

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ DE SAAD DAHLAB BLIDA-1



FACULTÉ 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

Chef d'option : Dr. SAADI L.

THEME

**Etude du profile immunohistochimique du cancer broncho-pulmonaire
chez des patients Algériens**

Présenté par

AMIMER Amel

DJOUAT Assia

Soutenu publiquement le 16/07/2019. Devant le jury composé de :

M^r BENYAHIA N.	Maitre-Assistant A	USDB1	Président
M^{me} CHALAL N.	Maitre de Conférences B	USDB1	Examinatrice
M^{me} RAHIM I.	Maitre de Conférences B	USDB1	Promotrice
M^r BAHA A.	Maitre-Assistant B	CHU- Isaad Hassani Beni Messous Alger	Co-promoteur

Promotion 2018/2019

Remerciements

Le présent mémoire n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide bienveillante, la compréhension et le dévouement de certaines personnes qui, par leur présence et leurs conseils, nous ont soutenus.

Ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide et l'encadrement exceptionnel de notre promotrice : **M^{me} RAHIM I.** Maitre de Conférences B (USDB1/USTHB). Nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères pour avoir accepté de nous encadrer. Nous vous remercions pour votre confiance, conseils, et surtout vos encouragements tout au long de notre stage. Merci Madame pour votre disponibilité et votre patience, vos précieuses directives et la qualité de votre suivi, qui nous ont été d'une grande aide dans la préparation de ce mémoire.

Nos remerciements s'adressent aussi à notre co-promoteur : **M^r BAHA A.** Maître-assistant (CHU Isaad Hassani à beni Messous d'Alger). Nous vous remercions pour nous avoir ouvert les portes du laboratoire d'anatomopathologie dans lequel vous travaillez, en nous proposant un thème très intéressant. Nous avons été très touchés par votre modestie, votre patience, votre soutien et pour tout le temps que vous nous avez consacré. Vos précieuses directives, la qualité de votre suivi, votre rigueur et votre disponibilité durant toute la période de notre stage, ont été d'une grande aide dans la préparation de ce mémoire.

Nous voudrions remercier les membres de jury, pour l'honneur qu'ils nous ont fait d'avoir acceptés de lire et d'examiner ce travail.

Nous remercions vout, plus particulièrement, à **Mr BENYAHIA N.** Maître-assistant A (USDB1), pour nous avoir ci-bien formé et nous avoir transmis son savoir. Nous avons tant appris grâce à vous. Veuillez trouver ici notre profonde gratitude.

Nous tenons aussi à remercier **M^{me} CHALAL N.** Maitre de Conférences B (USDB1), d'avoir accepté d'examiner ce travail, nous comptons sur vos remarques sans doute enrichissantes.

Nous remercions vout, plus particulièrement, à **M^{me} SAADI L.** Maitre de Conférences B (USDB1), nous avoir aidé à trouver ce stage, pour nous avoir ci-bien formé et nous avoir transmis son savoir, pour nous avoir prodigué tous les moyens nécessaires au bon déroulement de notre cursus. Nous avons tant appris grâce à vous. Veuillez trouver ici notre profonde gratitude.

Enfin, nous n'oublions pas de remercier professeure **SLIMANI** chef de service, l'ensemble du personnel du laboratoire, **Dr BOULKBACH** et **Dr CHLOUCHE**, qui nous ont accueilli de la meilleure des façons et qui nous ont aidé à réaliser ce travail.

Je dédie ce modeste travail à :

Mes Parent, qui me sont les personnes les plus chères, et les plus précieux au monde, pour leur amour, leur éducation, leur soutient morale et financier ainsi que leur courage et sacrifices. Je vous remercie et que Dieu vous protège

Mes très chères sœurs Hassiba et Hafida

Mes très chers frères Ishak et Mhammed

Tous mes amis

Toute ma famille

Toute la promotion BCM 2019

Tous les membres de la FSB/USDB1

Amel

Je dédie ce travail qui n'aura jamais pu voir le jour sans les soutiens indéfectibles et sans limite de mes chers parents qui ne cessent de me donner avec amour le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui.

Que dieux vous protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur.

Je dédie aussi ce travail à :

- ✚ Mes grands-parents.**
- ✚ Mon frère, mes sœurs et leur famille.**
- ✚ Tous mes amis et tous ceux qui m'estiment.**
- ✚ Toute la promotion BCM 2019.**
- ✚ Tous les membres de la FSB/USDB1.**

Assia

Les cancers broncho-pulmonaire sont au premier rang de la fréquence des cancers et représentent la principale cause de mortalité par cancer chez l'homme et chez la femme dans le monde. L'incidence et la mortalité par cancer broncho-pulmonaire sont en augmentation constante malgré les avancées dans le domaine thérapeutique et une meilleure compréhension de sa physiopathologie. Le diagnostic précoce pourrait accroître les chances de réussite du traitement et ainsi la survie des patients. Cette étude avait pour but d'étudier l'apport de l'immunohistochimie en ciblant deux marqueurs spécifiques, le TTF1 et le p63, dans le diagnostic du cancer broncho-pulmonaire.

Nous avons réalisé une étude rétrospective et prospective sur 88 cas de cancer broncho-pulmonaire. Les paramètres épidémiologiques, cliniques, anatomopathologiques et immunohistochimiques ont été déterminés.

Les résultats épidémiologiques ont révélé une prédominance du cancer broncho-pulmonaire chez les hommes fumeurs âgés de 50 à 70 ans et ayant une consommation tabagique de 45 paquets/ année. 74% des patients ont été diagnostiqués à un stade tardif IV du cancer dont 54% présentent des antécédents personnels principalement une hypertension artérielle dans 43 % des cas.

Les résultats anatomopathologiques ont révélé une prédominance des carcinomes bronchiques non à petites cellules dans 94,3% des cas dont 60% étaient des adénocarcinomes et 31,32% des carcinomes épidermoïdes. Les profils immunohistochimiques pour l'adénocarcinome étaient p63⁻/TTF1⁺ et p63⁺/TTF1⁻ pour le carcinome épidermoïde.

Ces résultats suggèrent que l'immunohistochimie en utilisant les biomarqueurs TTF1 et p63 pourrait constituer un outil de diagnostic spécifique et ciblé afin de distinguer entre les sous-types de carcinome bronchique non à petites cellules, l'adénocarcinome et le carcinome épidermoïde, pour une thérapie ciblée.

Mots clés: cancer broncho-pulmonaire, immunohistochimie, TTF1, P63, adénocarcinome, carcinome épidermoïde.

Bronchopulmonary cancers are at the forefront of cancer incidence and represent the leading cause of cancer death in men and women worldwide. The incidence and mortality of bronchopulmonary cancer are constantly increasing despite advances in the therapeutic field and a better understanding of its pathophysiology. Early diagnosis could increase the chances of successful treatment and thus patient survival. This study aimed to study the contribution of immunohistochemistry by targeting two specific markers, TTF1 and p63, in the diagnosis of bronchopulmonary cancer.

We performed a retrospective and prospective study on 88 cases of bronchopulmonary cancer. Epidemiological, clinical, pathological and immunohistochemical parameters were determined.

Epidemiological results revealed a predominance of bronchopulmonary cancer in 50 to 70 years old male smokers with a cigarette smoking rate of 45 packets / year. 74% of the patients were diagnosed at a late stage IV of the cancer of which 54% exhibit a personal antecedents mainly arterial hypertension in 43% of the cases.

Histological results revealed a predominance of non-small cell lung carcinoma in 94.3% of cases, of which 60% were adenocarcinomas and 31.32% squamous cell carcinomas. The immunohistochemical profiles for adenocarcinoma were p63-/TTF1+ and p63+/ TTF1- for squamous cell carcinoma.

These results suggest that immunohistochemistry using the TTF1 and p63 biomarkers could be a specific and targeted diagnostic tool for distinguishing between non-small cell lung carcinoma subtypes, adenocarcinoma and squamous cell carcinoma, for targeted therapy.

Key words: bronchopulmonary cancer, immunohistochemistry, TTF1, p63, adenocarcinoma, squamous cell carcinoma.

الملخص

يعد سرطان القصبات الهوائية و الرئة السبب الرئيسي لوفيات السرطان في جميع أنحاء العالم بالنسبة للرجال والنساء ، بغض النظر عن التقدم المحرز في المجال العلاجي وفهم أفضل للفيزيولوجيا المرضية لهذا السرطان. التشخيص المبكر يمكن أن يزيد من فرص الحياة و نجاح العلاج. يهدف هذا العمل إلى دراسة مساهمة الكيمياء النسيجية المناعية في تشخيص سرطان القصبات الهوائية و الرئة عن طريق استهداف بروتينات خاصة P63 و TTF1

أجرينا دراسة بأثر رجعي ومستقبلي على 88 حالة من سرطان القصبات الهوائية و الرئة. تم استخراج الخصائص الوبائية السريرية و خصائص التشخيص الكيميائية النسيجية المناعية.

كشفت النتائج الوبائية عن هيمنة سرطان القصبة الهوائية و الرئة عند المدخنين الذكور الذين تتراوح أعمارهم بين 50 و 70 عامًا، حيث يبلغ معدل تدخين السجائر 45 علبة / عامًا. تم تشخيص 74 ٪ من المرضى في مرحلة متقدمة (IV) من السرطان ، منهم 54 ٪ لديهم سوابق مرضية شخصية مرتفعة تتمثل بشكل رئيسي في ضغط الدم في 43 ٪ من الحالات.

كشفت النتائج التشخيصية عن غلبة سرطان الرئة ذو الخلايا غير الصغيرة في 94.3 ٪ من الحالات ، منها 60 ٪ من سرطان الغدية و 31.32 ٪ من سرطان الخلايا الحرشفية. كانت نتائج الدراسة الكيميائية النسيجية المناعية لسرطان الغدية على الشكل -P63/TTF1+ و على الشكل -TTF1/P63+ لسرطان الخلايا الحرشفية.

هذه النتائج تشير إلى أن تقنية الكيمياء النسيجية المناعية باستخدام العلامات الحيوية TTF1 و p63 مما لا شك فيه تشكل أفضل تقنية من حيث دقة تشخيص سرطان الرئة ذو الخلايا غير الصغيرة و لاختيار العلاجات المستهدفة المناسبة للمرضى.

الكلمات المفتاحية: سرطان القصبات الهوائية و الرئة ، تقنية الكيمياء النسيجية المناعية ، TTF1 ، P63 ، سرطان الغدية ، سرطان الخلايا الحرشفية.

Figure 1. Anatomie de l'appareil respiratoire et organisation cellulaire de la muqueuse respiratoire	3
Figure 2. Carcinome à petites cellules	6
Figure 3. Adénocarcinomes avec variantes architecturales et cytologiques	7
Figure 4. Les différents sous-types du carcinome épidermoïde bronchiques.....	8
Figure 5. Carcinome a grande cellules	8
Figure 6. Etapes de diagnostic du CBP non à petites cellules suivies par le laboratoire d'anatomie pathologique CHU Issad Hassani Beni Messous.....	21
Figure 7. Schéma récapitulatif du principe d'immunohistochimie basé sur la méthode des Polymères	25
Figure 8. Répartition des patients atteints du CBP selon le genre.....	30
Figure 9. Répartition des patients atteints de CBP dans quatre tranches d'âges.....	32
Figure 10. Répartition des patients atteints de CBP selon la consommation de tabac	33
Figure 11. Répartition des patients atteints de CBP selon la taille tumorale (T).....	36
Figure 12. Répartition des patients atteints de CBP selon le statut ganglionnaire (N).....	37
Figure 13. Répartition des patients atteints de CBP selon le site métastatique (M).....	38
Figure 14. Répartition des patients atteints de CBP selon le stade clinique.....	39
Figure 15. Répartition des patients atteints de CBP selon le type histologique.....	41
Figure 16. Coupes histologiques d'un adénocarcinome primitif bien différencié	44
Figure 17. Coupes histologiques d'adénocarcinome secondaire d'origine colique	45
Figure 18. Coupes histologiques de carcinome épidermoïde kératinisant.....	45
Figure 19. Carcinome épidermoïde non kératinisant	46
Figure 20. Immuno-marquage à l'aide de l'anticorps anti-TTF1 d'un adénocarcinome primitif.....	47
Figure 21. Immuno-marquage à l'aide de l'anticorps anti-TTF1 d'un adénocarcinome secondaire d'origine colique.....	48
Figure 22. Immuno-marquage à l'aide de l'anticorps anti-TTF1 et anti-p63 d'un carcinome épidermoïde kératinisant	49
Figure 23. Immuno-marquage à l'aide de l'anticorps anti-TTF1 et anti-p63 d'un carcinome épidermoïde non kératinisant	49
Figure 24. Répartition des patients atteints d'un adénocarcinome/carcinome épidermoïde	

selon le profile immunohistochimique50

Figures annexe**Figures 25.** Fiche d'exploitation**Figures 26.** Automate d'immunohistochimie**Figures 27.** Bain marie**Figures 28.** Appareil de la déshydratation**Figures 29 .**Microtome**Figures 30.** Appareil de l'inclusion**Figure 31.** Tampon de démasquage (TRS)**Figure 32 .**tampon de lavage (TBS)**Figure 33 .**les antis corps (TTF1, P63)**Figure 34.** Xylène**Figure 35.** H₂O₂**Figure 36.**amplifiant (HRP)**Figure 37.** Kit DAB (chromogène + tampon)**Figure 38.** Etapes d'endoscopie bronchique**Figure 39.** Étapes de fixation des biopsies dans le formol à 10%**Figure 40.** Étapes de déshydratation, inclusion et confections de blocs de paraffine**Figure 41.** Etapes de coupes histologiques**Figure 42.** Etapes de coloration hématoxyline- éosine (H-E)**Figure 43.** Coupe histologique d'une biopsie transparital (carotte tissulaire)**Figure 44.** Coupe histologique d'une biopsie bronchique

Figure 45. L'étape de déparaffinage

Figure 46. L'étape de démasquage

Figure 47. L'étape de blocage de peroxyde endogène

Figure 48. L'incubation de prélèvement avec l'anti corps primaire

Figure 49. La révélation du complexe AC-AG par le chromogène DAB

Figure 50. La contre coloration des prélèvements et l'obtention d'une lame

Figure 51. L'interprétation des lames à l'aide d'un microscope électronique

Figure 52. Incidences standardisées du CBP à Alger et Oran de 1996 à 2010 en fonction du sexe

Figure 53. Histologie des lésions préneoplasiques bronchiques

Liste des abréviations

ADC: Adénocarcinome

ATS: American Thoracic Society

BPCO : Broncho-pneumopathie chronique obstructive

CBNPC : Cancer bronchique non à petites cellules

CBP : Cancer broncho-pulmonaire

CBPC : Cancer bronchique à petites cellules

CE : Carcinome épidermoïde

CHU : Centre hospitalier universitaire

CK : Cytokératine

CPPA : Consultation pneumo-physiologie Allergologie

DAB : 3, 3'-diaminobenzidine

DT : Diabète

EFR : Explorations fonctionnelles respiratoires

ERS : European Respiratory Society

HBP : Hypertrophie bénigne de la prostate.

