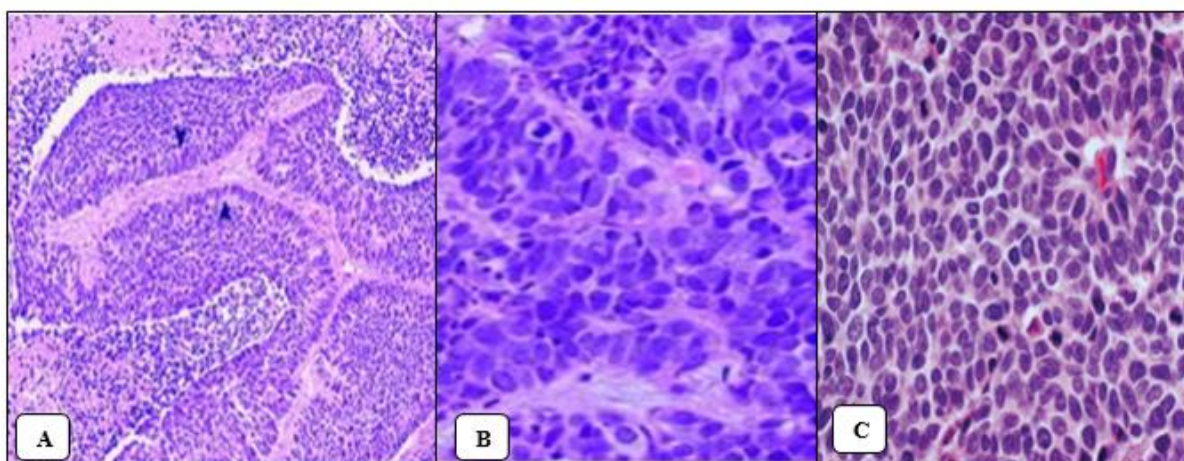
L'histologie du carcinoïde atypique montre des cellules tumorales présentant un pléomorphisme léger à modéré, avec une forme polygonale ayant des noyaux ronds à ovales, et une chromatine finement granulaire, des nucléoles discrets et une quantité modérée de cytoplasme éosinophile (**Figure 12A**) (Bargoutya *et al.*, 2019).

On observe également une nécrose, décrite comme ponctuée, au centre des nids tumoraux (**Figure 12B**) (Franks et Galvin., 2008). Un pléomorphisme nucléaire et une mitose (flèche) sont aussi observés (**Figure 12C**) (Chong *et al.*, 2006).

✓ *Carcinome neuroendocrine à grandes cellules*

**Figure 13.** Coupes histopathologiques de carcinome neuroendocrine à grandes cellules. A (G× 200) et B (G× 400). Coloration à l'hématoxyline-éosine (Franks et Galvin., 2008).

L'histologie du carcinome neuroendocrine à grandes cellules montre une morphologie neuroendocrine mise en évidence par la formation de rosettes et la palissade périphérique des nids tumoraux (Figure 13A). Une grande taille de cellule, un faible rapport nucléaire-cytoplasmique et des nucléoles proéminents sont les caractéristiques essentielles qui distinguent le carcinome neuroendocrinien à grandes cellules (Figure 13B) (Franks et Galvin., 2008).

✓ *Carcinome neuroendocrine à petites cellules*

**Figure 14.** Coupes histopathologiques de carcinome neuroendocrines à petites cellules. A (G× 100), B et C (G× 400). Coloration à l'hématoxyline-éosine (Chong et al., 2006 ; Franks et Galvin., 2008).

L'histologie du carcinome neuroendocrines à petites cellules montre une morphologie neuroendocrine vague avec seulement une palissade périphérique des nids tumoraux (têtes de

flèches). La formation de rosettes n'est pas évidente. De grandes zones de nécrose, caractéristiques du carcinome à petites cellules (**Figure 14A**) (**Franks et Galvin., 2008**).

Les cellules tumorales présentent une chromatine nucléaire fine et des nucléoles discrets caractéristiques du carcinome à petites cellules (**Figure 14B**) (**Franks et Galvin., 2008**).

Une cellularité élevée avec des petites cellules ayant un cytoplasme maigre et une chromatine grossière. On note également des mitoses fréquentes (**Figure 14C**) (**Chong et al., 2006**).

La nécrose observée dans les carcinoïdes atypiques est généralement en forme de point (ponctué) alors que celle observée dans les CBPC et CNEGC est encre plus (**Thunnissen et al., 2017**).

### ***III.2.3. Profil immunohistochimique des patients***

L'immunohistochimie (IHC) est une technique d'appoint indispensable en anatomie pathologique. Elle ne peut être interprétée qu'en fonction des orientations diagnostiques cliniques et morphologiques. Elle peut apporter des éléments pronostiques (marqueur de prolifération, marqueur de différenciation) ou prédictifs de réponse à la thérapeutique (chimiothérapie ou thérapeutiques ciblées) (**Scoazec et al., 2014**).

Le diagnostic de TNEP requiert la positivité d'au moins un des marqueurs neuroendocrines validés en pratique courante dont la synaptophysine, la chromogranine A et le CD56/NCAM (**Sung et al., 2020**).

L'étude immunohistochimique a été réalisée, en utilisant les trois marqueurs neuroendocrines (CgA/Syn/CD-56) ensemble ou séparément.

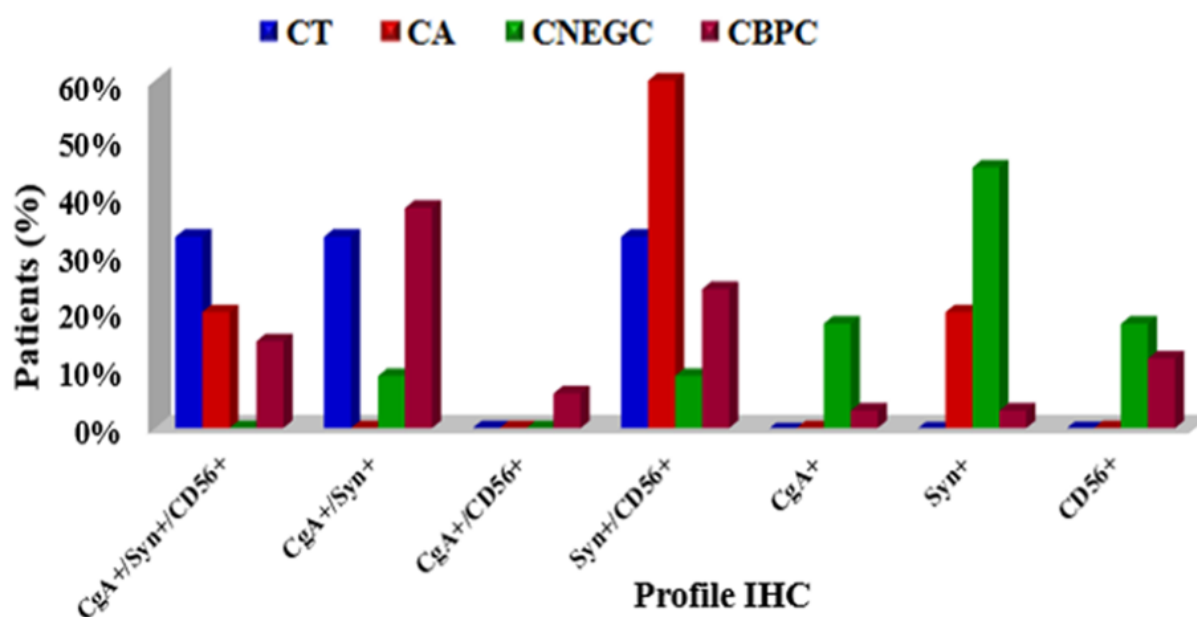
Notre étude immunohistochimique a été faite sur 53 cas soit 79.10% de nos patients.



**Tableau XI.** Profil immunohistochimique des patients atteints de TNE pulmonaire.

Profil IHC/Type histologique	CT	CA	CNEGC	CBPC
<b>CgA<sup>+</sup>/Syn<sup>+</sup>/CD56<sup>+</sup></b>	33%(1cas)	20%(1cas)	0%(0cas)	15%(5cas)
<b>CgA<sup>+</sup>/Syn<sup>+</sup></b>	33%(1cas)	0%(0cas)	9%(1cas)	38%(13cas)
<b>CgA<sup>+</sup>/CD56<sup>+</sup></b>	0%(0cas)	0%(0cas)	0%(0cas)	6%(2cas)
<b>Syn<sup>+</sup>/CD56<sup>+</sup></b>	33%(1cas)	60%(3cas)	9%(1cas)	24%(8cas)
<b>CgA<sup>+</sup></b>	0%(0cas)	0%(0cas)	18%(2cas)	3%(1cas)
<b>Syn<sup>+</sup></b>	0%(0cas)	20%(1cas)	45%(5cas)	3%(1cas)
<b>CD56<sup>+</sup></b>	0%(0cas)	0%(0cas)	18%(2cas)	12%(4cas)

CT : carcinoïde typique ; CA : carcinoïde atypique ; CNEGC : carcinome neuroendocrine à grandes cellules ; CBPC : carcinome bronchique à petites cellules ; CgA : chromogranine A ; Syn : synaptophysine.



**Figure 15.** Répartition des patients atteints de TNE pulmonaire selon Profil immunohistochimique. CT : carcinoïde typique ; CA : carcinoïde atypique ; CNEGC : carcinome neuroendocrine à grandes cellules ; CBPC : carcinome bronchique à petites cellules ; CgA : Chromogranine A ; Syn : Synaptophysine.

Nos résultats montrent que 33% des patients atteints de CT présentaient 3 profils immunohistochimiques différents : triple positif CgA<sup>+</sup>/Syn<sup>+</sup>/CD56<sup>+</sup> ou double positif.

CgA+/Syn+ ou Syn+/CD56+, avec un aspect histopathologique d'une tumeur carcinoïde typique. Le profil double positif CgA+/Syn+ était absent chez les patients atteints d'un CA qui présentaient également 3 profils immunohistochimiques différents dont le profil double positif Syn+/CD56+ (60%) était le plus fréquent suivie de triple positif CgA+/Syn+/CD56+ (20%), et simple positif Syn+ (20%), avec un aspect histopathologique d'une tumeur carcinoïde atypique (**Tableau XI, Figure 15**).