HE : Hématoxyline éosine

HES : Hématoxyline éosine safran

HP : Hypertrophie de la prostate

HRP : Horseradish peroxidase

HTA : Hypertension artériel

IARC: International Agency for Research on Cancer

IASLC: International Association for the Study of Lung Cancer

IHC: Immunohistochimie

Liste des abréviations

MAGE-A3: Melanoma Associated Antigen-A3

NOS: Not Otherwise Specified

OMS : Organisation mondiale de la Santé

PAHs : Polycyclic aromatic hydrocarbons

PAS: Periodic acid shiff

RR: Risque relatif

TBS: Tris-Buffered Saline

TKI: Tyrosine kinase inhibitor

TNM: Tumor - Node - Metastasis

TRS: Target Retrieval Solution

TTF1: Thyroid transcription factor-1

VEGF: Vascular endothelial growth factor

VEGFR: Vascular endothelial growth factor receptor

Tableau 1. Classification TNM du cancer du poumon, 8ème édition	13
Tableau 2. Classification du cancer du poumon par stade	14
Tableau 3. Circuit de la batterie de déshydratation et d'imprégnation du tissu à la paraffine.....	22
Tableau 4. Etapes de coloration hématoxyline- éosine.....	24
Tableau 5. Etapes de l'immunohistochimie (IHC).....	28
Tableau 6. Répartition des patients atteints d'un CBP selon le genre.....	29
Tableau 7. Répartition des patients atteints de CBP selon l'âge.....	31
Tableau 8. Répartition des patients atteints de CBP selon l'état tabagique.....	33
Tableau 9. Répartition des patients atteints de CBP selon les antécédents personnels.....	35
Tableau 10. Répartition des patients atteints de CBP selon la taille tumorale(T).....	36
Tableau 11. Répartition des patients atteints de CBP selon le statut ganglionnaire (N).....	37
Tableau 12. Répartition des patients atteints de CBP selon le site métastatique (M).....	38
Tableau 13. Répartition des patients atteints de CBP selon le stade clinique.....	39
Tableau 14. Répartition des patients atteints de CBP selon le type histologique.....	40
Tableau 15. Profile immunohistochimique des adénocarcinomes et des carcinomes épidermoïdes.....	50

Tableaux d'annexes

Tableau 16. Répartition des patients atteints de CBP selon les pathologies associées	
---	--

Chapitre I :

Rappels bibliographiques

Chapitre II :

Matériels et méthodes

Chapitre III :

Résultats et discussion

Références bibliographiques

Notre étude a été réalisée au niveau du service d'anatomie pathologique du CHU Issad Hassani à Beni Messous d'Alger, durant une période de 5 mois du 1 février au 15 juin 2019.

Il s'agit d'une étude rétrospective établie sur 50 patients atteints de cancer broncho-pulmonaire (CBP) diagnostiqués en 2018. Une étude prospective a été menée parallèlement entre janvier et juin 2019 sur 38 cas atteints de CBP.

Notre travail a porté sur l'étude de l'apport de l'immunohistochimie dans le diagnostic, la classification histologique, et le pronostic du cancer broncho-pulmonaire (CBP) chez des patients Algériens.

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel non Biologiques

L'appareillage, les réactifs sont cités en *Annexe II*

II.1.2. Matériel Biologiques

- Biopsies bronchiques et ponctions transpariétales pulmonaires.
- Anticorps primaires : deux anticorps monoclonaux primaires ont été utilisés pour l'immunohistochimie :
 - Anti-p63 (*monoclonal mouse anti humain p63 protein, IR662, DAKO, Denmark*).
 - Anti-TTF1 (*monoclonal Mouse anti thyroid transcription factor-1, M3575 DAKO USA*).
- Anticorps secondaire conjugué à la horseradish peroxidase (HRP) Anti-souris (EnVision™ FLEX /HRP, k8000, *DAKO, USA*).

II.1.3. Patients

A. Sélection des patients :

Notre travail a été réalisé sur une population Algérienne de 88 patients (25 femmes et 63 hommes) présentant un cancer broncho-pulmonaire.

Deux études ont été parallèlement réalisées :

- Une étude rétrospective réalisée sur 50 patients atteints de CBP primitif ou secondaire, diagnostiqués en 2018 et dont l'âge varie entre 30 et 84 ans.

- Une étude prospective réalisée sur 38 patients atteints de CBP primitif ou secondaire, diagnostiqués entre janvier et Juin 2019, et dont l'âge est compris entre 18 et 80ans.

B. Critère d'éligibilité des patients

Les 88 patients sélectionnés ayant bénéficiés d'une fibroscopie bronchique ou une ponction transpariétale avec des résultats anatomopathologiques en faveur d'un cancer broncho-pulmonaire primaire ou secondaire ont été inclus dans notre l'étude.

C. Collecte des données

Les données épidémiologiques et anatomopathologiques de l'étude rétrospective ont été obtenues après étude des dossiers cliniques et des comptes rendus anatomopathologiques de 50 patients. Nous avons, entre autres, recueilli les informations liées à l'âge des patients, le type de prélèvements biologique et le type histologique. Toutes ces données ont été colligées dans une base de données Excel.

L'étude prospective a concernée 38 cas de CBP, dont les biopsies ont été adressées au laboratoire durant notre période de stage. Un questionnaire comprenant les caractéristiques cliniques (âge, sexe, tabagisme) et anatomopathologiques (type histologique, stade et classification TNM de la tumeur, antécédents personnels) est communiqué aux médecins soignants pour la récolte des informations.

D. Types de prélèvements

Sur les 88 échantillons étudiés 70 étaient des biopsies bronchiques et 18 étaient des biopsies transpariétales.

Les biopsies bronchiques ont été prélevées par fibroscopie bronchique (endoscopie), une technique qui consiste à introduire dans l'arbre bronchique, à travers les narines ou la bouche et sous anesthésie locale, un tube fin et souple (fibroscope) muni d'une micro-caméra et prélever des échantillons pulmonaires (biopsies) (**Barlési et al., 2006**).

Durant notre stage, nous avons eu la chance d'assister à un prélèvement de biopsie bronchique par endoscopie (**Figure 38, Annexe II**).

L'endoscopie bronchique est le moyen de diagnostic le plus performant. Elle permet la confirmation du CBP dans près de 80% des cas surtout dans les formes proximales. C'est un examen simple, sans complications majeures, aux contre-indications rares, qui peut être répété plusieurs fois. Le nombre de biopsies bronchiques doit être supérieur à 3 et idéalement à 6 sur

les zones suspectes, il faut biopsie systématiquement au-dessus et au-dessous de la lésion principale. Les biopsies sont adressées immédiatement au laboratoire d'anatomie pathologique dans des flacons séparés. Les renseignements cliniques complets et le compte rendu de l'endoscopie bronchique doivent être transmis au pathologiste pour un diagnostic de certitude du CBP.

Les biopsies transpariétales (ponction trans-thoracique ou carotte tissulaire) ont été réalisées sous contrôle scanographique ou échographique, à l'aide d'une aiguille introduite à travers la paroi du thorax. Cet examen permet une meilleure visibilité des lésions pulmonaires qui sont inaccessibles à l'endoscopie (tumeurs périphériques). Il est aussi préconisé dans de rares cas de contre-indications de l'endoscopie telles qu'une insuffisance respiratoire sévère ou cardiopathie avec une fraction d'éjection inférieure à 50% (Néji et al., 2018).

E. Origines des prélèvements

Les prélèvements proviennent des 3 services de pneumologies (le service pneumo-allergologie, le service des explorations fonctionnelles respiratoires (EFR), et le service de consultation pneumo-physiologie Allergologie (CPPA) du CHU Issad Hassani à Beni Messous d'Alger.

II.2. Méthodes

II.2.1. Etude anatomopathologique

L'examen anatomopathologique est indispensable après les examens d'imagerie et l'endoscopie afin d'affirmer le diagnostic de cancer. Il s'agit d'analyser au microscope des cellules ou des tissus prélevés sur un organe dans le but de déterminer toutes les caractéristiques de la tumeur (sa nature exacte, sa composition, et son degré d'agressivité). Cet examen est aussi appelé examen histopathologique (Hofman et al., 2010).

Les prélèvements (biopsies et ponctions transpariétales) sont préalablement fixés au formol tamponné à 10% par le pathologiste puis acheminés vers le laboratoire d'anatomie pathologique du CHU de Beni Messous.

Les prélèvements fixés subissent, par la suite, les différents traitements histologiques permettant d'obtenir des coupes histologiques colorées à l'hématoxyline-éosine ou ciblés par une étude immunohistochimique, dans notre cas, la protéine p63 et le facteur de transcription TTF1 (*thyroid transcription factor-1*) ont été utilisés dans l'étude immunohistochimique.

Les coupes sont lues sous microscope optique par l'anatomopathologiste qui affirme le diagnostic selon la classification IASLC/ATS/ERS de l'OMS (2015). Il identifie par ailleurs le type et le grade histologique de la tumeur et fournit un pronostic sur la gravité de la lésion.

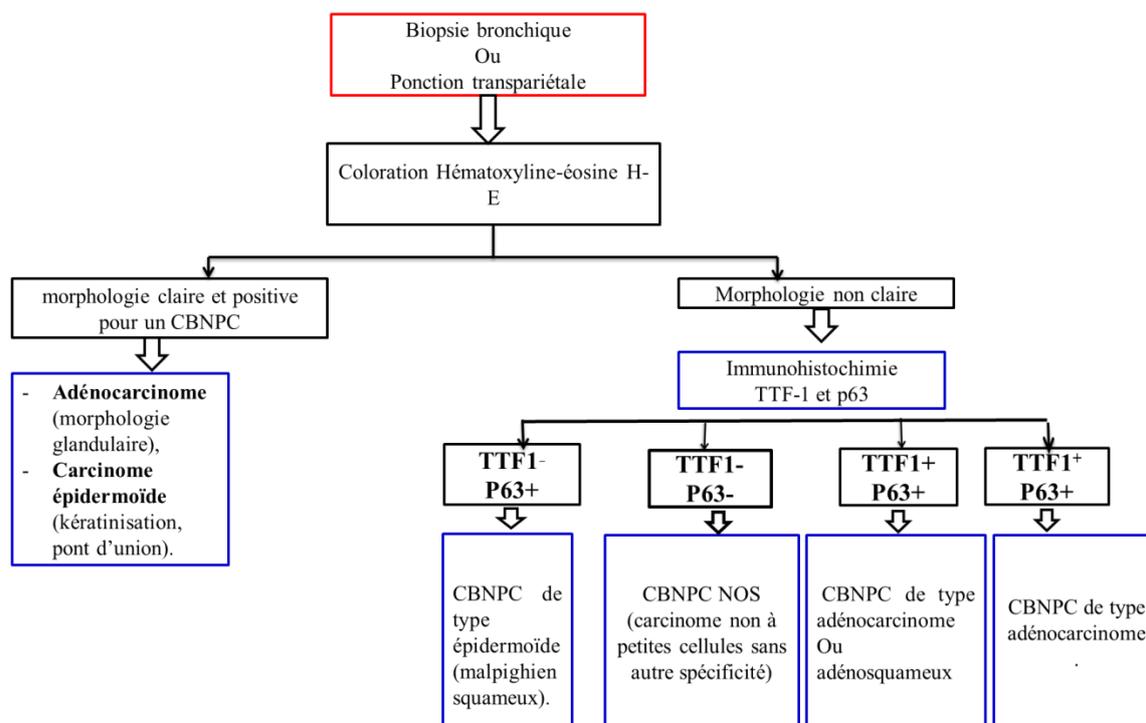


Figure 6. Etapes de diagnostic du CBP non à petites cellules suivies par le laboratoire d'anatomie pathologique CHU Issad Hassani Beni Messous d'Alger.

II.2.1.1 Etude histologique par coloration standard à hématoxyline-éosine

Les échantillons (biopsies et ponctions transpariétales pulmonaires), préalablement fixés, sont inclus, coupés et colorés afin de pouvoir les observer au microscope optique.

A. Fixation

La fixation consiste immerger le tissu dans du formol tamponné à 10% dans le but de conserver les structures à l'état le plus proche du vivant et de s'opposer à l'autolyse tissulaire. 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.

Les biopsies broncho-pulmonaires sont mises dans des cassettes en plastique sur du papier joseph puis fixées dans du formol tamponné 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 39, Annexe II**).

B. Déshydratation et inclusion

L'inclusion a pour but de permettre la réalisation de coupes fines et régulières. Le milieu d'inclusion le plus utilisé est la paraffine. 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 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 40, Annexe II**) et sont résumés dans le tableau 3.