Les patients ayant un CBPC quant à eux, présentaient sept différents profils immunohistochimiques dont le plus fréquent étaient le double positif CgA+/Syn+ (38%) suivie de Syn+/CD56+ (24%), puis vient le triple positif CgA+/Syn+/CD56+ (15%) et le simple positif CD56+ (12%), le double positif CgA+/CD56+ (6%) et en dernier le simple positif CgA+ (3%) et Syn+ (3%). Le profil triple positif CgA+/Syn+/CD56+ et double positif CgA+/CD56+ étaient absents chez les patients avec un aspect histopathologique d'un CNEGC alors que le profil simple positif Syn+ (45%) était le plus fréquent, suivie du profil simple positif CgA+ (18%) et CD56+ (18%) et du profil double positif CgA+/Syn+ (9%) et Syn+/CD56+ (9%) (**Tableau XI, Figure 15**).

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Kasprzak et al.** (2007) qui ont observé que le profil Syn+ était le plus fréquent chez les patients atteints de carcinomes pulmonaires à grandes cellules avec différenciation neuroendocrine (CNEGC) (**Kasprzak et al., 2007**). Deux études américaines de **Rekhtman.** (2010) et **Nitadori et al.** (2006), montrent que la réactivité pour la synaptophysine et la chromogranine A est généralement faible en CBPC, ce qui est distinct de la réactivité robuste typique des tumeurs carcinoïdes. Alors que le CD56 est considéré comme le marqueur NE le moins spécifique sur d'autres sites, c'est le marqueur NE le plus sensible pour le CBPC : environ 25% des CBPC sont négatifs à la fois pour la synaptophysine et la chromogranine A, mais la plupart de ces tumeurs sont positives pour CD56. Pourtant, 10% des CBPC sont négatifs pour les 3 marqueurs NE couramment utilisés (**Rekhtman, 2010**). De même une réaction positive au CD56 a été observée dans 38 (97%) des 39 cas de CNEGC et 14 (100%) des 14 cas de CBPC (**Nitadori et al., 2006**).

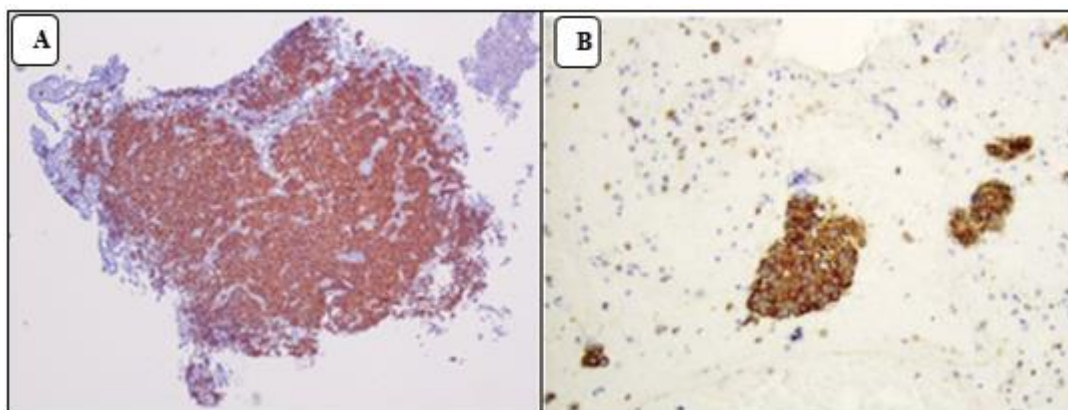
Le CD56 est considéré comme le marqueur neuroendocrine le plus sensible pour le CBPC et le CNEGC, bien qu'ils existent des cas de CD56 négatif (**Travis et al., 2012 ; Pellat et al., 2016 ; Al-Risi et al., 2017**). **Yeh et Chou (2014)** ont suggéré que le CD56 est un marqueur particulièrement utile pour les tumeurs neuroendocrines de haut grade, avec une sensibilité de 97% et 100% pour CBPC et CNEGC, respectivement (**Yeh et Chou., 2014**). Le profil

Syn+/CgA+ est généralement faible dans le CBPC alors que près de 70% de cas de CNEGC présentent ce profil (Saber *et al.*, 2018).

Le CD56 est également le plus sensible des marqueurs neuroendocrine pour le CT mais pas le plus spécifique, et les résultats doivent être interprétés en association avec les caractéristiques cytomorphologiques. La chromogranine A et la synaptophysine sont donc les marqueurs les plus spécifiques pour le CT (Sung *et al.*, 2020).

#### III.2.4. Résultats d'immunomarquage immunohistochimique des TNE pulmonaires

- ✓ *Immuno-marquage anti-Chromogranine A et anti-Synaptophysine de carcinoïde typique*

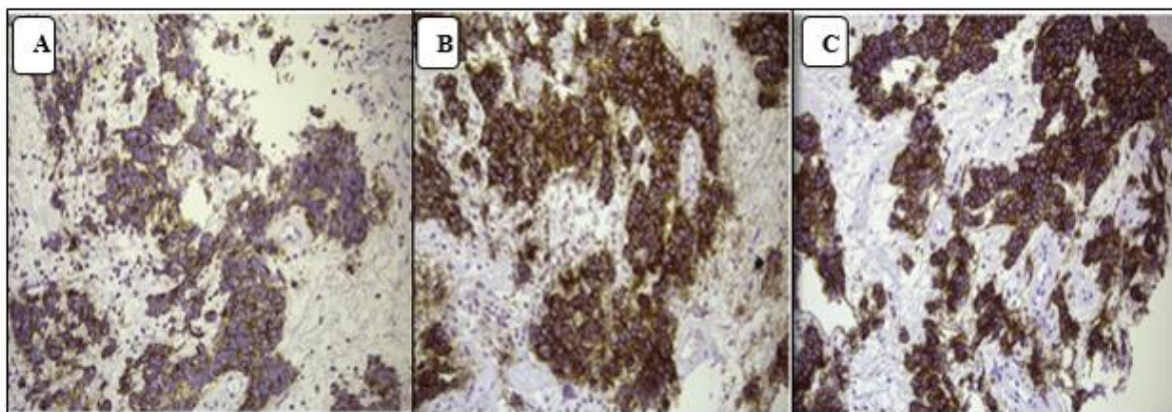


**Figure 16.** Immuno-marquage à l'aide de l'anticorps anti-CgA (A), anti-Syn (B) de carcinoïde typique. A (G×20), B (G× 200). IHC (Zheng *et al.*, 2013 ; Piro *et al.*, 2019).

L'immuno-marquage anti-CgA caractéristique de carcinoïde typique révèle une positivité diffuse dans toutes les cellules tumorales (Figure 16A) (Piro *et al.*, 2019).

L'immuno-marquage anti-synaptophysine caractéristique de carcinoïde typique montre également un marquage marron diffus et fort (Figure 16B) (Zheng *et al.*, 2013).

- ✓ *Immuno-marquage anti-Chromogranine A, anti-Synaptophysine et anti-CD56 de carcinoïde atypique*



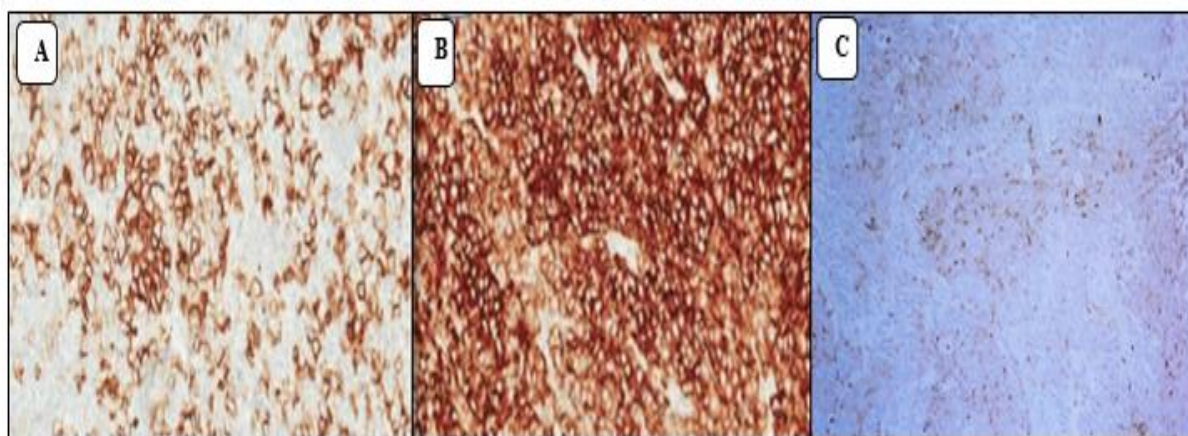
**Figure 17.** Immuno-marquage à l'aide de l'anticorps anti-CgA (A), anti-Syn (B) et anti-CD-56 (C) de carcinoïde atypique. A, B et C (G×40). IHC ((Thunnissen et al., 2017).

L'immuno-marquage anti-CgA caractéristique de carcinoïde atypique révèle une coloration marron cytoplasmique abondante (**Figure 17A**).

L'immuno-marquage anti-Synaptophysine caractéristique de carcinoïde atypique montre une coloration cytoplasmique diffuse (**Figure 17B**).

L'immuno-marquage anti- CD56 caractéristique de carcinoïde atypique montre une coloration membraneuse distincte (**Figure 17C**) (Thunnissen et al., 2017).