Tableau 3. Circuit de la batterie de déshydratation et d'imprégnation du tissu à la paraffine.

Etapes	Réactifs	Durée
Fixation	Formol tamponné à 10%	1h
Déshydratation	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
Inclusion	3 bains de xylène	3h x3
	3 bains de paraffine	3hx3

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, on procède alors au démoulage ; on obtient des fragments tissulaires inclus dans un bloc de paraffine.

C. Coupes histologiques et coloration H-E

Les coupes histologiques sont faites avec un microtome ((LEICA) permettant de réaliser des tranches de section (coupes) de 2 à 5 µm d'épaisseur. Les coupes sont recueillies et 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 histologiques sont **colorées** à l'hématoxyline-éosine (H-E), une coloration topographique qui permet une vue d'ensemble 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 (**Fischer et al., 2008**).

Comme les colorants sont en solution aqueuse, les coupes doivent d'abord subir une réhydratation. Celle-ci est effectuée, après déparaffinage des coupes (physique à l'étuve 80°C pendant 5 min et chimique dans 2 bains de toluène pendant 3 min), en immergeant les lames dans des bains d'éthanol de degré décroissant (100°,95°,80°,70°) puis dans l'eau distillée (**Tableau 5**) (**Fischer et al., 2008**).

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 42, Annexe II**).

Les coupes sont déshydratés par la suite 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 préparations. Les lames ainsi montées peuvent être conservées pendant plusieurs dizaines voire plusieurs centaines d'années. Les lames sont montées pour préserver les colorations.

Tableau 4. Etapes de coloration hématoxyline- éosine.

Etapes	Réactifs	Durée
Déparaffinage	Etuve 100°C	5min
	3 bains de toluène	2min x3
Réhydratation	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
Coloration H-E	Hématoxyline	10min
	Lavage eau	2min
	Eosine	1min
	Lavage eau	2min
Déshydratation	3 bains d'éthanol 100°	45sec x3
	3 bains de Toluène	45sec x3

D. Observation microscopique

La lecture et l'interprétation des lames histologiques par l'expert pathologiste exigent une bonne maîtrise des notions de base d'anatomie, d'histologie et de physiologie afin de discerner les lésions tumorales des lésions non tumorales pour établir un diagnostic définitif et déterminer le type de cancer broncho-pulmonaire.

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

Dans notre étude 7 cas parmi les 88 cas étudiés ont été diagnostiqués juste par l'étude histologique (coloration H-E) qui a été suffisante pour mettre en évidence la positivité du CBP sans recours à l'immunohistochimie.

II.2.1.2. Etude immunohistochimique (IHC)

L'immunohistochimie (IHC) est une technique histologique de localisation des protéines dans des cellules d'un tissu donné. Elle fournit des données semi-quantitatives sur l'expression, la distribution et localisation *in situ* des protéines cibles 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 couple 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 (**Pluot et al.,2006**). 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 7**).

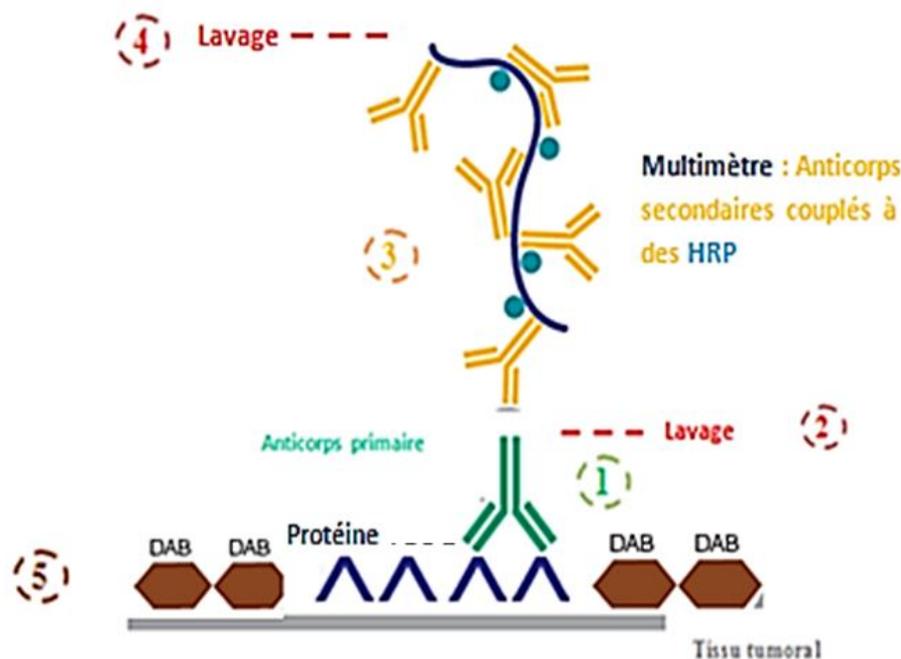


Figure 7. Schéma récapitulatif du principe d'immunohistochimie basé sur la méthode des Polymères (**Schacht et Kern.,2015**).

Dans notre étude l'étude immunohistochimique était réalisée dans 81 cas soit 92% des cas (le diagnostic des 7 cas restant était positif et clair juste avec l'étude histologique). La sélection des coupes histologique pour l'immunohistochimie était basée sur le fait que le diagnostic, l'évaluation morphologique et la caractérisation du CBP dans les 81 coupes à l'hématoxyline-éosine était très difficile.

Nous avons ciblés dans notre analyse immunohistochimique les marqueurs spécifiques du CBP le TTF1 et le p63. L'OMS (2015) recommande l'utilisation du TTF1 pour le diagnostic de l'adénocarcinome et le p63 pour le carcinome épidermoïde, deux sous-types histologiques du CBP non à petites cellules.

Un examen plus approfondi par IHC est uniquement réalisable lorsqu'une négativité pour les deux marqueurs est rencontrée par utilisation d'autres panels d'anticorps (Thunnissen et al., 2012 ; Travis et al., 2013 ; van der Heijden et al., 2014 ; Travis et al., 2015). Dans ce qui suit le protocole détaillé de cette méthode (Tableau 5) :

A. Coupes histologiques

Des coupes histologiques de $4\mu\text{m}$ d'épaisseur sont obtenues à l'aide d'un microtome à partir des blocs 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 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 à concentration décroissante (100° , 95° , 80° , 70°) pendant 5min chacun. Enfin, les lames sont rincées à l'eau distillée (Tableau 6) (Figure 17, Annexe I).

C. Démasquage antigénique

Cette étape permet aux antigènes de retrouver leur conformation protéique initiale et les rend accessibles aux anticorps. Elle consiste à prétraiter les lames avec une solution tampon à pH6 (TRS) pendant 40min à 95°C dans le but de démasquer l'antigène d'intérêt (p63 ou TTF1). 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®.

D. Blocage des peroxydases endogènes

L'activité des peroxydases endogènes, qui pourrait interférer avec celles des peroxydases exogène apportées lors la réaction, est bloquée en déposant à l'obscurité du peroxyde d'hydrogène l' H_2O_2 sur les lames pendant 5min. 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 47, Annexe II**).

E. Dépôt d'anticorps et révélation

Les anticorps primaires utilisés sont des anticorps monoclonaux Dako® d'origine souris, spécifiques au facteur de transcription TTF1 ou à la protéine p63. Ces anticorps sont dilués au 1/100^{ième} puis déposés, à raison de 100 μ L 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 48, Annexe II**).

L'anticorps secondaire utilisé est un anticorps monoclonal d'origine chèvre. Il est couplé à l'enzyme HRP. Il est déposé directement sur la lame et incubé pendant 15min puis lavé 3 fois avec du tampon TBS pendant 5 min (**Figure 49, 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 49, Annexe II**).

F. Contre coloration

La contre coloration des coupes histologiques a été réalisé 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 5min, et un éclaircissement dans du toluène. Les lames sont ensuite montées à l'aide de l'Eukitt pour préserver les colorations (**Figure 50, Annexe II**).

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

Tableau 5. Etapes de l'immunohistochimie (IHC).

Étapes	Réactifs	Durée
Déparaffinage	Etuve 50°C	24h
	4 bains de toluène	5min x4
Réhydratation	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
Démasquage antigénique	Tampon pH6 à 95°C	40min
	Lavage d'eau distillée	2min
Blocage des peroxydases endogènes	H ₂ O ₂	5min
	3 Lavages TBS	5min x3
Dépôt d'anticorps et révélation	Anticorps primaires Anti-p63, anti-TTF1	1h
	3 Lavages TBS	5min x3
	Anticorps secondaire	15min
	3 Lavages TBS	5min x3
	DAB+ H ₂ O ₂	10min
	3 Lavages TBS	5min x3
Contre coloration à l'hématoxyline	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

Résumé	
Introduction	1
CHAPITRE I : Rappels bibliographiques	
I.1. Le cancer broncho-pulmonaire (CBP)	2
I. 2. Anatomie et physiologie du poumon.....	2
I. 3. Epidémiologie du CBP :.....	3
I. 4. Etiologie du CBP.....	4
I. 5. Anatomopathologie et types du CBP.....	5
1.5.1. Le cancer bronchique à petites cellules	5
1.5.2. Le cancer bronchique non à petites cellules	6
I.6. Oncogenèse pulmonaire	9
I.6.1. Rôle du p63 dans l’Oncogenèse pulmonaire.....	10
I.6.2. Rôle du TTF-1 dans l’Oncogenèse pulmonaire.....	11
I.7. Les bases du traitement du CBP	12
I.7.1. Stadification et classification TNM.....	12
I.7.2. Traitement du CBP	15
I.7.3. Thérapies moléculaires ciblées du CBP.....	16
CHAPITRE II : matériel et méthode	
II.1. Matériel.....	18
II.1.1. Matériel non Biologiques.....	18
II.1.2. Matériel Biologiques	18
II.1.3. Patients	18
II.2. Méthodes.....	20
II.2.1. Etude anatomopathologique.....	20
II.2.1.1 Etude histologique par coloration standard à hématoxyline-éosine.....	21
II.2.1.2. Etude immunohistochimique (IHC).....	24
III .Résultat et discussion	
III.1. Résultats épidémiologiques.....	29
III.1.1. Prédominance du CBP chez les hommes.....	29
III.1.2. Prédominance du CBP chez les personnes âgées	31
III.2. Résultats cliniques.....	32
III.2.1. Le tabac, un facteur de risque principal du CBP.....	33
III.2.2. Antécédents personnels	34

III.2.3. Résultats de la classification TNM et stade clinique métastatique du CBP.....	35
III.3. Résultats anatomopathologiques	40
III.3.1. Répartition du CBP selon le type histologique.....	40
III.3.2. Résultats des études histologiques et immunohistochimiques.....	42
III.3.3. Résultats de la coloration Hématoxyline-Eosine.....	43
III.3.4. Résultats de l'immunohistochimie	46
III.3.5. Profile immunohistochimique des adénocarcinomes et des carcinomes épidermoïdes	49
Conclusion	53
Références bibliographiques	
Annexes	

Notre projet de fin d'étude, réalisé au sein du service d'anatomopathologie, du CHU Issad Hassani à Beni Messous d'Alger, comprenait deux volets :

- Le premier volet concernait l'aspect épidémiologique, clinique et anatomopathologique de nos études rétrospective et prospective réalisée suite à une analyse des dossiers archivés au niveau du service d'anatomopathologie et un questionnaire dûment rempli par les médecins pneumologues dont 88 cas ont été inclus.
- Le deuxième volet concernait une étude immunohistochimique rétrospective et prospective portant sur 81 cas atteints d'un cancer broncho-pulmonaire non à petites cellules (adénocarcinome ou d'un carcinome épidermoïde) ciblant le TTF1 et le p63 durant notre stage.

III. Résultats et discussion

III.1. Résultats épidémiologiques

Les données épidémiologiques (âge, sexe) ont été colligées après une analyse rigoureuse de dossiers des patients atteints de CBP entre janvier et décembre 2018 (étude rétrospective) et janvier et juin 2019 (étude prospective).

III.1.1. Prédominance du CBP chez les hommes

Nous avons constaté une nette prédominance du sexe masculin chez les patients atteints de CBP. Dans les 88 cas de CBP sélectionnés dans notre étude rétrospective (2018) et prospective (2019), 63 cas étaient de sexe masculin et 25cas de sexe féminin, avec des pourcentages respectifs de 71.59% et de 28.40% (**Tableau 6, Figure 8**). Le sexe ratio est de 3/1H/F.

Tableau 6. Répartition des patients atteints d'un CBP selon le genre

Année/Genre	Homme% (nombre de cas)	Femme% (nombre de cas)
2018	68 % (34)	32% (16)
2019	76% (29)	24% (9)
2018/2019	71.59% (63)	28.40% (25)

L'étude rétrospective des patients atteints de CBP a montré que parmi les 50 patients, 68% des cas étaient des hommes (34 cas) et 32% étaient des femmes (16 cas) soit un sexe ratio de 2/1H/F (**Figure 8, Tableau 6**).

L'étude prospective des patients atteints de CBP a montré que sur les 38 patients, 76% étaient des hommes (29 cas) et 24% étaient des femmes (9 cas) avec un sexe ratio de 3/1H/F (**Figure 8, Tableau 6**).

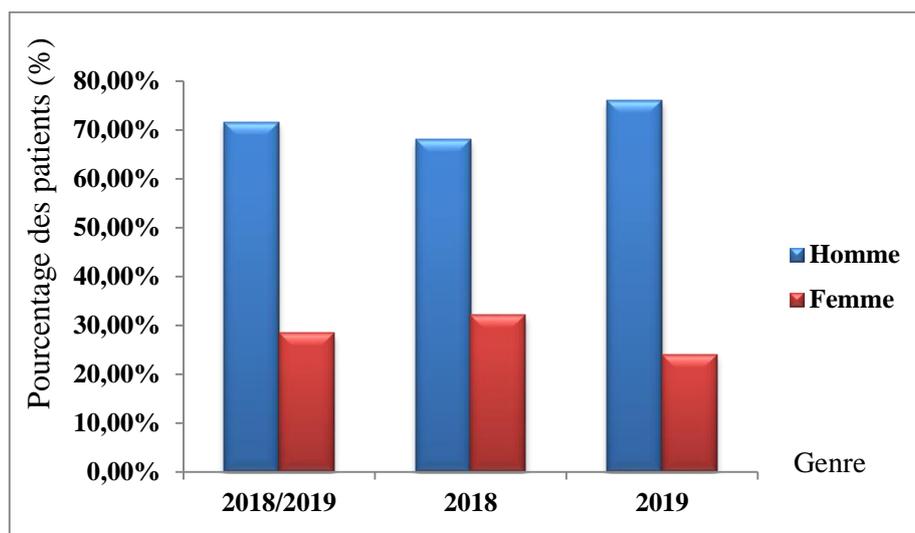


Figure 8. Répartition des patients atteints du CBP selon le genre.

Nos résultats sont en accord avec ceux des registres du cancer à l'échelle régionale et nationale. La prédominance masculine dans le cancer broncho-pulmonaire a été signalée dans le Réseau National des Registres du Cancer en 2015 avec 3338 cas et qui pourrait reconnaître une augmentation en 2025 pour atteindre 4450 cas (**Hamdi et al., 2015**).

D'après le registre du cancer du réseau régional du sud-est Algérien, l'incidence du CBP a reconnu une nette augmentation entre 2014 et 2016 pour les deux sexes avec une prédominance du sexe masculin. L'incidence du CBP a augmenté de 8,6 à 14,8/ 10⁵ habitants chez les hommes et de 1,4 à 3,5/ 10⁵ habitants chez les femmes (**Hamdi et al., 2015**). Nos résultats confirment cette augmentation où nous avons constaté qu'au cours de 6 mois seulement en 2019, 38 cas de CBP ont été enregistrés comparés à 50 cas enregistrés durant toute l'année 2018. L'augmentation de l'incidence du CBP chez les hommes est également observée dans notre étude où nous avons noté 29 cas dans les 6 mois de notre stage en 2019 contre 34 cas enregistrés durant toute l'année 2018.

De même, nos résultats concordent avec ceux rapportés dans plusieurs travaux dans le monde. En 2015, les mêmes pourcentages de cas de sexe masculin ont été rapportés par une étude tunisienne (**Joobeur, 2015**) et une étude sénégalaise (**Ndiaye et al., 2015**) qui ont enregistré respectivement 86,3%/322 cas et 86,5%/37cas.

Il est a noté que l’OMS désigne le cancer broncho-pulmonaire comme la principale cause de décès par cancer (22% soit 1 décès sur 5) et le cancer le plus diagnostiqué parmi les cancers chez les hommes (14,5% chez les hommes et 8,4% chez les femmes) (**OMS, 2015**).

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 (**Tahiri Elousrouti, 2017**).

III.1.2. Prédominance du CBP chez les personnes âgées

L’âge des patients variait entre 18 et 87 ans et la moyenne d’âge était de 65ans. La moitié de l’effectif des patients, soit 49% étaient inclus dans la tranche d’âge comprise entre 50 et70 ans, suivie par la tranche d’âge comprise entre 70 et 90 ans et qui incluait 40% des patients. Les patients dont l’âge compris entre 30 et 50 ans représentaient 10% alors que seul 1% des patients avaient moins de 30ans (**Tableau 7, Figure 9**).

Tableau 7. Répartition des patients atteints de CBP selon l'âge.

Année /Age	>30	[30-50]	[50-70]	[70-90]
2018	0% (0)	6%(3)	58%(30)	36%(17)
2019	2%(1)	16%(6)	37% (14)	45% (17)
2018/2019	1%(1)	10% (9)	49% (44)	40%(34)

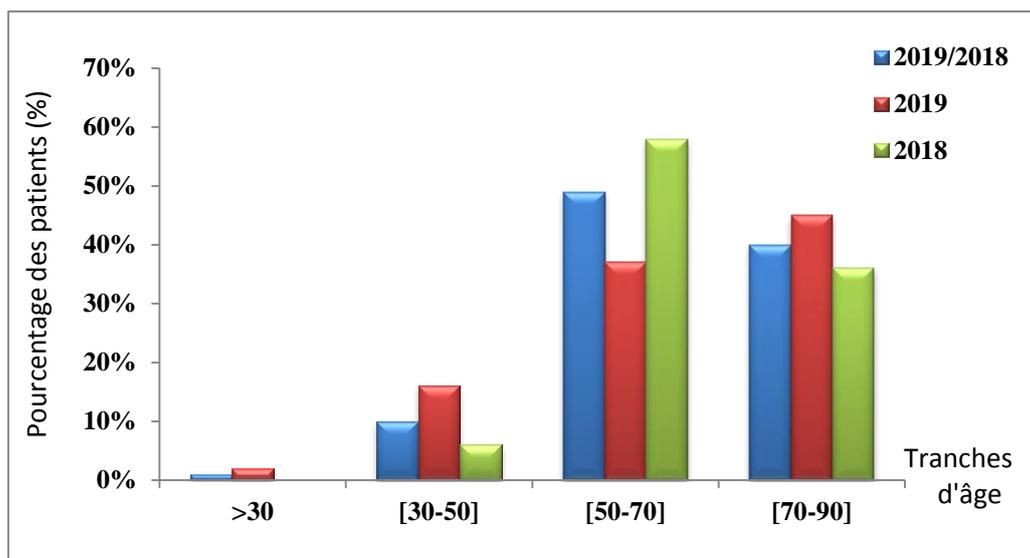


Figure 9. Répartition des patients atteints de CBP dans quatre tranches d'âges.

Les résultats de l'étude rétrospective et prospective ont révélé une prédominance du CBP chez les patients présentant une tranche d'âge comprise entre 50 et 70 ans avec des pourcentages respectifs de 58% et 37%. Elle est suivie par la tranche d'âge comprise entre 70 et 90 ans avec des pourcentages respectifs de 36% et 45%. Nos résultats suggèrent une prédominance du CBP chez les personnes âgées ayant un âge supérieur à 50 ans.

L'âge moyen de survenue du CBP a été estimé à 66 ans en 2018 et à 63 ans en 2019. Il a été estimé chez la population Algérienne à 59 ans chez les hommes et à 51 ans chez les femmes (**Bouزيد, 2018**). L'âge moyen de nos patients était proche de celui rapporté par l'étude tunisienne et marocaine avec un âge moyen respectif de 59,4 ans et de 60 ans (**Joobeur et al., 2015 ; Ouarrsani, 2016**).

L'âge de survenue du cancer broncho-pulmonaire 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 cliniques

Nous avons pu avoir les résultats cliniques de seulement de 26 patients durant notre stage à partir des questionnaires dûment rempli par les médecins pneumologues du CHU Isaad Hassani Beni Messous. Les données cliniques incluent l'état tabagique des patients, la classification TNM et le stade du CBP ainsi que les antécédents personnels (**Annexe I**).

III.2.1. Le tabac, un facteur de risque principal du CBP

Notre étude a révélé qu'environ 88,46% des cas étaient des fumeurs dont 80,77% fumeurs actifs et 7,69% ex-fumeurs. Seuls 11,54% étaient non-fumeurs. Parmi les patients fumeurs 19 cas étaient des hommes et 2 étaient des femmes tandis que parmi les patients ex-fumeurs nous avons enregistré un homme et une femme. Deux femmes et un homme des patients atteints de CBP étaient non-fumeurs (**Tableau 8, Figure 10**). Ces résultats suggèrent une prédominance du CBP chez les hommes fumeurs.

Tableau 8. Répartition des patients atteints de CBP selon l'état tabagique

Etat tabagique	Fumeurs actifs	Ex fumeurs	Non-fumeurs
Patients	80,77% (21)	7,69% (2)	11,54% (3)

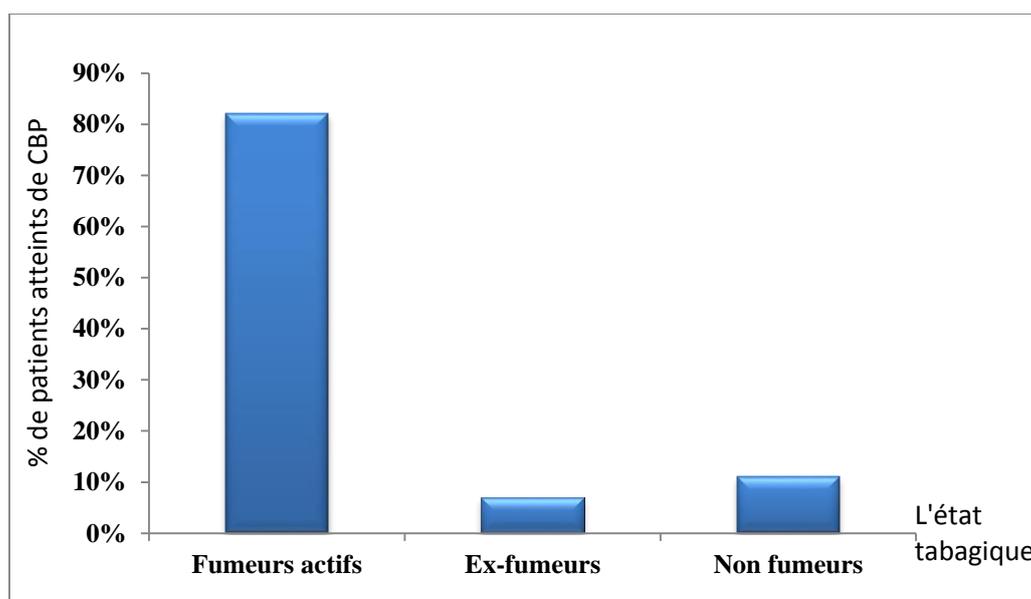


Figure 10. Répartition des patients atteints de CBP selon la consommation de tabac.

L'intensité moyenne de l'intoxication tabagique a été estimée, dans notre étude, à 45 paquets/année (p/a), avec un minimum de 4 p/a et un maximum de 100 p/a.

Parmi les patients tabagiques (80,77% fumeurs actifs), 69% avaient plus de 50 ans et consommaient en moyenne plus de 45 p/a. Nous avons enregistré un cas avec un âge très jeune de début de consommation de tabac et qui était de 18ans et un cas avec une durée de tabagisme maximale de 57ans.

Le tabagisme constitue donc un facteur de risque principal du CBP avec un taux élevé dans notre population et qui est comparable aux taux rapportés par d'autres travaux. En Constantine, une étude Mechatti et al (2015) ont rapporté dans leur étude que 69% des cas des patients atteints de CBP étaient tabagiques et qui consommaient en moyenne 59p/a. En Tunisie et en France, Joobeur et al (2015) et Coëtmeur et al (2015) ont rapportés des pourcentages comparables respectifs de 86,3% et de 89,1% et une consommation tabagique moyenne respective de 47,1 pa/a et 43,0 p/a.

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 professionnels ont un rôle souvent sous-estimé en raison du facteur confondant que représente le tabagisme. Dans près de 15 % des CBP, une exposition professionnelle peut être retrouvée (amiante notamment). L'exposition conjointe au tabac et à l'amiante entraîne un effet multiplicatif et pas seulement additif. Chez un fumeur exposé à l'amiante le risque relatif (RR) est de 53. De nombreuses professions sont aussi concernées, nous citons les travailleurs œuvrant dans la fabrication du caoutchouc, les fonderies de fer et l'asphaltage sont d'avantage à risque. Toutefois, une enquête professionnelle systématique lors de tout diagnostic du CBP doit être envisagée (**CEP, 2017**).

III.2.2. Antécédents personnels

Notre étude a révélée qu'environ 54% des cas (14 cas/26) avaient des antécédents de pathologies chroniques telles que le diabète, la tuberculose, l'hypertension artérielle, l'hypertrophie de la prostate, l'arthrose, la broncho-pneumopathie chronique obstructive. Le reste, soit 46% des cas n'avait pas d'antécédents personnels (**Tableau 16, Annexe III**). Notre étude a aussi révélée que 35,71% des patients présentait à la fois deux maladies associées au CBP alors que 64,28% présentaient une seule maladie (**Tableau 9**).

Tableau 9. Répartition des patients atteints de CBP selon les antécédents personnels. HTA, Hypertension artérielle ; CE, carcinome épidermoïde ; BPCO, broncho-pneumopathie chronique obstructive ; DT, diabète ; HP, hypertrophie de la prostate ; HBP, hypertrophie bénigne de la prostate.

Antécédents personnels	Tuberculose	Arthrose	HTA	CE	BPCO	DT	HP'/HBP''
Patients	14,3% (2)	7,1% (1)	42,87% (6)	7,1% (1)	7,1% (1)	28,6%(4)	28,6%(4)

L'hypertension artérielle a été retrouvée chez 42,87% des patients, suivie du diabète et hypertrophie de la prostate chez 28,7% des patients et de la tuberculose chez 14,3% des patients. La broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO), et l'arthrose ont été retrouvées chez 7,1% de la population. Le carcinome épidermoïde a été rapporté chez 7,1% des patients, il s'agit d'une femme qui a été opérée pour un carcinome épidermoïde en 2013.

La présence d'antécédents personnels constitue un facteur de risque de survenue du CBP. En effet, le risque relatif (RR) de survenue de CBP en présence de BPCO, en tenant compte de l'âge et de la consommation tabagique cumulée, varie de 2,5 à près de 5. Il dépend aussi du degré d'obstruction bronchique (**Thiberville et Paris., 2004**). De même, le RR de survenue du CBP en présence de tuberculose, en tenant compte des habitudes tabagiques, est de 1,5 et qui augmente avec l'ancienneté de la tuberculose (**Thiberville et Paris., 2004**).