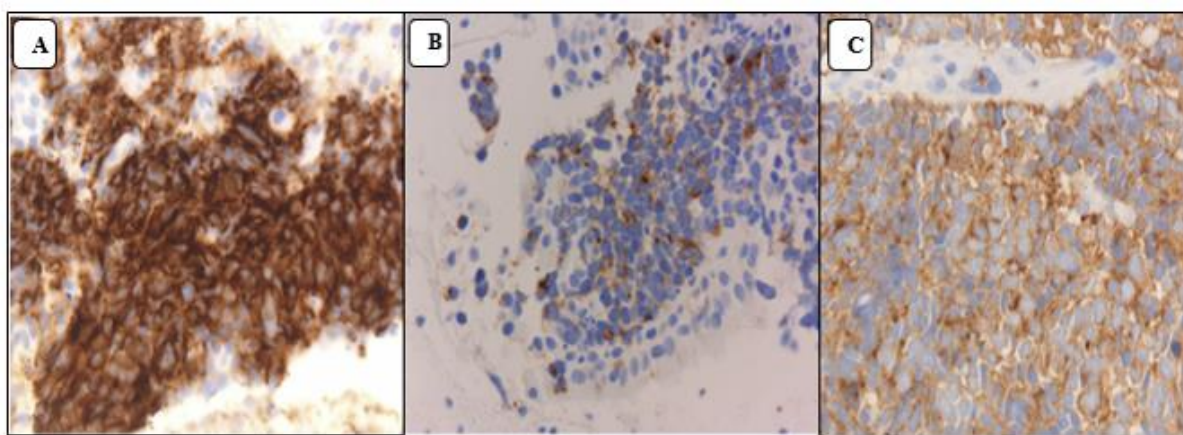
✓ *Immuno-marquage anti Chromogranine A, anti- Synaptophysine et anti-CD56 de carcinome neuroendocrine à grandes cellules*



**Figure 18.** Immuno-marquage à l'aide de l'anticorps anti-CD-56 (A), anti-Syn (B) et anti- CgA (C) de carcinome à grandes cellules. A et B (G×200), C (G× 40). IHC (Iyoda et al., 2002 ; Wang et al.,2019).

L'immunomarquage caractéristique du carcinome neuroendocrine à grandes cellules montre une coloration positive avec les marqueurs neuroendocrines CD56 (**Figure 18A**), et une coloration cytoplasmique diffuse pour la synaptophysine (**Figure 18B**) (**Wang et al., 2019**). En outre, la coloration des cellules tumorales à l'anti-chromogranine A était positive mais faible (**Figure 18C**) (**Iyoda et al., 2002**).

✓ *Immuno-marquage anti-Chromogranine A, anti- Synaptophysine et anti-CD56 de carcinome neuroendocrine à petites cellules*



**Figure 19.** Immuno-marquage à l'aide de l'anticorps anti-CD-56 (A), anti- CgA (B) et anti-Syn (C) de carcinome à petites cellules. A, B et C (G×40). IHC (**Thunnissen et al., 2017**).

L'immunomarquage anti-CD56 montre une coloration positive avec un motif membranaire abondant (**Figure 19 A**).

L'immunomarquage anti-Chromogranine montre une coloration positive cytoplasmique en forme de point (**Figure 19B**) alors que l'immunomarquage anti-synaptophysine montre une coloration cytoplasmique diffuse (**Figure 19C**).

La coloration à la chromogranine A / synaptophysine est positive de manière diffuse dans les tumeurs carcinoïdes, mais la chromogranine A n'est généralement présente que de manière focale dans le CBPC /CNEGC. Une forte coloration membranaire de CD56 est présente dans le CBPC (**Thunnissen et al., 2017**).

#### IV. Discussion

Durant notre étude nous avons constaté que la fréquence des TNE pulmonaires a connu une nette augmentation durant les 3 années de l'étude. Les TNEP étaient prédominants chez les hommes ayant une tranche d'âge comprise entre 51 et 70 (âge moyen 59 ans). De même, parmi les 4 types histologiques du TNEP, le CBPC constitue le type le plus fréquent chez les patients. Ces résultats pourraient être expliqués par l'augmentation des facteurs polluants et carcinogènes en plus de la consommation du tabac, un facteur de risque principal des cancers broncho-pulmonaires.

Le tabagisme constitue un facteur de risque majeur de développement de CNEGC et de CBPC, il ne semble pas avoir d'influence sur la survenue des tumeurs carcinoïdes (**Kliendienst et al., 2016**).

Le rôle carcinogène du tabac est universellement reconnu et prouvé depuis les travaux de Doll et Peto (1978) (**Doll et Peto., 1978**). Il existe un parallélisme strict entre l'importance du tabagisme et le risque de survenue du CBP. La carcinogénèse liée au tabac est influencée par deux facteurs importants qui sont l'âge précoce et la durée de la consommation de tabac. Il n'y a pas de seuil au-dessous duquel fumer n'expose pas à un risque accru du CBP, cependant après l'arrêt du tabac, le risque diminue mais ne revient jamais au niveau de celui du non-fumeur (**CEP., 2017**).

Les carcinogènes les plus puissants qui induisent le développement du CBPC sont les hydrocarbures aromatiques polycycliques (benzopyren) et les nitrosamines spécifiques au tabac (**Ebru., 2017**).

Une étude japonaise sur 27 patients atteints de carcinome neuroendocrines a montré que 21 patients avaient des antécédents tabagiques, et la médiane des paquets-années était de 46 (**Mochizuki et al., 2018**). Également, une étude chinoise a montré que sur 22 cas atteints de CNEGC, 21 étaient des fumeurs avec un indice de tabagisme supérieur à 400, jusqu'à 3 000 (**Qian et al., 2016**).

Notre étude suggère une augmentation constante des carcinoïdes typiques et atypiques (10.52 % en 2017 à 28.57% en 2018 et 29.62% en 2019). **Hendifar et al.** ont indiqué que la prévalence des TNE pulmonaires bien différenciées a augmenté d'environ 6% par an au cours des 30 dernières années chez les hommes et les femmes (**Hendifar et al., 2017**).

Toutefois, nous avons noté une diminution des CNEGC (26% en 2017 à 18% en 2019) pendant que les CBPC restent inchangé (63% en 2017 à 68% en 2019). Ces résultats ne concordent pas avec l'étude de **Kinslow et al.** Qui ont observés une augmentation linéaire persistante de l'incidence des CNEGC au cours de la période étudiée, avec une augmentation de 50% de l'incidence des CNEGC de la première à l'année dernière (**Kinslow et al., 2019**).

De même, l'incidence relative du CBPC a diminué au cours des quatre dernières décennies aux États-Unis (**Wang et al., 2017 ; Basumallik et Agarwal., 2019**) ainsi que chez la population européenne (**Riaz et al., 2012**). Cette diminution est due à une sensibilisation accrue de ces populations aux méfaits du tabagisme, une diminution de la prévalence du tabagisme, des changements dans le type de cigarettes fumées et une réduction des risques professionnels (**Riaz et al., 2012 ; Wang et al., 2017 ; Basumallik et Agarwal., 2019**).

Nous avons également noté dans notre étude que la majorité des patients ayant des carcinomes de haut grade, étaient de sexe masculin (92.15% hommes versus 7.84% femmes) alors que les carcinoïdes étaient légèrement prédominant chez les femmes (56.25% femmes versus 43.75% hommes).

Plusieurs études ont indiqué que les carcinoïdes sont associés au sexe féminin contrairement aux CNEGC et de CBPC qui sont souvent associés au sexe masculin (**Tsai et al., 2013 ; Caplin et al., 2015 ; Fasano et al., 2015 ; Steuer et al., 2015**).

La classification TNM des patients atteints de TNE pulmonaire **selon la taille T** des tumeurs montre que la majorité des cas correspondaient à des T1 pour le CNEGC et de T2b pour les carcinoïde pulmonaire typique ou atypique.

Des études américaines de **Kinslow et al.** (2020) et **Dermawan et Farver.** (2019) ont constatés que chez les patients atteints de CNEGC, 0,8% des patients avaient une taille tumorale à T0, 21,9% à T1, 27,9% à T2, 18,8% à T3, 22,1% à T4 et 8,6% à Tx, au moment du diagnostic (**Kinslow et al., 2020**). Une étude menée sur les tumeurs carcinoïdes pulmonaires typique ou atypique, entre 1995 et 2016, a montré que 6 patients présentaient une taille tumorale à T1b, 6 patients à T1c et 6 patients à T2a, 11 patients à T2b, 5 patients à T3 et 1 patient à T4 (**Dermawan et Farver., 2019**).

La classification TNM des patients atteints de TNE pulmonaire **selon le statut ganglionnaire** des tumeurs montre que la majorité des patients atteints de CT ne présentaient

pas de métastases ganglionnaires lymphatiques alors que les patients atteints de CNEGC présentaient ou pas de métastase ganglionnaire lymphatique.

Une étude chinoise sur 20 patients atteints de tumeurs carcinoïdes pulmonaires seule 5/11 patients présentaient des métastases lymphatiques, dont trois cas de N1 et deux cas de N2 métastase (**Xiongfei et al., 2020**). Une étude américaine a montré que chez les patients atteints de CNEGC, 37,4% ne présentaient pas de métastase ganglionnaire (N0), 9,5% présentaient des métastases ganglionnaires en N1; 35,0% en N2; 15,1% en N3 et 3,0% en Nx au moment du diagnostic (**Kinslow et al., 2020**).

**Cattoni et al.** Ont été surpris que la présence de métastases ganglionnaires ne soit pas identifiée comme un facteur associé à la survie, cela pourrait être dû au fait que les TNEP sont plus susceptibles de développer des métastases distantes via le sang que des métastases régionales aux ganglions lymphatiques (**Cattoni et al., 2018**).

Selon **Steuer et al.** Le taux de métastases à distance pour le CA est de 20%, de 3% pour CT et 40% pour CNEGC (**Steuer et al., 2015**).

Les principaux sites métastatiques pour les tumeurs carcinoïdes sont, le foie (75-90%), l'os (40-50 %), mais aussi le cerveau (5-15 %) (**Girard, 2018**). Des métastases aux os, au cerveau et au foie étaient présentes respectivement chez 17,5% ; 19,2% et 19,2% des 55.9% des patients atteints de CNEGC. Le CBPC était significativement plus susceptibles de présenter une maladie métastatique des os ou du foie que le CNEGC (**Kinslow et al., 2020**).

La classification des patients atteints de TNE pulmonaire **selon le stade clinique métastatique** montre selon une étude indienne que sur 16 patients, avec des carcinoïdes broncho-pulmonaires, 6 étaient en stade IA, 2 en stade IB, 7 en stade IIB et 1 en stade IIIA (**Jakhetiya et al., 2017**). Aussi, parmi les patients atteints de CNEGC 7% étaient en stade I, 8,9% en stade II, 17,7% en stade III et 54,6% en stade IV, au moment du diagnostic. 70,1% des patients atteints de CBPC, étaient en stade IV (**Kinslow et al., 2020**).