III.2.3 Résultats de la classification TNM et stade clinique métastatique du CBP

La classification TNM permet de décrire les tumeurs selon leur extension locale (T), ganglionnaire (N) et métastatique dans d'autres organes (M) (**Detterbeck et al., 2017**).

- Prédominance de la taille tumorale T4 chez les patients atteints de CBP

Nous avons classé les patients atteints de CBP selon la taille T des tumeurs de la classification TNM. La majorité des cas correspondaient à des T4, soit 11 cas (61%). Les T3 étaient au nombre de 3 (17%) et les T2 au nombre de 2 (12%). 2 cas (11%) étaient des Tx, des tumeurs qui ne pouvant être évaluée ou démontrée que par la présence de cellules malignes (**Tableau 10, Figure 11**).

Tableau 10. Répartition des patients atteints de CBP selon la taille tumorale (T). Tx, tumeur déterminé par la présence de cellules maligne ; T1, taille de la tumeur ≤ 3 cm; T2, $3\text{cm} \leq$ taille de la tumeur ≤ 7 cm ; T3, taille de la tumeur > 7 cm ; T4, des tumeurs de toutes tailles et envahissantes.

Taille tumorale	Tx	T1	T2	T3	T4
Patients	11% (2)	0% (0)	12% (2)	17% (3)	61% (11)

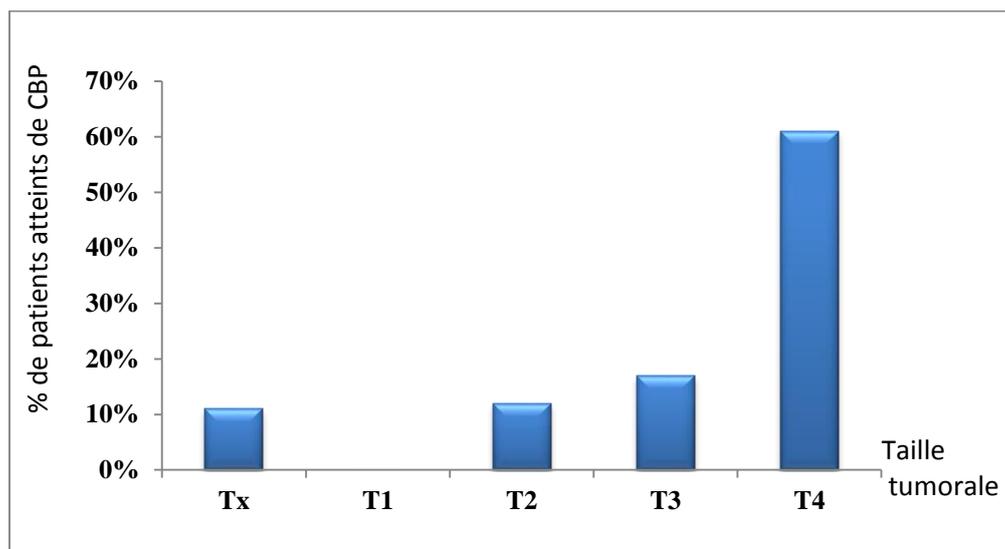


Figure 11. Répartition des patients atteints de CBP selon la taille tumorale (T).

Nos résultats sont en accord avec les résultats de l'étude Marocaine de Tahiri Elousrouti (2017) qui a démontré une prédominance des tumeurs T4 (64%), suivie de T2 (19%), de T3 (15%) et de T1 (2%). De plus, l'étude Espagnole de Sanchez et al (2014) a également révélée une prédominance des tumeurs T4 (46%), suivie de T3 (21%) et de T1 et T2 (33%).

- **Prédominance du statut ganglionnaire N2 chez les patients atteints de CBP**

La classification TNM du CBP a révélé une prédominance du statut ganglionnaire N2 chez 33% (6 cas) des patients suivie de N3 et N0 chez 28% (5cas) des patients et enfin de N1 chez 11% (2cas) des patients (**Tableau 11, Figure 12**).

Tableau 11. Répartition des patients atteints de CBP selon le statut ganglionnaire (N). **N0**, absence de métastase ganglionnaire lymphatique régional ; **N1**, métastase ganglionnaire des ganglions lymphatiques intra-pulmonaires, péri-bronchiques et/ou hilaires ipsilatéraux ; **N2**, métastase ganglionnaire des ganglions médiastinaux ipsilatéraux et/ou sous carénaux ; **N3**, métastase ganglionnaire des ganglions médiastinaux contralatéraux, hilaires contralatéraux, sous-claviculaires ipsilatéraux ou contralatéraux.

Statut ganglionnaire	N0	N1	N2	N3
Patients	28% (5)	11% (2)	33% (6)	28% (5)

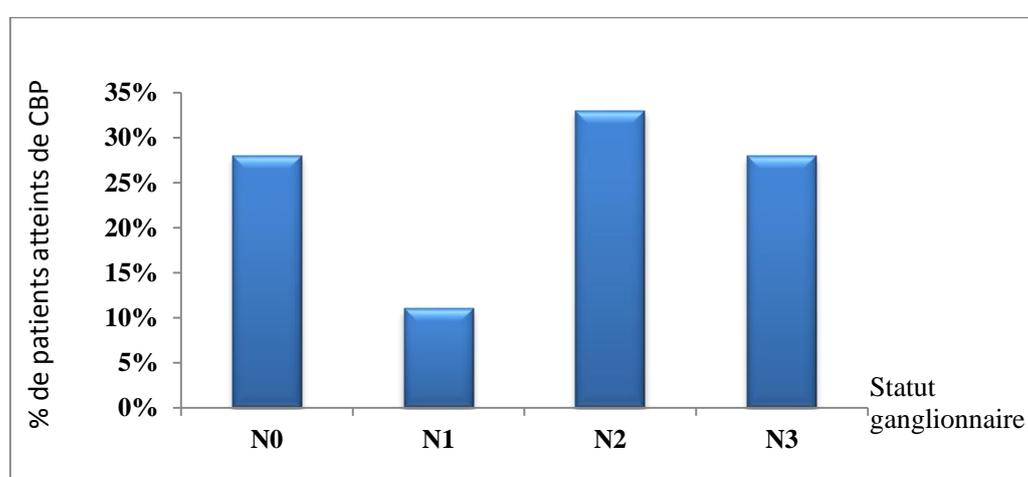


Figure 12. Répartition des patients atteints de CBP selon le statut ganglionnaire (N).

- **Prédominance des métastases à un seul site (M1a/b) chez les patients atteints de CBP**

La classification TNM du CBP a révélé une prédominance de l'état métastatique M1a et b chez 33% (6 cas chacun) des patients suivie de M1c chez 17% (3 cas) des patients. Néanmoins, 17% (3 cas) des patients ne présentaient pas de métastase à distance (**Tableau 12**, **Figure 13**).

Tableau 12. Répartition des patients atteints de CBP selon le site métastatique (M). M0, absence de métastase ; M1a, présence de métastase avec diffusion intrathoracique, présence de nodule tumoraux séparés dans un lobe controlatéral, nodules pleuraux, pleurésie maligne ou péricardite maligne ; M1b, présence de métastase avec un seul site métastatique extrathoracique ; M1c, présence de métastase avec plusieurs sites métastatiques extrathoraciques.

Site métastatique	M0	M1a	M1b	M1c
Patients	17% (3)	33% (6)	33% (6)	17% (3)

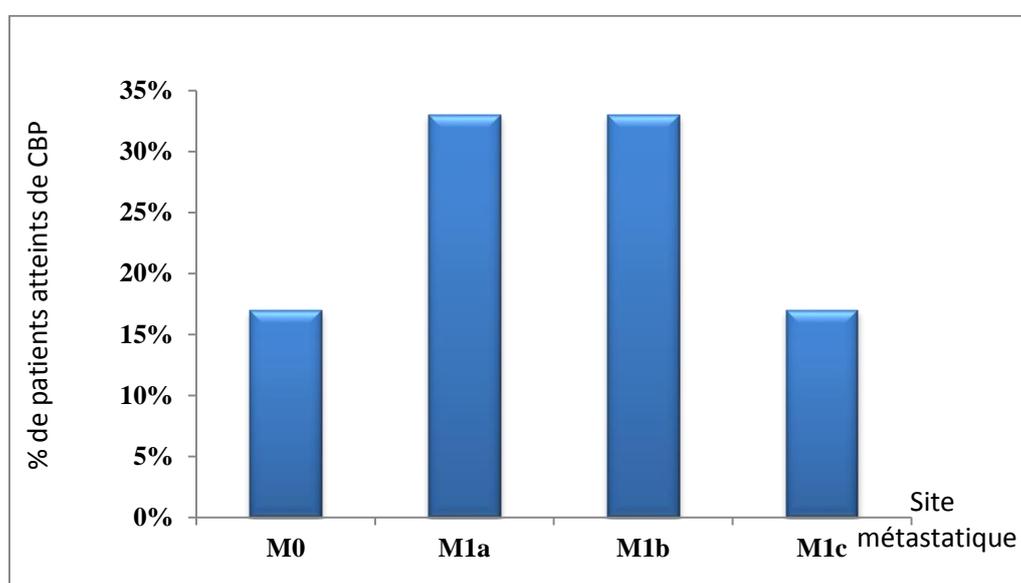


Figure 13. Répartition des patients atteints de CBP selon le site métastatique (M).

Les métastases sont retrouvées dans plus de 70% des cancers broncho-pulmonaires et elles sont multiples dans 69.9% des cas (Sánchez et al., 2014). Néanmoins, notre étude a révélé que les CBP avec un seul site métastatique étaient les plus fréquents (M1a/M1b :33%/33%).

Les métastases osseuses étaient les plus fréquentes, dans notre étude, les métastases cérébrale occupent la 2ème place, viennent ensuite les nodules controlatéraux et puis les métastase surrenaliennes, splénique et pleurale. Néanmoins, les études Tunisienne et Espagnole ont révélé que les métastases osseuses occupaient la 2ème place après les métastases cérébrales (Sánchez et al., 2014; Tahiri-Elousrouti, 2017).

Notre étude suggère une prédominance des tumeurs de toutes tailles envahissantes de taille T4 avec une métastase ganglionnaire touchant principalement les ganglions médiastinaux ipsilatéraux et/ou sous carénaux (N2) et présentant des nodules (M1a) avec un seul site métastatique (M1b).

- Prédominance de stade clinique métastatique chez les patients atteints de CBP

Nos résultats suggèrent une prédominance de stade clinique métastatique (stade IV) chez les patients atteints de CBP qui représente 74% de la population étudiée. Le stade IV est suivie de stade III, II et I avec des pourcentages respectifs de 15%, 7% et 4% (**Tableau 13**, **Figure 14**).

Tableau 13. Répartition des patients atteints de CBP selon le stade clinique

Stade	Stade I	Stade II	Stade III	Stade IV
Patients	1 (4%)	2 (7%)	4 (15%)	20 (74%)

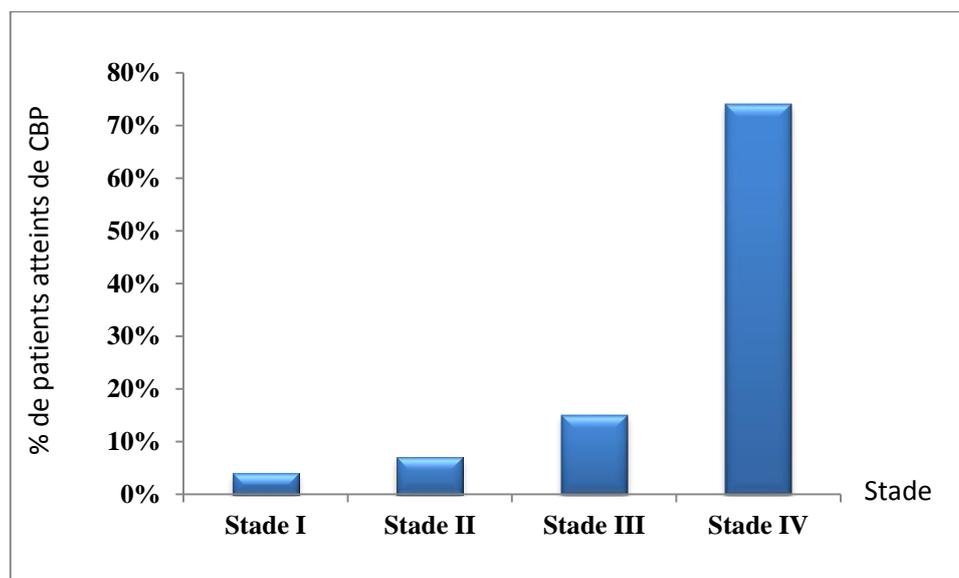


Figure 14. Répartition des patients atteints de CBP selon le stade clinique.

Ces résultats pourraient être expliqués par le diagnostic tardif du CBP pour la plupart des patients qui présentaient des stades métastatiques avancés IV et III. Des résultats comparables ont été rapportés par une étude Japonaise (**Inoue et al., 2014**) qui a rapporté une prédominance des stades métastatiques avancés IV (57,1%), suivie du stade III (34,9%). Les mêmes résultats ont été rapportés dans une étude tunisienne (**Tahiri-Elousrouti, 2017**) avec

une prédominance des stades métastatiques IV et III avec des pourcentages respectifs de 82% et 12%.

Le diagnostic tardif du CBP pourrait être dû à la symptomatologie non spécifique du cancer bronchique rattachée le plus souvent au tabagisme ainsi qu'à la faiblesse de la politique du dépistage du CBP (Tahiri-Elousrouti, 2017).

III.3. Résultats anatomopathologiques

III.3.1. Répartition du CBP selon le type histologique

Nous avons réparti les cas du CBP, objet de notre étude, selon les types histologiques, comme indiqué par l'organisation mondiale de la santé (WHO, 2015). Cette répartition nous a permis de constater que 94,3% (83 cas) des tumeurs broncho-pulmonaires étaient des carcinomes bronchiques non à petites cellules (CBNPC). Seuls 5,7% (5 cas) des tumeurs broncho-pulmonaires étaient des carcinomes à petites cellules (CPC). Cette prédominance des CBNPC a été constatée aussi bien en 2018 (94%) qu'en 2019 (95%) comparés aux carcinomes à petites cellules qui représentaient 6% en 2018 et 5% en 2019 (Tableau 14, Figure 15).

Les cas de carcinomes à petites cellules ont été éliminés, car ils sont très rares. Seuls les cas de carcinomes bronchiques non à petites cellules ont été retenus.

Tableau 14. Répartition des patients atteints de CBP selon le type histologique.

Type histologique	Adénocarcinome	Carcinome épidermoïde	Carcinome à grand cellule (neuroendocrine)	Carcinome non à petites cellules de type NOS
2018	56% (28 cas)	32% (16 cas)	6% (3cas)	0
2019	57% (22 cas)	26% (10 cas)	3% (1cas)	9% 3 cas
2018/2019	60,24% (50 cas)	31,32% (26 cas)	4,81% (4 cas)	3,61% (3 cas)

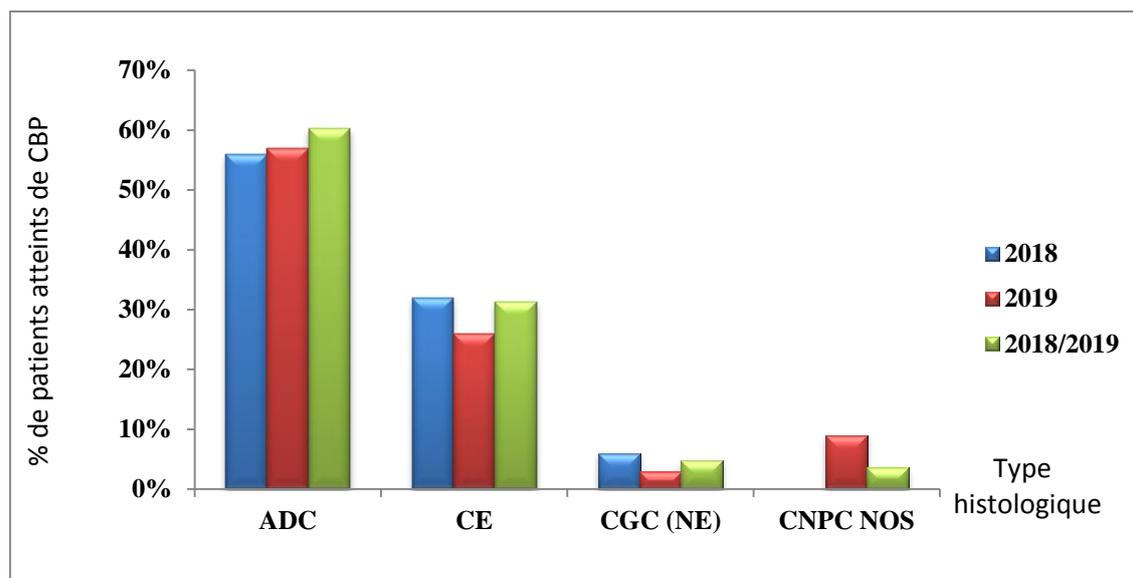


Figure 15. Répartition des patients atteints de CBP selon le type histologique. ADC, adénocarcinome ; CE, carcinome épidermoïde ; CGC (NE), carcinome à grands cellules (neuroendocrine); CNPC NOS, carcinome non à petites cellules sans autre spécificité.

Nous avons constaté une prédominance des adénocarcinomes (60,24%), suivie des carcinomes épidermoïdes (31,32%), des carcinomes neuroendocrines (4,81%), et des carcinomes non à petites cellules de type non spécifique (NOS) (3,61%) (**Tableau 15, Figure 15**). Les adénocarcinomes représentaient les sous types histologiques majoritaires de CBNPC en 2018 et en 2019 avec des pourcentages respectifs de 56% et de 57%. Ils sont suivis par les carcinomes épidermoïdes (32% en 2018 vs 26% en 2019), et les carcinomes à grands cellules neuroendocrines (6% en 2018 vs 3% en 2019). Néanmoins, nous avons noté 3 cas (9%) de carcinomes non à petites cellules sans autre spécificité (CNPC NOS) en 2019, alors qu'aucun cas n'a été enregistré en 2018 (**Tableau 15, Figure 15**).

La prédominance des adénocarcinomes dans le CBP a été rapportée dans d'autres études, sénégalaises, tunisiennes et marocaines avec des pourcentages respectifs de 59%, de 38,7% et de 45,94%. Les carcinomes épidermoïdes étaient le deuxième type histologique dans le CBP dans ces études avec des pourcentages respectifs de 25%, de 23% et de 32,43% (**Ndiaye et al., 2014 ; Kwas et al., 2016 ; Ourassani et al., 2016**). Cependant, en 2015 dans une étude Algérienne (**Harir et al., 2015**) les carcinomes épidermoïdes (52,7%) étaient les plus fréquents suivis des adénocarcinomes (21,1%).

L'OMS rapporte que la distribution des différents types histologiques du cancer bronchique primitif a nettement changé ces dernières années marquée par une incidence

de plus en plus élevée de l'adénocarcinome aux dépens d'un déclin de celle du carcinome épidermoïde (**Travis et al., 2015b**).

La distribution des différents types histologiques du cancer bronchique primitif a nettement changé ces dernières années marquée par une incidence de plus en plus élevée de l'adénocarcinome aux dépens d'un déclin de celle du carcinome épidermoïde (**Cadelis et al., 2013**). Cette augmentation pourrait être attribuée à plusieurs facteurs dont les modifications des habitudes tabagiques, l'utilisation du tabac blond, l'utilisation de filtre et l'augmentation des nitrosamines dans les cigarettes, entraînant une inhalation plus profonde des carcinogènes de la fumée de tabac et par conséquent le passage d'un dépôt plus central de la fumée de tabac à un dépôt plus périphérique, augmentant ainsi le risque accru d'adénocarcinome (**Cadelis et al., 2013 ; Travis et al., 2015b**).

D'autres facteurs peuvent être cités dont l'exposition passive au tabac, auxquels s'ajoutent des facteurs de risque nutritionnels, professionnels, environnementaux et génétiques (**Travis et al., 2015b**).

Enfin, l'amélioration des techniques de diagnostic des tumeurs périphériques qui sont souvent des adénocarcinomes et les progrès importants des techniques anatomopathologiques faisant intégrer les données immunohistochimies pourraient expliquer aussi l'augmentation du nombre de personnes diagnostiquées par ce type de cancer (**Joobeur et al., 2015**).

III.3.2. Résultats des études histologiques et immunohistochimiques

Dans notre travail, nous avons sélectionnées rétrospectivement et prospectivement 88 cas cancéreux dont 6% (7 cas) étaient diagnostiqués en se basant uniquement sur les critères morphologiques de la coloration H-E tandis que 94% des cas (81 cas) nécessitaient une étude immunohistochimique. En plus de son rôle dans le diagnostic du CBP, l'immunohistochimie permet de distinguer entre les sous-types histologiques du CBNPC dans des biopsies de petites tailles.

La détermination du sous-type histologique est difficile lorsque l'on se base uniquement sur l'histologie des biopsies de petites tailles (**Warth et al., 2012**). Cela est probablement dû à plusieurs raisons agissant soit individuellement soit diversement mélangés les uns aux autres parmi, nous citons l'hétérogénéité morphologique intra et inter-tumorale à titre gracieux avec une reproductibilité variable entre observateurs et un matériel de diagnostic limité ou endommagé (**Pelosi et al., 2015a ; Pelosi et al., 2015b**).

La définition du carcinome épidermoïde et de l'adénocarcinome de l'OMS (2004) est purement morphologique (ponts intercellulaires, kératinisation de cellules individuelles/architecture glandulaire, mucosécrétion). Néanmoins, le matériel biopsique ne permet pas, sur la base de la morphologie seule, d'aller au-delà du diagnostic de carcinome non à petites cellules peu différencié.

La classification de l'OMS (2015) a démontré que l'immunohistochimie constitue sans aucun doute la technique de choix en termes de précision du diagnostic dans le sous-typage du CBNPC et la précision de phénotype, adénocarcinome ou épidermoïde. (**Jagirdar, 2008 ; Rossi et al., 2009 ; Chilosi et Murer., 2010 ; Travis et al., 2015a 1; Travis et al., 2015c ;Pelosi et al., 2015a**).

III.3.3. Résultats de la coloration Hématoxyline-Eosine

Comme nous l'avons mentionnée précédemment que seuls les cas de CBNPC (94,3%) ont été retenus pour l'étude anatomopathologique. Parmi ces cas, 6% (7 cas) ont été diagnostiqué seulement sur la base de l'étude histologique dont 2% (2 cas) étaient des adénocarcinomes et 4% (5 cas) étaient des carcinomes épidermoïdes. L'identification morphologique de l'adénocarcinome est basée sur la présence de structures glandulaires et de vacuoles de mucine tandis que le carcinome épidermoïde est caractérisé par la présence de kératine et des ponts intercellulaires.

Dans cette partie nous avons choisi de présenter les résultats histologiques de 2 cas d'adénocarcinomes (1 primitif et 1 secondaire) et 2 cas de carcinomes épidermoïdes kératinisant (bien différencié : les cellules produisent de la kératine) et non kératinisant (peu différencié : les cellules ne produisent pas de la kératine).

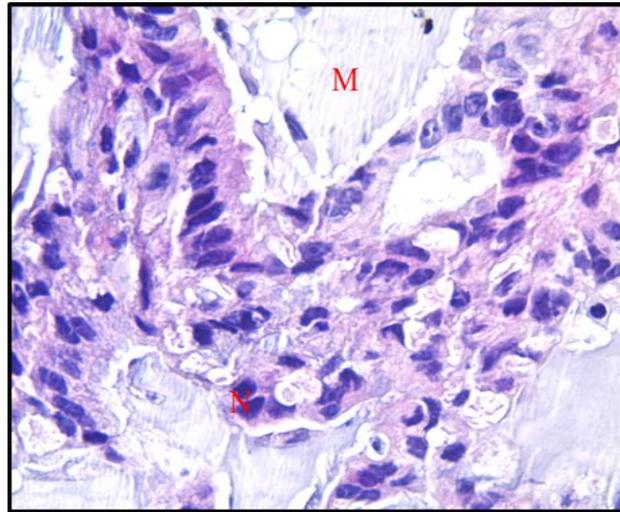
Adénocarcinome broncho-pulmonaires

Figure 16. Coupe histologique d'un adénocarcinome primitif bien différencié (coloration à l'HE. (Gx400). M : cellules tumorales caliciformes à mucus. N : noyaux atypique hyperchromatiques.

L'adénocarcinome primitif bien différencié montre une prolifération carcinomateuse infiltrante constituée de structures glandulaires de taille et de forme variable tapissées par un épithélium cubo-cylindrique. Les cellules tumorales sont cubo-cylindrique a cytoplasme tantôt éosinophile tantôt mucineux et des noyaux ronds hyper-chromatiques (**Figure 16**).

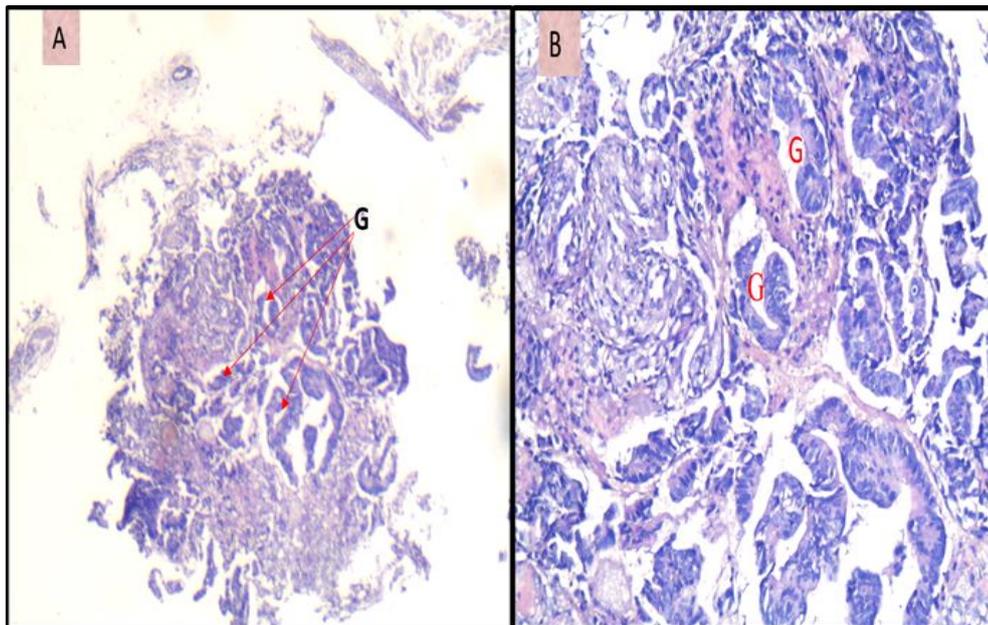
Adénocarcinome secondaire

Figure 17. Coupes histologiques d'adénocarcinome secondaire d'origine colique. A (Gx100) et B (Gx400), adénocarcinome secondaire. G : structure glandulaire. Coloration HE.

L'adénocarcinome secondaire montre une prolifération tumorale maligne caractérisée par des formations glandulaires. Ces formations glandulaires sont bordées d'un épithélium pseudostratifié cylindrique au noyaux atypiques et cytoplasme éosinophile. L'origine secondaire ne peut être affirmée que par l'étude immunohistochimique (**Figure 17 A et B**).