## Conclusion

Notre travail a été réalisé dans le but d'analyser l'apport de l'immunohistochimie dans le diagnostic des TNE pulmonaires pour une meilleure stratégie thérapeutique en Algérie.

Les résultats épidémiologiques montrent une augmentation de l'incidence et la prévalence de la TNE pulmonaire durant les 3 années d'études (2017, 2018, 2019).

Nous avons également montré une prédominance masculine avec un sexe ratio H/F de 4,15. L'âge moyen de survenue de TNE pulmonaire était de 59 ans avec une majorité de patients (78.12%) ayant plus de 50 ans.

Les résultats anatomopathologiques nous ont permis de constater une prédominance des carcinomes bronchiques à petites cellules (CBPC) (63%), suivie des carcinomes neuroendocrines à grandes cellules (GNEGC) (23%), de carcinoïdes pulmonaires atypiques (CA) (9%) et typiques (CT) (5%).

Les TNEP de haut grade étaient fréquentes chez les hommes (92.15% vs 7.84%) alors que les TNEP de bas et grade intermédiaire étaient plus fréquentes chez les femmes (56.25 % vs 43.75 %).

Les résultats immunohistochimiques (IHC) suggèrent que la synaptophysine est le marqueur le plus sensible pour les carcinoïdes pulmonaires alors que la chromogranine A et le CD-56 sont souvent exprimés par les tumeurs de bas et haut grade.

L'immunohistochimie (IHC), en se basant sur un panel d'anticorps spécifique et minimal, constitue sans aucun doute la technique de choix en termes de précision du diagnostic et de rapport coût/bénéfice dans le sous-typage du TNE pulmonaire. Néanmoins, les résultats faux positifs et faux négatifs pourraient conduire à un mauvais diagnostic.

Cependant, la recherche de nouveaux marqueurs moléculaires et l'utilisation des techniques de biologie moléculaire (la PCR et le séquençage) pourraient améliorer le diagnostic afin de développer des thérapies ciblées et personnalisées.

En perspective, il serait intéressant de rechercher des marqueurs biologiques ou des techniques de pointe comme le PET-Scan permettant de diagnostiquer les TNEP à un stade précoce.

## Références bibliographiques

- Akira Iyoda, Takashi Makino, Satoshi Koezuka, Hajime Otsuka, Yoshinobu Hata. Treatment options for patients with large cell neuroendocrine carcinoma of the lung. *General Thoracic and Cardiovascular Surgery* ; 62(6) : 351–356 (2014).
- Alain C, Borczuk MD. In *Practical Pulmonary Pathology: A Diagnostic Approach (Third Edition)* ; 439-466p (2018).
- Al-Risi ES, Al-Essry FS, Mula-Abed WAS. Chromogranin A as a biochemical marker for neuroendocrine tumors: a single center experience at Royal Hospital, Oman. *Oman medical journal* ; 32(5) : 365 (2017).
- Amirouche S, Benserai Fz. les tumeurs neuroendocrines primitives du poumon à propos de 24 cas. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques CHU Tizi Ouzou. De la société algérienne d'Oncologie Thoracique. 11 ièmes journées De la société algérienne d'Oncologie Thoracique. 36p (2017).
- Anick lassond. L'hyponatrémie une conséquence diluée de l'hydratation. *Le médecin de québe* ;40(12) : 51-52p (2005).
- Anne-Marie Levin et Jakobsen Ola Nilsson. Protéines vésiculaires dans les tumeurs neuroendocrines et non endocrines du tractus gastro-intestinal ; vol4 : 235-245p (2006).
- Anoun Nadia, El ouahabi Hanan. L'acromégalie du sujet âgé : quelles particularités?. *Pan African Medical Journal* ;27(1) (2017).
- Antonia SJ, Bendell JC, Taylor MH, et al. Phase I/II study of nivolumab with or without ipilimumab for treatment of recurrent small-cell lung cancer (SCLC) : CA209-032. *J Clin Oncol*; 33 [abstract 7503] (2015).
- Armaiz-Pena GN, Lutgendorf SK, Cole SW, Sood AK. Neuroendocrine modulation of cancer progression. *Brain. behavior and immunity* ; 23(1) :10-15 (2009).
- Arnold Brian N, Kim Anthony W. Chapter 4 - Treatment of Early-Stage Non-Small Cell Lung Cancer (Stage I and II)., *Lung Cancer : A Practical Approach to Evidence-Based Clinical Evaluation and Management* ; 67-81 (2018).
- Babakoohi S, FuP, YangM, LindenPA, Dowlati A. Combined SCLC clinical and pathologic characteristics. *Clin Lung Cancer* ; 14 :113–9 (2013).
- Bailey Rejina. An introduction to types of respiration. *Thought Co* ; (2020).
- Bargotyia Mona, Ahuja Sana, Das Payel and Vikas Dogra. Atypical Carcinoid Tumours of Lung - Analyzing the Diagnostic Challenges and its Substantial Impact on Prognosis: A Case Report with Review of

## Références bibliographiques

Literature. Ec clinical and medical case reports ; 2(1) :9p (2019).

Basumallik N, Agarwal M. Cancer, Lung Small Cell (Oat Cell). In StatPearls [Internet] ; (2019).

Berichten Korte. Nieuwe techniek lobectomie. SpringerLink. CRCA vol6 (2009).

Bulbul Yilmaz, Eris Bulent, Orem Asim et al. Pulmonary atelectasis and survival in advanced non-small cell lung carcinoma. Upsala journal of medical sciences ;115(3) : 176-180p (2010).

Bhargava Rohit et Dabbs David J. Immunohistology of metastatic carcinomas of unknown primary. In : Diagnostic Immunohistochemistry. WB Saunders ; 206-255p (2011).

Cai B, Broder M S, Chang E, Burk C, Grzegorzewski KJ, Neary MP. PS01. 23: Epidemiology of Neuroendocrine Tumors (NET) of the Lung in the US: Analysis of 2 Large Insurance Claims Databases: Topic: Medical Oncology. Journal of Thoracic Oncology ; 11(34) : 282-283p (2016).

Cameselle-teijeiro, José Manuel, Mato, José Antonio Mato, Calvo, Ovidio Fernández, et al. Tumeurs pulmonaires neuroendocrines de bas, moyen et haut grade: diagnostic anatomopathologique - facteurs pronostiques et prédictifs.

Diagnostic moléculaire et thérapie ; 22(2) : 169-177p (2018).

Caplin ME, Baudin E, Ferolla P, Filosso P, Garcia-Yuste M, Lim E, Travis WD. Pulmonary neuroendocrine (carcinoid) tumors: European Neuroendocrine Tumor Society expert consensus and recommendations for best practice for typical and atypical pulmonary carcinoids. Annals of Oncology ; 26(8) :1604-1620 (2015).

Cattoni M, Vallières E, Brown LM, Sarkeshik AA, Margaritora S, Siciliani A, Farjah F. Improvement in TNM staging of pulmonary neuroendocrine tumors requires histology and regrouping of tumor size. The Journal of thoracic and cardiovascular surgery ; 155(1) :405-413 (2018).

Chanson Philippe et Salenave Sylvie. Acromegaly. Orphanet journal of rare diseases ; 3(1) : 1-17p (2008).

Cheung Wkc, Nguyen DX. Lineage factors and differentiation states in lung cancer progression. Oncogene ; 34(47) : 5771-5780 (2015).

Chong Semin, Lee Kyung Soo, Chung Myung Jin et al. Tumeurs neuroendocrines du poumon: résultats cliniques, pathologiques et d'imagerie. Radiographies ;26(1) : 41-57p (2006).

## Références bibliographiques

- Chorneyko K, Butany J. La pathologie au Canada. CAMAJ.JAMC ;178(12) :1526-1525 (2008).
- Clifton P. Drew Wun-Ju, Shieh.in Current Laboratory Techniques in Rabies Diagnosis. Research and Prevention, Immunohistochemistry ; vol2 : (2015).
- Cordonnier thomas. Associations cellules souches mésenchymateuses et céramiques pour l'ingénierie tissulaire osseuse : intérêt du milieu cellulaire et de l'environnement tridimensionnel sur la différenciation ostéoblastique. Thèse de doctorat, université francois-rabelais de tours, faculté de sciences de la vie et de la santé. 116p (2010).
- Cristina Valérie, Pracht Marc, Lachenal Y et al. Traitement des tumeurs maligne du foie par radiologie interventionnelle : techniques intra-artérielles [Interventional radiology procedures for malignancies of the liver treatment: Intraarterial procedures]. Revue Médicale Suisse ; 10(431) (2014).
- Cutz Ernest. Hyperplasia of pulmonary neuroendocrine cells in infancy and childhood. Seminars in diagnostic pathology. WB Saunders ; 32 (6): 420-437p (2015).
- David Planchard, Eric Baudin. Small-cell lung cancer and large-cell neuroendocrine tumors of the lung. Future Medicine.65p (2013).
- Denys A, Doenz F, Qanadli SD, et al. Destruction tumorale par radiofréquence : du foie au poumon en passant par le rein : imagerie diagnostique et interventionnelle. Revue médicale suisse ;1(27) :1774-1778p (2005).
- Dermawan JK, Farver CF. The prognostic significance of the 8th edition TNM staging of pulmonary carcinoid tumors. The American journal of surgical pathology ; 43(9) : 1291-1296 (2019).
- Doll R, Peto R, Mortality in relation to smoking : 20 years observation on males British doctors. Dr. Med. J ; 2 :1525-36 (1976).
- Dong wang X, Hu R, Ding Q, Savage TK, Huffman KE, Williams NYu Y et al. Subtype-specific secretomic characterization of pulmonary neuroendocrine tumor cells. Nature communications ; 10(1) : 1-14p (2019).
- Ebru Cakir. Pulmonary Neuroendocrine Tumors : From a Clinical, Genetic and Pathologic Perspective. General Thoracic Surgery (2017).
- Eduarne Echevarría Guerrero. Cellules du système neuroendocrinien diffus (SNED) dans les systèmes respiratoire et digestif. Thèse de doctorat. Université de cantabria

## Références bibliographiques

- santander, Faculté de médecine. 203-209p (2019).
- Eldridge lynne MD. Lung Cancer in Men. How Symptoms, Causes Treatment, and Outcomes Differ. Very well health. (2011).
- Fasano M, Della Corte, CM, Papaccio F, Ciardiello F, Morgillo F. Pulmonary large-cell neuroendocrine carcinoma: from epidemiology to therapy. *Journal of Thoracic Oncology* ;10(8) :1133-1141 (2015).
- Fettouchi S, Fissah A, Bouleghiout F, Amrane R. Les tumeurs carcinoïdes bronchiques dans un service spécialisé d'Alger. *Revue des Maladies Respiratoires* ; 23(4) : 146 (2006).
- Fisseler-Eckhoff A, Demes M. Neuroendocrine tumors of the lung. *Cancers* ; 4(3) : 777-798 (2012).
- Franks Teri J et Galvin Jeffrey R. Lung tumors with neuroendocrine morphology ; essential radiologic and pathologic features. *Archives of pathology & laboratory medicine* ; 132(7) : 1055-1061p (2008).
- George J, Walter V, Peifer M, Alexandrov LB, Seidel D, Leenders F, Ardin M et al. Integrative genomic profiling of large-cell neuroendocrine carcinomas reveals distinct subtypes of high-grade neuroendocrine lung tumors. *Nature communications*, 9(1) : 1-13p (2018) .
- Giovinazzo F, Schimmack S, Svejda B, Alaimo D, Pfragner R, Modlin I, Kidd M. Chromogranin A and its fragments as regulators of small intestinal neuroendocrine neoplasm proliferation. *PloS one* ; 8(11) :(2013).
- Girard N. Tumeurs neuro-endocrines broncho-pulmonaires primitives : tumeurs carcinoïdes, carcinomes neuro-endocrines à grandes cellules. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités* ; 10(3) : 332-339 (2018).
- Gudkov Sergey V, Shilyagina Natalya Yu, Vodeneev Vladimir A et al. Targeted radionuclide therapy of human tumors. *International journal of molecular sciences* ;17(1) : 33p (2016).
- Hammerschmidt S et Wirtz H. Lung cancer : current diagnosis and treatment. *Dtsch Arztebl Int* ; 106 : 809-818 ; quiz 819-820 (2009).
- Hanahan et Weinberg the hallmarks of cancer cell ; 100 :57-70 (2000).
- Hans Hoffmann. Bronchial Sleeve Resection. *Chest Surgery*; 185-208 (2014).
- Hendifar AE, Marchevsky AM, Tuli R. Neuroendocrine tumors of the lung: current challenges and advances in the diagnosis and management of well-differentiated disease .*Journal of Thoracic Oncology*, 12(3) ; 425-436p. (2017).

## Références bibliographiques

- Issam Makhoul, Angela Pennisi, Sanjay Maraboyina, Gwendolyn Bryant-Smith. Neoadjuvant Chemotherapy and Radiotherapy. The Breast (Fifth Edition) Comprehensive Management of Benign and Malignant Diseases ;839-857p (2018).
- Jean bourquin D, Minvielle F, Le bivic T, et al. Imagerie moderne des pneumonies infectieuses aiguës. EMC-Radiologie ;1(1) : 98-129p (2004).
- Jonathan M, Lehman Mary E, Gwin Pierre P. Massion Immunotherapy and Targeted Therapy for Small Cell Lung Cancer : There Is Hope. Lung cancer (jm johnson, section editor) ; 19(7) (2017).
- Kardalas Efstratios, Paschou Stavroula A, Anagnostis Panagiotis et al. Hypokalemia: a clinical update. Endocrine connections ;7(4) :135-146p (2018).
- Kasprzak Aldona, Zabel Maciej, et Biczysko Wiesawa. Selected markers (chromogranin A, neuron-specific enolase, synaptophysin, protein gene product 9.5) in diagnosis and prognosis of neuroendocrine pulmonary tumours. Pol J Pathol ; 58(1) : 23-33p (2007).
- Kesrouani C, Ghorra C, Rassy M, Kourie HR., Kattan J. Distribution and Characteristics of Pulmonary Neuroendocrine Tumors: Single Institution Experience in Lebanon. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention ; 17(5) :2579-2581 (2016).
- Kim SW, Roh J, Park CS. Immunohistochemistry for pathologists: protocols pitfalls and tips. Journal of pathology and translational medicine ; 50(6) :411-418 (2016).
- Kinslow CJ, May MS, Saqi A, Shu CA, Chaudhary KR., Wang TJ, Cheng SK. Large-cell neuroendocrine carcinoma of the lung: A population-based study. Clinical lung cancer ; 21(2) :99-113 (2020).
- Kinslow Michael S, May, Anjali Saqi, Catherine A, Shu Kunal R, Chaudhary Tony JC, Wang Simon K Cheng. Large-Cell Neuroendocrine Carcinoma of the Lung: A Population-Based Study. Clinical Lung Cancer ; 7(11) : 6-10p (2019).
- Kleindienst Dirk, Gabriel Plitzkoa, Christina Wielandb, Diana Bornc, Markus Röthlina. Tumeurs neuroendocrines pulmonaires. Swiss medical forum – forum médical suisse ;16(12–13) : 292–298p (2016).
- Korse CM, Taal BG, van Velthuysen ML, Visser O. Incidence and survival of neuroendocrine tumours in the Netherlands according to histological grade :experience of two decades of cancer registry.Eur J Cancer ;49:1975–83 (2013).

## Références bibliographiques

- Korte berichten, Nieuwe techniek. Lobectomie. SpringerLink CRCA ; vol 6 :(2009).
- Lafont E, Sokol H, Sarre-Annweiler ME, Lecornet Sokol E, Barete S, Hermine O, Poucho Georgin-Lavialle S. Étiologies et orientation diagnostique devant un flush. Causes and differential diagnosis of flush. La Revue de Médecine Interne ; Vol 35 :303-309p (2014).
- Lamouti.A. les tumeurs neuroendocrines, mémoire de fin d'étude en anatomie et cytologie pathologique. CHU de frantz-Fanon Blida. 3p (2012).
- Lantuejoul S, Moro D, Michalides RJ, Brambilla C, Brambilla E. Neural cell adhesion molecules (NCAM) and NCAM-PSA expression in neuroendocrine lung tumors. The American journal of surgical pathology ; 22(10) :1267-1276 (1998).
- Lassonde Anick. L'hyponatrémie une conséquence diluée de l'hydratation. Le médecin du québec ; 40(12) : 51-54 (2005).
- Le Pechoux C, Besse B, Ferreira I, Bretel JJ, Bruna A, et al. [Small-cell lung cancer (CPC). Management of patients presenting with limited stage small-cell carcinoma of the lung]. Rev Mal Respir ;23[16S188–16S97] (2006).
- Leslie A, Litzky MD. Tumeurs neuroendocrines pulmonaires. surgical pathology clinics; 3(1 ) : (2010).
- Ling Cao, Zhi-wen Li, Min Wang, Ting-ting Zhang, Bo Bao, Yun-peng Liu. Clinicopathological characteristics, treatment and survival of pulmonary large cell neuroendocrine carcinoma: a SEER population-based study., PeerJ ; vol.7:6539 (2019).
- Linnoila R Ilona. Functional facets of the pulmonary neuroendocrine system. Laboratory investigation ;86(5) :425-444p (2006).
- Luisella Righi, Gaia Gatti, Marco Volante, Mauro Papotti. Lung neuroendocrine tumors: pathological characteristics. Journal of thoracic disease ; 9(15) : 1443 (2017).
- Iyoda Akira, Hiroshima Kenzo, Baba Masayuki et al. Pulmonary large cell carcinomas with neuroendocrine features are high-grade neuroendocrine tumors. The Annals of thoracic surgery ; 73(4) : 1049-1054p (2002).
- Mamdani H, Induru R, Jalal SI. Novel therapies in small-cell lung cancer. Transl Lung Cancer Res; Vol4:533–44 (2015).
- Manfred Schwab. Lymphadenectomy. Encyclopedia of Cancer. 5948p (2015).

## Références bibliographiques

- Martelli-Reid, Christine Asik, Nina Baluja, Peter Ellis, David Dawe, Helaine Guther, Susan Hanes, Barbara Jackson, Raymond Jang, Micheal Johnston, Natasha Leighl, Hailee Morrison, Christina Sit, Vicki Sorrenti, Ananb Swaminath, Yee Ung, Sunil Verma, Paul Wheatly-Price, Magdalene Winterhoff, Joanne Yu. *Cancer pulmonaire Canada* (2006).
- Martini Nael, Melamed Myron R. Occult carcinomas of the lung. *The Annals of Thoracic Surgery* ; 30(3) :215-223p (1980).
- Mochizuki E, Matsuura S, Oishi K, Miyashita K, Ichijyo K, Furukawa S, Sakurai S, Surgical resection for clinical stage I high-grade neuroendocrine carcinoma of the lung. *World journal of surgical oncology* ; 16(1) : 33 (2018).
- Mokhtar N, Salama A, Badawy O. Neuroendocrine tumors. In: Mokhtar N, Asmaa S, Badawy O, Khorshed E, Mohamed G, Ibrahim M, editors. *Cancer pathology registry 2000–2011*. Cairo, Egypt: Cairo Press; 220–5p (2016).
- Montcouquiol Sylvir. Syndrome cave supérieur et cancer bronchique : stratégie thérapeutique à partir de l'expérience nancéenne. Thèse de Doctorat. Université Henri Poincaré, Nancy1. Faculté de médecine. 22p (2001).
- Naidoo J, Santos-Zabala ML, Iyriboz T, Woo KM, Sima CS, et al. Large-cell neuroendocrine carcinoma of the lung: clinico-pathologic features, treatment, and outcomes. *Clin Lung Cancer* (2016).
- Nitadori Jun-ichi, Genichiro Ishii, Koji Tsuta, Tomoyuki Yokose, Yukinori Murata, Tetsuro Kodama, Kanji Nagai, Harubumi Kato, Atsushi Ochiai. Immunohistochemical Differential Diagnosis Between Large Cell Neuroendocrine Carcinoma and Small Cell Carcinoma by Tissue Microarray Analysis With a Large Antibody Panel., *American Journal of Clinical Pathology* ; Vol 125 : 682-692p (2006).
- Pan J, Copland I, Post M, Yeger H, Cutz E. Mechanical stretch-induced serotonin release from pulmonary neuroendocrine cells: implications for lung development. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* ; 290(1) :185-193 (2006).
- Paneth M, Goldstraw P, Hyams B. Sleeve Resection In : *Fundamental Techniques in Pulmonary and Oesophageal Surgery*. Springer London ;84-90p (1987).
- Patel P, Galoian K. Molecular challenges of neuroendocrine tumors. *Oncology letters* ; 15(3) : 2715-2725 (2018).