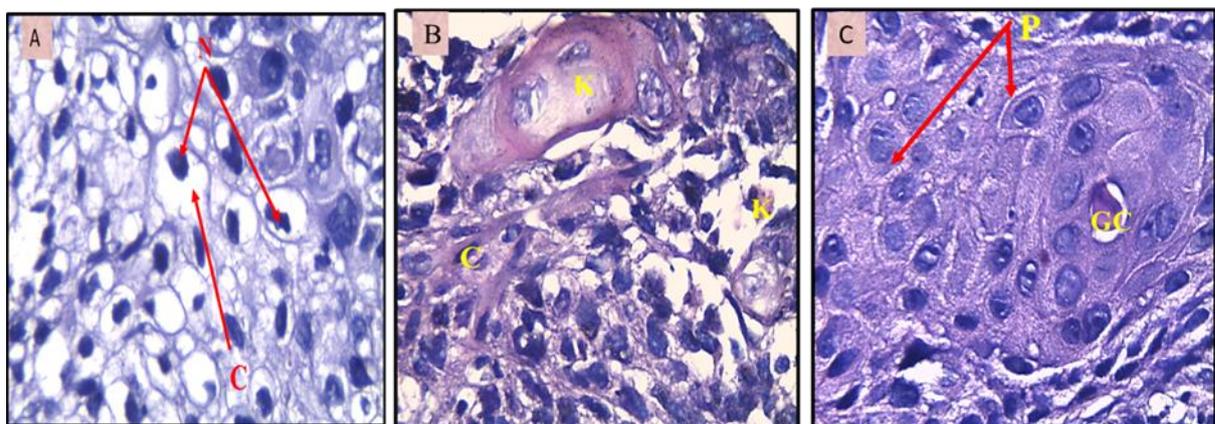
Carcinome épidermoïde kératinisant

Figure 18. Coupes histologiques de carcinome épidermoïde kératinisant. A, B et C (Gx400), carcinome épidermoïde kératinisant. C : cytoplasme. N : noyau. K : Kératine. P : ponts d'union. GC : Globe cornée. Coloration HE.

Le carcinome bronchique épidermoïde mature ou kératinisant montre une prolifération carcinomateuse faite de placards, d'amas de cellules de grandes tailles jointives par des ponts d'union (**Figure 18 A**). Les cellules carcinomateuses sont polygonales à cytoplasme claire éosinophile et noyaux d'aspect polymorphe atypique (**Figure 18 A**).

La kératinisation intéresse soit des cellules isolées soit des cellules regroupées en amas appelés «globes cornés» (**Figure 18 B et C**).

Carcinome épidermoïde non kératinisant

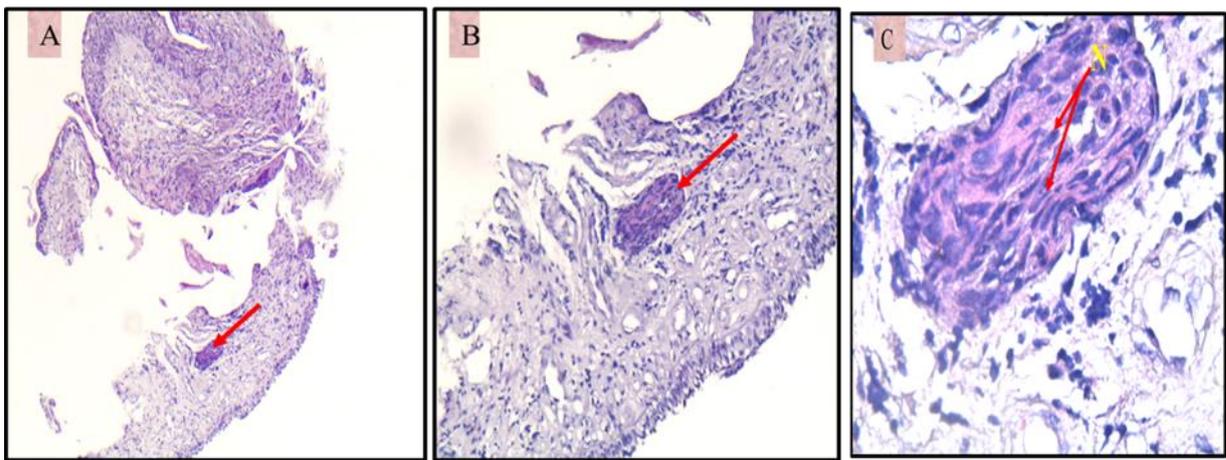


Figure 19. Carcinome épidermoïde non kératinisant. A (Gx 40), B (Gx100), C (Gx400). → amas de cellules tumorales. N noyaux atypique (allongé).Coloration HE.

Sur cette image histologique on note une muqueuse bronchique siège d'une prolifération carcinomateuse faite d'amas de cellules tumorales. Les cellules épithéliales transformées présentent un noyau atypique. Il s'agit d'un carcinome indifférencié qui peut exister dans toutes les localisations et poser des problèmes de classification histologique (**Figure 19**). Ce cas nécessite une étude immunohistochimique pour confirmer que c'est un carcinome épidermoïde non kératinisant.

III.3.4. Résultats de l'immunohistochimie

L'étude immunohistochimique était nécessaire pour le diagnostic et la détermination des sous-types histologiques de CBNPC. Le choix des biomarqueurs est très important afin de minimiser les résultats faux positifs et négatifs permettant ainsi d'ajouter une précision de 10 à 15% au diagnostic (**Pelosi et al., 2016**).

Dans ce contexte, l'expression coordonnée de TTF-1 pour l'adénocarcinome et de p63/p40 pour le carcinome épidermoïde est actuellement considérée comme l'approche la plus raisonnable et la plus fiable, recommandée dans la dernière classification de l'OMS en 2015. C'est deux marqueurs sont considérées comme les meilleurs discriminateurs de l'adénocarcinome et du carcinome épidermoïde (**Pelosi et al., 2016**).

Dans notre étude ces deux marqueurs TTF1 et p63, ont été utilisé pour la distinction entre l'adénocarcinome et le carcinome épidermoïde dans les prélèvements biopsiques pulmonaires. Cependant l'utilisation de p40, un des isoformes codé par le gène p63, n'est pas standardiser pour l'utilisation de routine dans le laboratoire d'accueil en raison de problème technique. Ainsi le p40 qui a une sensibilité et une spécificité supérieure n'a pu être utilisé dans notre étude.

Immuno-marquage anti-TTF1 de l'adénocarcinome primitif

L'immuno-marquage anti-TTF1 montre un marquage nucléaire intense (marron) dans toutes les cellules tumorales (**Figure 20**).

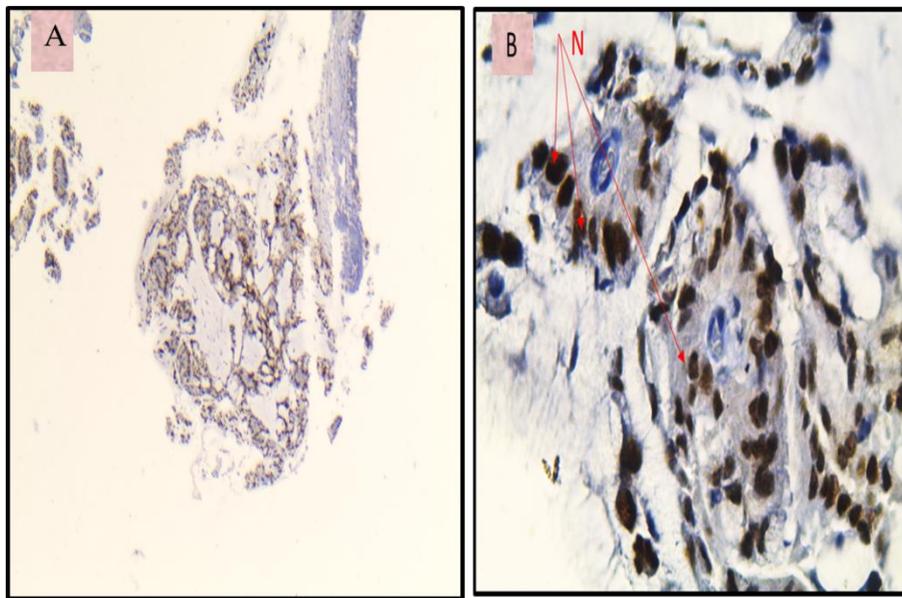


Figure 20. Immuno-marquage à l'aide de l'anticorps anti-TTF1 d'un adénocarcinome broncho-pulmonaire. A (Gx40) ; B (Gx400).N : noyau. IHC.

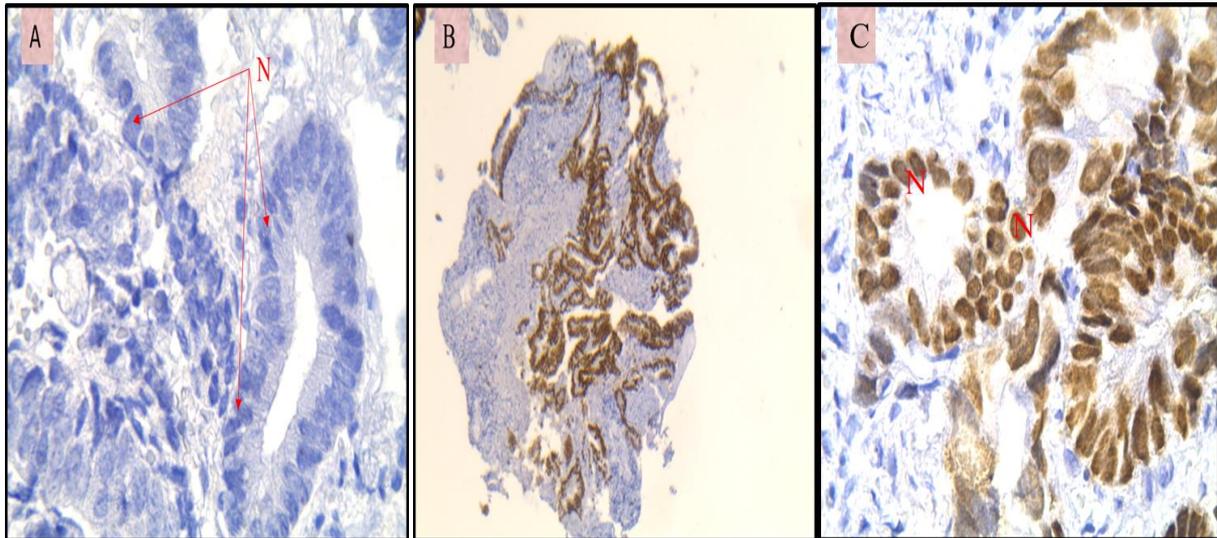
Immuno-marquage anti-TTF1, anti -Cdx-2 de l'adénocarcinome secondaire

Figure 21. Immuno-marquage à l'aide de l'anticorps anti-TTF1 d'un adénocarcinome secondaire d'origine colique. A, immuno-marquage anti-TTF1 négatif (Gx400) ; B (Gx100) et C (Gx400), immuno-marquage anti-Cdx-2 positif d'un adénocarcinome secondaire d'origine colique. N : noyau. IHC.

L'immuno-marquage anti-TTF1 montre un marquage négatif de toutes les cellules tumorales malgré la présence des formations glandulaire (**Figure 21 A**) la négativité de TTF1 oriente vers une origine secondaire et l'utilisation d'anti Cdx-2 (un facteur de transcription de différenciation intestinale) a donné un marquage nucléaire marron intense dans toutes les cellules tumorales (**Figure 21 B et C**). Confirme l'origine colique (secondaire).

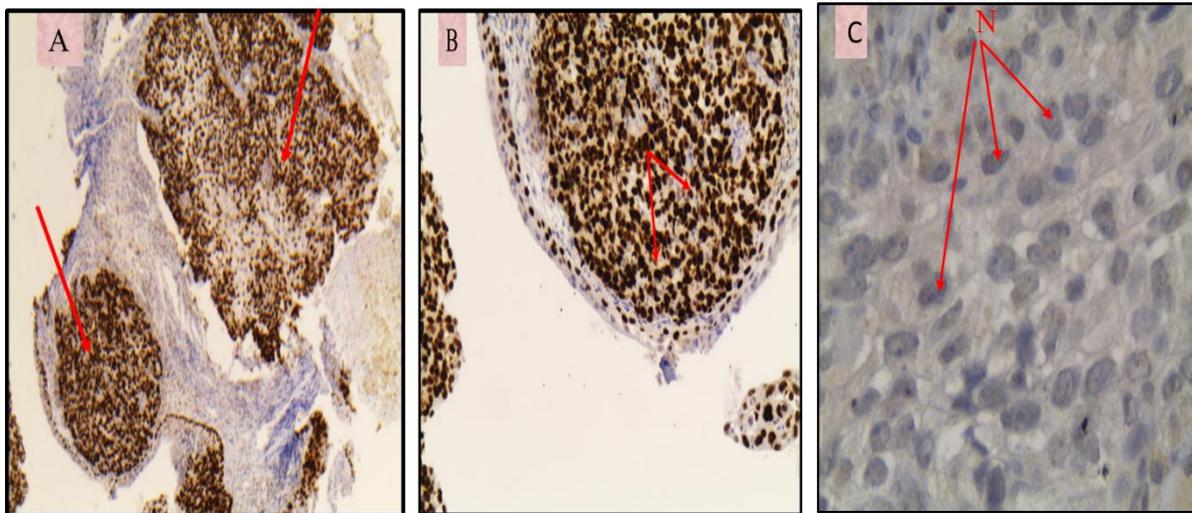
Immuno-marquage anti-TTF1, anti-P63 du carcinome épidermoïde kératinisant

Figure 22. Immuno-marquage à l'aide de l'anticorps anti-TTF1 et anti-p63 d'un carcinome épidermoïde kératinisant. A (Gx100) et B (Gx400) : immuno-marquage anti-p63, C (Gx400), immuno-marquage anti-TTF1 négatif. N : noyau. IHC.