## Références bibliographiques

Pellat Anna, marie wislez, magali svvrcek, pascal hammel, pauline afchain, thierry andré. Prise en charge thérapeutique des tumeurs neuroendocrines peu différenciées pulmonaires et des carcinomes neuroendocrines digestifs. Bull Cancer,3p. (2016).

Pier Luigi Filosso, Piero Ferolla, Francesco Guerrera, Enrico Ruffini1, William D. Travis Giulio Rossi, Paolo Olivo Lausi, Alberto Oliaro. Multidisciplinary management of advanced lung neuroendocrine tumors. Journal of thoracic disease ; Vol 7 : (2015).

Piro Roberto, Tonelli Roberto, Taddei Sofia et al. Atypical diagnosis for typical lung carcinoid. BMC Pulmonary Medicine ; 19(1) : 168p (2019).

Pouillart P. Chimiothérapie néo-adjuvante : justificatif historique et expérimental. Oncologie vol 6 : 147-149p (2004).

Pujan H Patel, Vincent S Mirabile, Sandeep Sharma. Wheezing. Statpearls. (2020).

Qian Zhe, Hu Ying, Zheng Hua, Dong Yujie, Wang Qunhui et Li Baolan. Analyse clinique de 22 cas de carcinome neuroendocrinien à grandes cellules du poumon. Chinese Journal of Lung Cancer ; 19 (2) :82 (2016).

Reck M, Bondarenko I Luft A, Serwatowski P, Barlesi F, et al. I pilimumabin

combination with paclitaxel and carboplatinas first-line therapy inextensive-disease-small-cell lung cancer : results from a randomized, double-blind, multi centerphase trial. Ann Oncol;24:75–83 (2013).

Rekhtman Natasha. Neuroendocrine tumors of the lung: an update. Archives of Pathology and Laboratory Medicine ; 134(11) : 1628-1638p (2010).

Rekhtman N, Pietanza MC, Hellmann MD, Naidoo J, Arora A, Won H, Paik PK et al. Next-generation sequencing of pulmonary large cell neuroendocrine carcinoma reveals small cell carcinoma–like and non–small cell carcinoma–like subsets. Clinical Cancer Research ; 22(14) :3618-3629 (2016).

Riaz SP, Lüchtenborg M, Coupland VH, Spicer J, Peake MD, Moller H. Trends in incidence of small cell lung cancer and all lung cancer. Lung cancer, un autre article de resultats ;75(3) : 280-284 (2012).

Roesel C, Terjung S, Weinreich G, Gauler T, Theegarten D, et al. A single institution analysis of the surgical management of pulmonary large-cell neuroendocrine carcinomas. Ann Thorac Surg ;101(5) (2016).

Romesser Paul B, Bardash Yonatan, Buonocore Darren et al. Outcomes of Stage

## Références bibliographiques

- III NSCLC with occult primary vs. known primary lesions. *Lung Cancer* ; vol.127 :34-36p (2019).
- Roth Felix D, Quintar Amado A, Leimgruber Carolina et al. Restoration of the normal Clara cell phenotype after chronic allergic inflammation. *International Journal of Experimental Pathology* ; 94(6) : 399-411p (2013).
- Rouquette Lassalle I. [Pulmonary neuroendocrine tumors and preneoplastic lesions]. *Ann Pathol*; 36(1) : 34-43 (2016).
- Saber Magdy, Ismail Yahia, Alieldin Nelly, Loay Iman, El Zawahry Mohamed. Neuroendocrine tumors of the lung: A five-year retrospective experience of Egyptian NCI (2010–2014). *Journal of the Egyptian National Cancer Institute* ;(2018).
- Saint-André J-P, Guyétant S. Système de cellules neuroendocrines. *Encycl Méd Chir Ed Sci Médicales Elsevier SAS Paris Tous Droits Réservés Endocrinol-Nutr. 10-001-L-10* : 9p (2000).
- Saito M, Shiraishi K, Goto A, Suzuki H, Kohno T, Kono K. Développement d'une thérapie ciblée et d'une immunothérapie pour le traitement du cancer du poumon à petites cellules. *Journal japonais d'oncologie clinique* ; 48 (7) : 603-608 (2018).
- Schlumberger M, Baudin E. (Neuroendocrine tumors). *Ann Endocrinol* ; 58(2) : 95-9p (1997).
- Scoazec Jy, Anne C. Tumeurs neuroendocrines du tube digestif et du pancréas : ce que la pathologie doit faire en 2014. *Annale de pathologie* ; 34 ; 40-50 (2014).
- Scott j della. Remplissage de tumeurs neuroendocrines pulmonaires de haut grade avec un cheval de Troie ciblé par DLL3. *Oncologie moléculaire et cellulaire* ;3(2) (2016).
- Sicari Vincent et Zabbo Christopher P. Stridor. *Statpearls* (2018).
- Simbolo M, Di Noia V, D'Argento E, Milella M, Scarpa A, Tortora G, Pilotto S et al. Exploring the molecular and biological background of lung neuroendocrine tumours. *Journal of thoracic disease* ; 11(9) : 1194p (2019).
- Simbolo M, Mafficini A, Sikora KO, Fassan M, Barbi S, Corbo V, et al. Lung neuroendocrine tumours: deep sequencing of the four World Health Organization histotypes reveals chromatin-remodelling genes as major players and a prognostic role for TERT, RB1, MEN1 and KMT2D. *J Pathol*;241:488–500p (2017).
- Slavova Yanina, Marinova Dora, Maksimov Vladimir et al. Expression of

## Références bibliographiques

immunohistochemical markers chromogranin A, Ki-67, CD99, EGFR in resected pulmonary neuroendocrine tumors. *European Respiratory Journal* ; vol38 : p1494 (2011).

Slotman BJ, Van Tinteren H, Praag JO, Kneegens JL, ElSharouni SY, et al. Use of thoracic radiotherapy for extensive-stage small-cell lung cancer: a phase 3 randomised controlled trial. *Lancet* ; 385:36–42 (2015).

Song Hai, Yao Erica, Lin Chuwen, et al. Functional characterization of pulmonary neuroendocrine cells in lung development, injury, and tumorigenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* ; 109(43) : p 17531-17536 (2012).

Steuer CE, Behera M, Kim S, Chen Z, Saba NF, Pillai RN, Ramalingam SS. Atypical carcinoid tumor of the lung: a surveillance, epidemiology, and end results database analysis. *Journal of Thoracic Oncology* ; 10(3) :479-485 (2015).

Sudha Pandit, Pavan Annamaraju, Kamal Bhusal. Carcinoïde Syndrome. *statpearls*. (2020).

Sui Pengfei, Wiesner, Darin LXU, Jinhao et al. Pulmonary neuroendocrine cells amplify allergic asthma responses. *Science* ; 360 (6393) (2018).

Sung S, Shirazi M, Shu CA, Crapanzano JP, Saqi A. Pulmonary small cell carcinoma: Review, common and uncommon differentials, genomics and management. *Diagnostic Cytopathology* ; 14(1) :11p (2020).

Sushil K, Mahata Angelo Corti. Chromogranin A and its fragments in cardiovascular, immunometabolic and cancer regulation. *Academy of Sciences* ; vol 1455 :pg34-58 (2019).

Swarts DR, Ramaekers FC, Speel EJM. Molecular and cellular biology of neuroendocrine lung tumors: evidence for separate biological entities. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer* ; 1826(2) : 255-271p (2012).

Sveinung Sorhaug. The Pulmonary Neuroendocrine System. *Physiological pathological and tumorigenic aspects* ; Vol 471 : p3978-82. (2007).

Tahiri Elousrouti L. Les carcinomes broncho-pulmonaires : aspect épidémiologiques, histologiques, immunohistochimiques et évolutifs au CHU Hassan II de fès université Sidi Mohammed Ben Abdellah faculté de médecine et de pharmacie FES (2017).

Takaaki Ito, Akira Matsuo, Wael Abdo Hassan. Notch signaling and Tp53/RB1 pathway in pulmonary neuroendocrine

## Références bibliographiques

tumorigenesis. translational cancer research ;5(2) (2016).

Tascilar O, Cakmak GK, Tekin IO, Emre AU, Ucan BH, Irkorucu O, Comert M. Neural cell adhesion molecule-180 expression as a prognostic criterion in colorectal carcinoma: Feasible or not?. World Journal of Gastroenterology: WJG ; 13(41) : 5476p (2007).

Theone Sarah, Adler Dan Elie, Schneider PA et al. Prise en charge de l'hémoptysie massive. Revue médicale suisse ;11(495) : 2157- 2162p (2015).

Thunnissen Erik, Borczuk Alain C, Flieder Douglas B et al. The use of immunohistochemistry improves the diagnosis of small cell lung cancer and its differential diagnosis, An international reproducibility study in a demanding set of cases. Journal of Thoracic Oncology ; 12(2) : 334-346p (2017).

Tomita Tatsuo. Significance of chromogranin A and synaptophysin in pancreatic neuroendocrine tumors. Bosnian Journal of Basic Medical Sciences ; 20(3) : (2020).

Travis WD. Update on small cell carcinoma and its differentiation from squamous cell carcinoma and other non-small cell carcinomas. Modern Pathology ; 25(1) :18-30p (2012).

Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, Yatabe Y, Austin JH, et al. The World Health Organization classification of lung tumors: impact of genetic, clinical and radiologic advances since the 2004 classification. J Thorac Oncol;10:1243–60 (2015).

Tsai HJ, Wu CC, Tsai CR, Lin SF, Chen LT, Chang JS. L'épidémiologie des tumeurs neuroendocrines à Taiwan : une étude nationale basée sur le registre du cancer. PLoS One ; 8 (4) (2013).

Valérie Cristina, Pracht Marc, Lachenal Y et al. Traitement des tumeurs malignes du foie par radiologie interventionnelle : techniques intra-artérielles [Interventional radiology procedures for malignancies of the liver treatment: Intraarterial procedures]. Revue Médicale Suisse ; 10(431) : (2014).

Wang S, Tang J, Sun T, Zheng X, Li J, Sun H, Ma H. Survival changes in patients with small cell lung cancer and disparities between different sexes, socioeconomic statuses and ages. Scientific reports ; 7(1) :1-13 (2017).

Wang Hai-Yue, Li Zhong-Wu, Sun Wei et al. Automated quantification of Ki-67 index associates with pathologic grade of pulmonary neuroendocrine tumors. Chinese medical journal ; 132(5) : 551p (2019).

## Références bibliographiques

- Watanabe Y. TNM classification for lung cancer. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* ; 9 :343-350 (2003).
- Weichselbaum M, Sparrow M. P, Hamilton EJ, Thompson PJ, Knight DA. A confocal microscopic study of solitary pulmonary neuroendocrine cells in human airway epithelium. *Respiratory Research* ; 6(1) : 115p (2005).
- Wissler MP. Bilan de l'analyse du statut mutationnel EGFR de patients atteints d'adénocarcinomes pulmonaires pris en charge par la plateforme d'oncologiemoléculaire de CHU CAV de Nancy. Université de Lorraine. Thèse de doctorat. Université de Nancy ; 113p (2012).
- Wolin EM. Challenges in the diagnosis and management of well-differentiated neuroendocrine tumors of the lung (typical and atypical carcinoid) : current status and future considerations. *The oncologist* ; 20(10) :1123p (2015).
- Wolin EM. Advances in the diagnosis and management of well-differentiated and intermediate-differentiated neuroendocrine tumors of the lung. *Chest* ; 151(5) : 1141-1146 (2017).
- Windmüller, Beatrice Ariane, Greiner, Johannes FW, FÖRSTER, Christine, et al. A typical carcinoid of the lung—a case report with pathological correlation and propagation of the cancer stem cell line BKZ1 with synaptophysin expression. *Medicine* ; 98(49) : (2019).
- Xiongfei Li, Yuelong Hou, Tao Shi, Yue He, Dian Ren, Zuoqing Song, Sen Wei, Gang Chen, Jun Chen, Song Xu. Clinicopathological characteristics and genetic analysis of pulmonary carcinoid tumors: A single-center retrospective cohort study and literature review. *Oncology letters* ; 19 : 2446-2456 (2020).
- Yeh YC, Chou TY. Pulmonary neuroendocrine tumors : study of 90 cases focusing on clinicopathological characteristics, immunophenotype, preoperative biopsy, and frozen section diagnoses. *Journal of surgical oncology*. 109(3) : 280-286 (2014).
- Zandee WT, Herder WW. The evolution of neuroendocrine tumor treatment reflected by ENETS guidelines. *Neuroendocrinology* ;106(4) :357-365p (2018).
- Zheng Gang, Ettinger David S et Maleki Zahra. Utility of the quantitative Ki-67 proliferation index and CD56 together in the cytologic diagnosis of small cell lung carcinoma and other lung neuroendocrine tumors. *Acta Cytologica* ; 57(3) : 281-290p (2013).

## Références bibliographiques

Zalcman Gérard. Les biomarqueurs du cancer bronchopulmonaire: actuels et émergents. Institut national de la santé et de la recherche médicale CIC1425 ; 2018.

Annexes I

Appareillages



Figure 20. Automate d'immunohistochimie (VENTANA BenchMark)



Figure 21. Bain marie (nuve)



**Figure 22.** Appareil de la déshydratation (Leica).



**Figure 23.** Microtome (Leica).



**Figure 24.** Appareil de l'inclusion (Leica).



Réactifs



Figure 25. Tampon de démasquage (TRS)



Figure 26. Tampon de lavage (TBS)

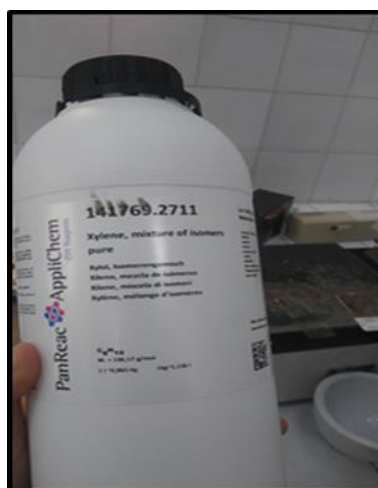
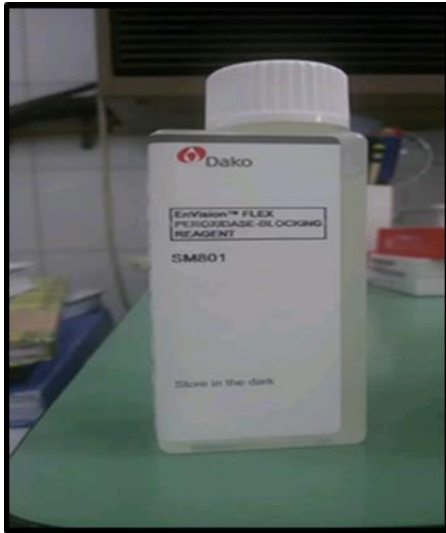


Figure 27. Xylène



**Figure 28.** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>



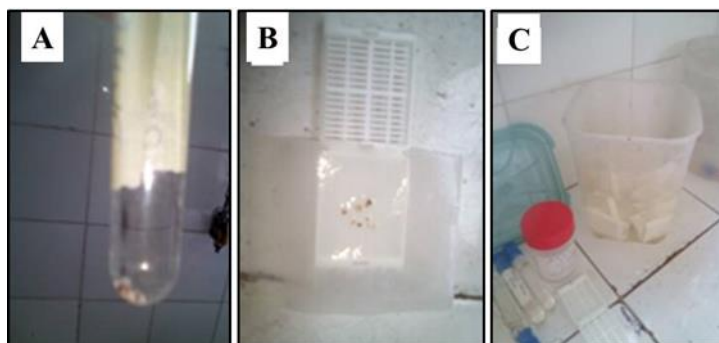
**Figure 29.** Amplifiant (HRP).



**Figure 30.** kit DAB (chromogène + tampon)

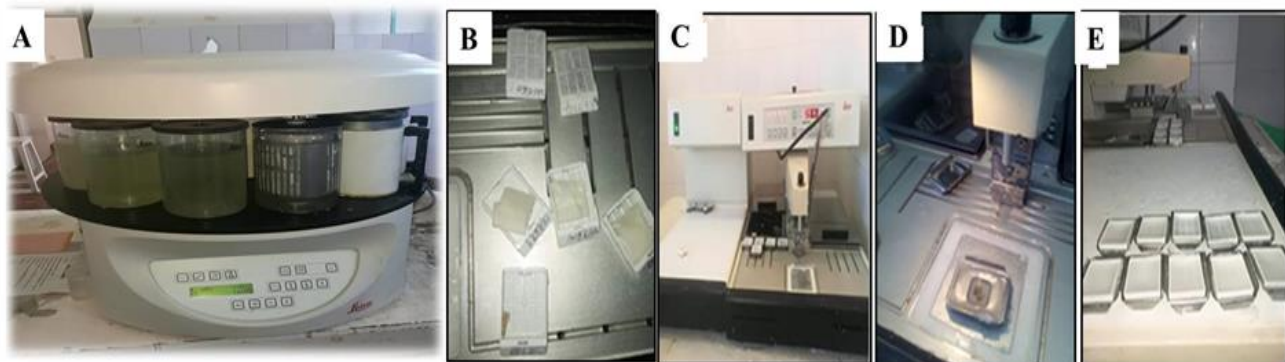
## Annexes II

### Fixation



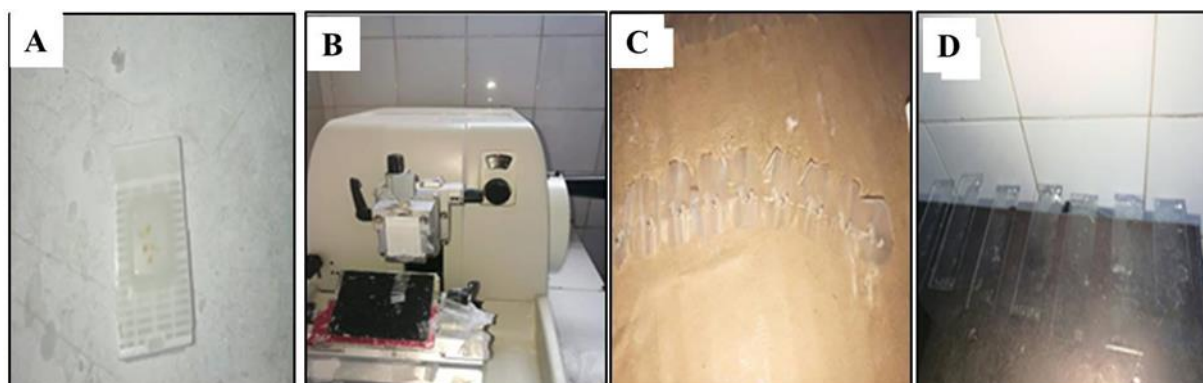
**Figure 31.** Etapes de fixation des biopsies dans le formol à 10%. A, biopsie bronchique fixée au formol après prélèvement. B, biopsies mises dans une cassette à l'aide d'un papier joseph. C, biopsies fixées dans le formol après avoir été mise en cassette.

### Déshydratation et inclusion

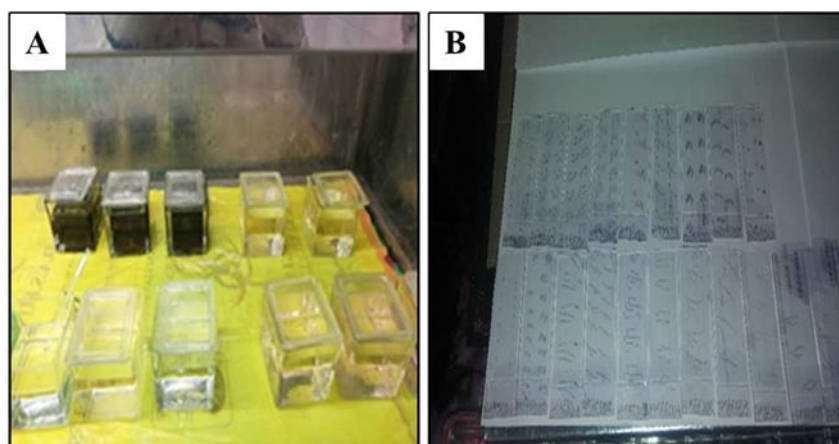


**Figure 32.** Étapes de déshydratation, inclusion et confections de blocs de paraffine. A, automate LEICA de déshydratation et d'inclusion. B, biopsies déshydratées et prêtent pour l'inclusion. C et D, confection des blocs de paraffine à l'aide de l'automate LEICA. D, refroidissement des blocs dans la zone froide de l'appareil LEICA.

**Coupes histologiques et coloration H-E**



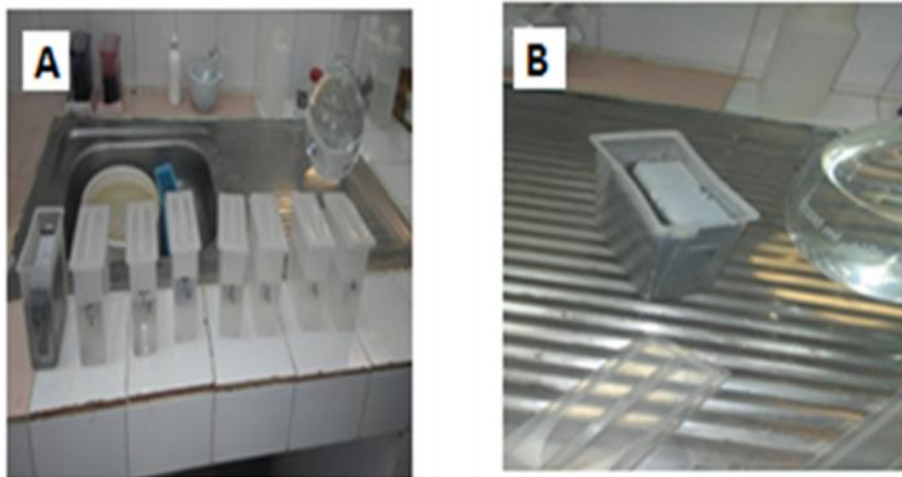
**Figure 33.** Etapes de coupes histologiques. A, biopsies bronchiques incluses au bloc de paraffine. B, un microtome (LIEICA). C, coupes histologiques de 3 µm (ruban). D, étalement des coupes histologiques sur lames.



**Figure 34.** Etapes de coloration hématoxyline- éosine (H-E). A, batterie de coloration H-E. B, lames prêtes pour l'observation au microscope.

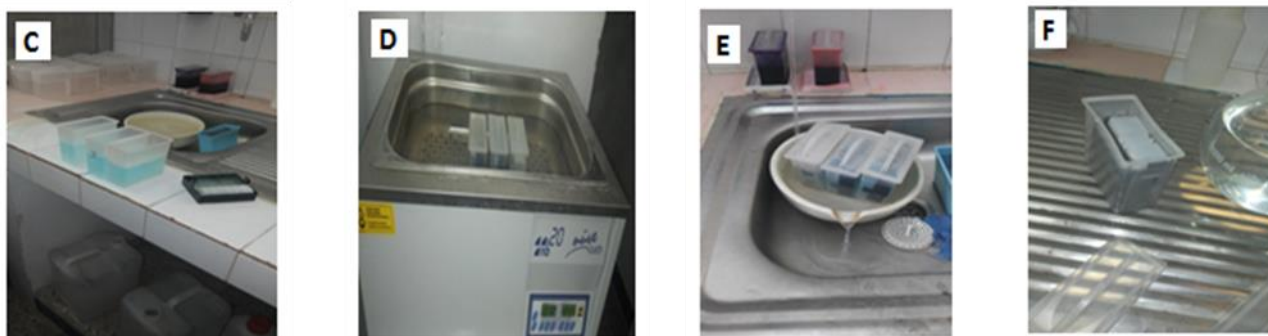
## Etude immunohistochimique (IHC)

### Déparaffinage



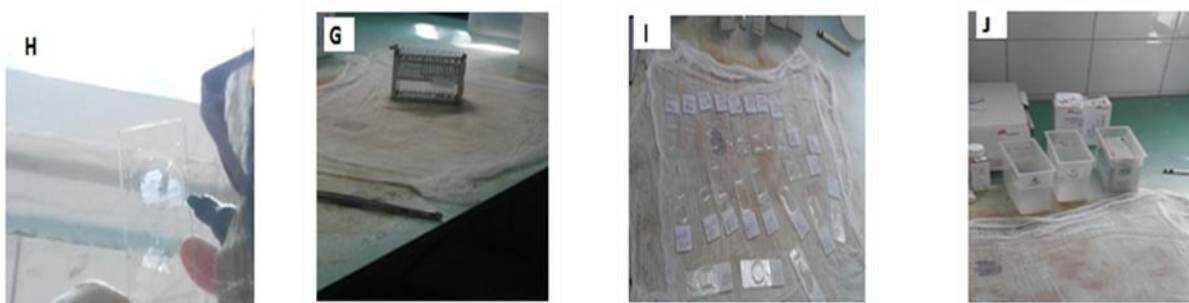
**Figure 35.** Etape de déparaffinage. A : 8 bains de déparaffinage (4 bains du toluène et 4 bains d'alcool) B : bain de l'eau distillé (rinçage des tissus).

### Démasquage



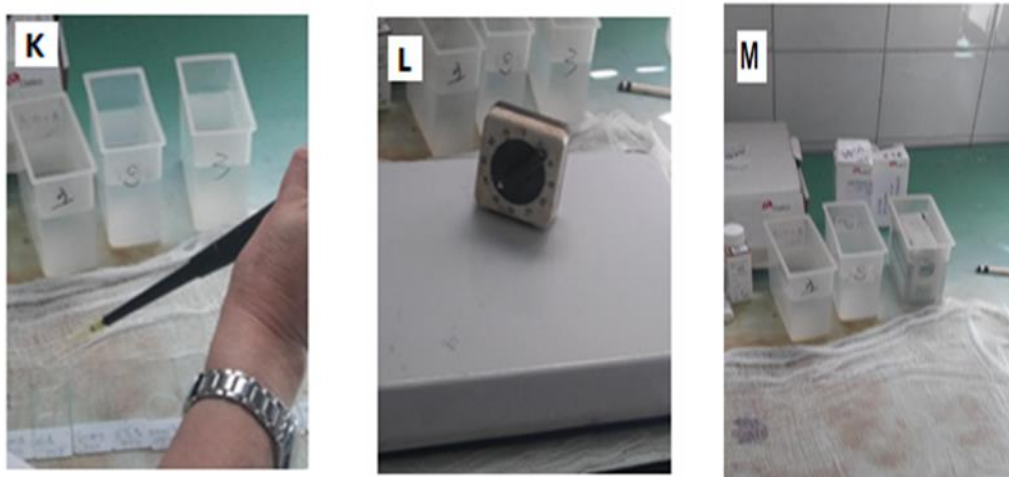
**Figure 36.** Etapes de démasquage. C : 3bain de tampon du démasquage (TRS) D : bain marie (nuve) E : refroidissement des lames sous l'eau courant F : bain d'eau distillée.

**Blocage des peroxydases endogènes**



**Figure 37.** Etapes de blocage de peroxyde endogène. G : délimitation des tissus par le DACO PEN H : préparation d'un milieu humide I : l'ajout de peroxydase d'hydrogène sur les tissus J : 3 bains du tampon de lavage (TBS) (rinçage des tissus).

**Anticorps primaire**



**Figure 38.** Incubation de prélèvement avec l'anti corps primaire. K : l'ajout d'anti corps primaire sur les tissus (CgA/Syn/CD-56). L : l'incubation du complexe AG-AC dans le noir. M : 3 bains du tampon de lavage (TBS).



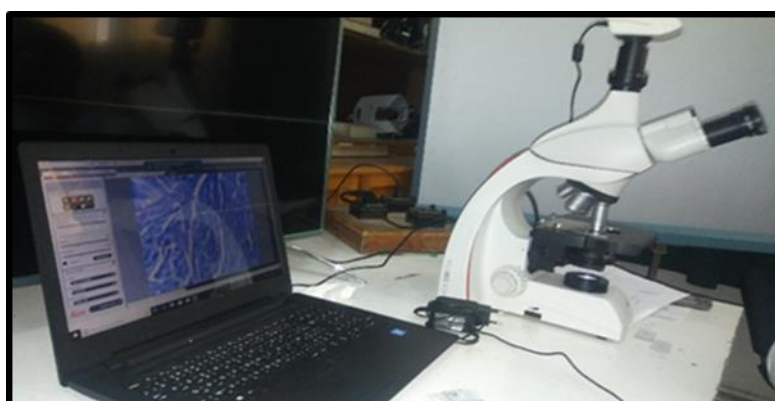
**Figure 39.** Révélation du complexe AC-AG par le chromogène DAB. N : l'ajout d'anticorps secondaire couplé à l'HRP, O : 3 bains du tampon de lavage (TBS), P : l'ajout de chromogène (DAB) (résultat positive : couleur brune : CgA+;Syn+ ; CD-56+).

### Contre coloration



**Figure 40.** Contre coloration des prélèvements et l'obtention d'une lame d'immunohistochimie  
R : bain de l'hématéine, S : lame d'immunohistochimie

### Etude microscopique



**Figure 41.** Interprétation des lames à l'aide d'un microscope électronique.