L'immunohistochimie montre un marquage nucléaire positif et intense au p63 dans toutes les cellules tumorales (**Figure 22 A et B**) et négatif pour le TTF1 (**Figure 22 C**). Ces résultats sont en faveur d'un carcinome épidermoïde kératinisant.

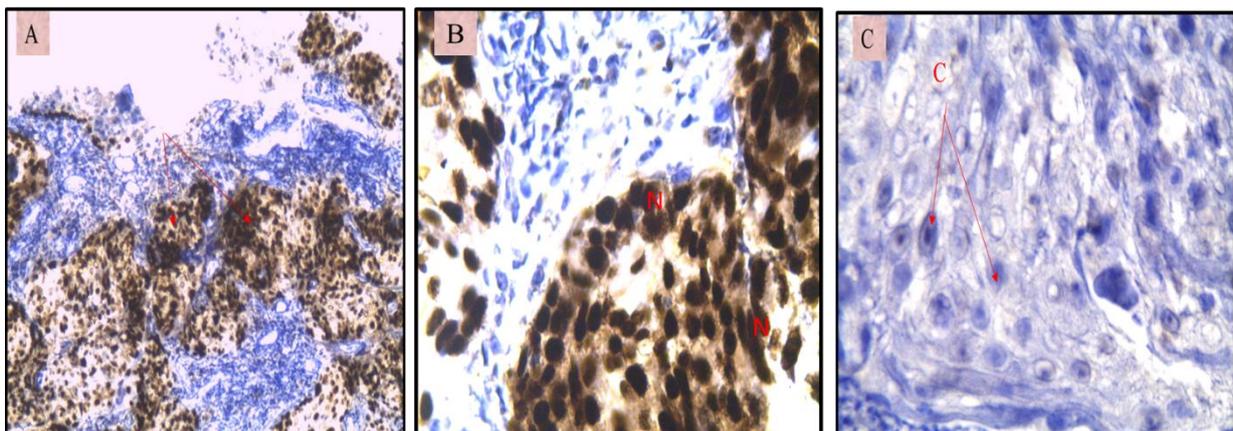
Immun-marquage anti-TTF1, anti-P63 du carcinome épidermoïde non kératinisant

Figure 23. Immuno-marquage à l'aide de l'anticorps anti-TTF1 et anti-p63 d'un carcinome épidermoïde non kératinisant. A (Gx100) et B (Gx400) : immuno-marquage anti-p63. C (Gx400) : immuno-marquage anti-TTF1 négatif. N : noyau, C : cellule .IHC.

La figure 23 (A et B) montre un marquage nucléaire positif et intense du p63 dans toutes les cellules tumorales et un marquage négatif pour le TTF1 (Figure 23 C). Ces résultats sont en faveur d'un carcinome épidermoïde non kératinisant.

III.3.5. Profil immunohistochimique des adénocarcinomes et des carcinomes épidermoïdes

Nous avons examiné le profil immunohistochimique constituer d'une combinaison de biomarqueurs spécifiques (TTF1/p63) et obtenu les résultats suivants (Tableau 15, Figure 24) :

Tableau 15. Profil immunohistochimique des adénocarcinomes et des carcinomes épidermoïdes.

Profil IHC/Type histologique	Adénocarcinome	Carcinome épidermoïde
TTF1+	80% (39cas)	0%
TTF1-	6% (3cas)	83% (21 cas)
P63+	0%	83% (21 cas)
TTF1+/P63+	12 % (6 cas)	0%

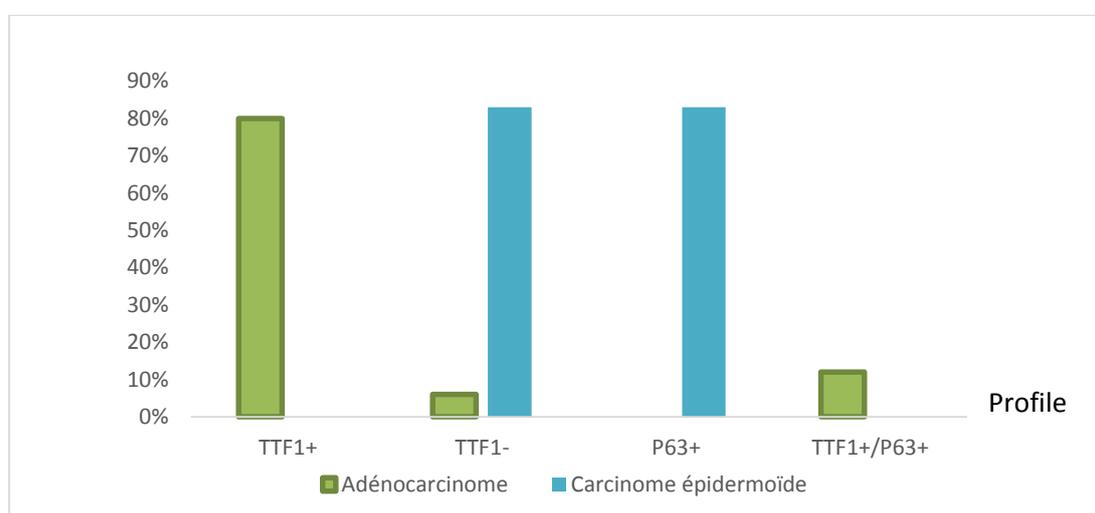


Figure 24. Répartition des patients atteints d'un adénocarcinome/carcinome épidermoïde selon le profil immunohistochimique.

Nos résultats montrent que parmi les 98% (48 cas) cancéreux diagnostiqués avec un adénocarcinome grâce à l'étude immunohistochimique, 80% des cas (39cas) étaient TTF1⁺, 12 % des cas (6 cas) étaient p63⁺/TTF1⁺ avec un aspect histopathologique d'un carcinome

broncho-pulmonaire non à petites cellules en faveur d'un adénocarcinome, et 6% des cas avec un adénocarcinome secondaire TTF1-.

L'adénocarcinome secondaire représentant 6% des cas (3 cas) requière d'autre panel d'anticorps selon l'origine de ce dernier, dont 4% (2 cas) étaient d'origine colique Cdx2⁺ et CK20⁺, étaient d'origine mammaire positive aux récepteurs d'œstrogène, et 2% des cas (un cas) d'adénocarcinome étaient TTF1-/CK7+.

Le profile immunohistochimique majoritaire dans notre étude était le p63⁺/TTF1⁻ observé dans 83% des cas (21 cas) et qui désigne un carcinome épidermoïde. Nos résultats concordent avec les profiles immunohistochimiques d'autres études. L'étude tunisienne de Joobeur et al (2015) a démontré que le TTF1 était positif chez 64,6% des patients, alors que Pelosi et al (2016) ont aussi démontré une prédominance du profil double positif (TTF1+/p63+) d'adénocarcinome.

Un nombre considérable de travaux se sont intéressés à la détermination de divers marqueurs permettant une distinction fiable entre le carcinome épidermoïde et l'adénocarcinome (**Terry et al., 2010 ; Rekhtman et al., 2012**). Parmi ces marqueurs, le p63/p40 et le TTF1 semblent être les deux marqueurs les plus sensibles et les plus spécifiques. Le TTF1 est considéré comme le meilleur marqueur des adénocarcinomes alors que le p63/p40 et les cytokératines 5 et 6 sont considérés comme marqueurs fiables de différenciation malpighienne pour les carcinomes épidermoïdes (**Travis et al., 2015b**).

Sur le plan immunohistochimique, l'expression de la protéine TTF1, qui est corrélée à une origine terminale respiratoire est constante dans les adénocarcinomes. Cependant, 30 % des adénocarcinomes sont p63 positifs alors qu'ils sont très majoritairement p40 négatifs (**Lantuejoul et al., 2017**)

En 2015, l'OMS a recommandé que les cas co-exprimant le p63 et le TTF1 soient classés en tant qu'adénocarcinome lorsque le TTF1 et le p63 sont positifs dans les mêmes cellules tumorales. Dans ce cas, une différenciation glandulaire-kératinisante combinée peut être enregistrée (**Pelosi et al., 2016**).

L'IHC permet également de distinguer entre un adénocarcinome d'origine primitive ou secondaire. Néanmoins, cette classification est moins évidente dans le cas des carcinomes épidermoïdes. Le diagnostic d'adénocarcinome secondaire (métastatique) sera toujours encore plus difficile sur des fragments biopsiques que chirurgicaux, dans ce cas, nous avons recours à

un panel d'anticorps dont les plus utiles sont les cytokératines, en particulier 7 et 20, le TTF1 et autres marqueurs spécifiques dont les récepteurs hormonaux.

Les adénocarcinomes colorectaux ont dans 80 % des cas, un phénotype CK7 négatif CK20 positif. Dans les 20 % restants, l'utilisation de l'anticorps Cdx-2, contre la protéine Cdx-2 impliqué dans le développement et le maintien de la muqueuse intestinale, est révélé utile pour distinguer l'origine gastro-intestinale des adénocarcinomes métastatiques (**Antoine et al., 2007**).

Notre travail a été réalisé dans le but d'étudier l'apport de l'immunohistochimie dans le diagnostic du cancer broncho-pulmonaire pour une meilleure stratégie thérapeutique.

Notre étude a révélé une prédominance du CBP chez les hommes comparés aux femmes (72% vs 28%). Cette prédominance pourrait être liée à la grande consommation tabagique de nos patients qui était dans 81% des cas fumeurs avec une consommation tabagiques élevée (45 p/a). Plus que la moitié de nos patient étaient âgées qui avaient dans 89% des cas plus que 50 ans, en plus des antécédents personnels dont l'hypertension artériel, hypertrophie de la prostate et le diabète.

La classification TNM a révélé que la majorité des patients ont été diagnostiqués à un stade tardif IV dans 74% des cas.

Les résultats anatomopathologiques ont révélé une prédominance du CBNPC dans 94,3% des cas dont le sous-type majoritaire était l'adénocarcinome (p63⁻/TTF1⁺) dans 60% des cas suivie par le carcinome épidermoïde (p63⁺/TTF1⁻) dans 31,32% des cas.

L'immunohistochimie (IHC), en se basant sur un panel d'anticorps spécifique et minimal TTF1/P63, constitue sans aucun doute la technique de choix en termes de précision du diagnostic et de rapport coût/bénéfice dans le sous-typage du CBNPC.

Néanmoins, l'immunohistochimie pourrait avoir certaines limites représentées par des résultats faux positifs ou faux négatifs conduisant à un mauvais diagnostic. Ces erreurs de diagnostic sont dus essentiellement à des erreurs purement pratiques ou à une mauvaise interprétation des résultats par le pathologiste, d'où l'importance cruciale d'une formation adéquate des techniciens dans la manipulation et l'utilisation des anticorps d'une part, et d'une expérience minimale du pathologiste dans l'interprétation des résultats d'autre part.

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.

Le cancer broncho-pulmonaire constitue un problème majeur de santé publique vu sa prévalence élevée et son pronostic sombre. Il occupe largement la première place parmi les tumeurs malignes de l'homme et constitue la première cause de mortalité par cancer dans le monde (**IARC, 2018**).

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 et à un fort pouvoir métastatique. 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 essentiel pour l'orientation thérapeutique (**Tahiri Elousrouti, 2017**).

Cependant les nouvelles modalités thérapeutiques de prise en charge des patients atteints de cancers broncho-pulmonaires exigent un phénotype précis. Le diagnostic définitif et la distinction des deux types histologique non à petite cellules majeur (adénocarcinome, carcinome épidermoïde) peut être difficile dans certains cas, en particulier dans les carcinomes faiblement différenciés et les petits biopsies (**Pelosi et al., 2016**).

L'immunohistochimie et les immunomarquages ciblés semblent être un meilleur outil pour les pathologistes afin de caractériser de façon plus précise une tumeur et confirmer un sous-type histologique particulier sur les mêmes prélèvements et parfois sur des prélèvements encore plus restreints (**Pelosi et al., 2015a ; Pelosi et al., 2015b**).

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude était de déterminer l'apport de l'immunohistochimie dans le diagnostic et la classification histologique du cancer broncho-pulmonaire développé chez des patients Algériens.

A cet effet notre travail s'articule autour :

- D'une étude rétrospective analysant des paramètres d'ordre épidémiologiques, cliniques et histologiques de 50 patients.
- D'une étude prospective visant à déterminer le profil immunohistochimique, en se basant sur l'expression de deux marqueurs spécifiques le TTF1 (*facteur de transcription thyroïdien-1*) et le p63 (*protéine apparenté à p53*) de 38 patients.

I.1. Le cancer broncho-pulmonaire (CBP)

Le cancer du poumon ou broncho-pulmonaire (CBP) est une tumeur maligne issue principalement des cellules épithéliales bronchiques. Selon l'OMS, le CBP constitue la cause la plus fréquente de décès par cancer chez les hommes après le cancer du sein, chez les femmes (Chater, 2014).

I.2. Anatomie et physiologie du poumon

L'être humain possède deux poumons, logés dans la cage thoracique et protégés par les côtes. Ils reposent sur une vaste nappe musculaire, le diaphragme, qui sépare le thorax de la cavité abdominale. Le poumon droit comprend trois lobes, le gauche deux. Les poumons sont entourés de deux feuillets appelés plèvres (Figure 1).

Les poumons sont les organes responsables de la respiration. Ils transmettent l'oxygène dans le sang et éliminent le gaz carbonique. 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 (Martelli-Reid et al., 2013).

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. 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 produisant le surfactant (Hanahan et Weinberg., 2000).

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 (Martelli-Reid et al., 2013).

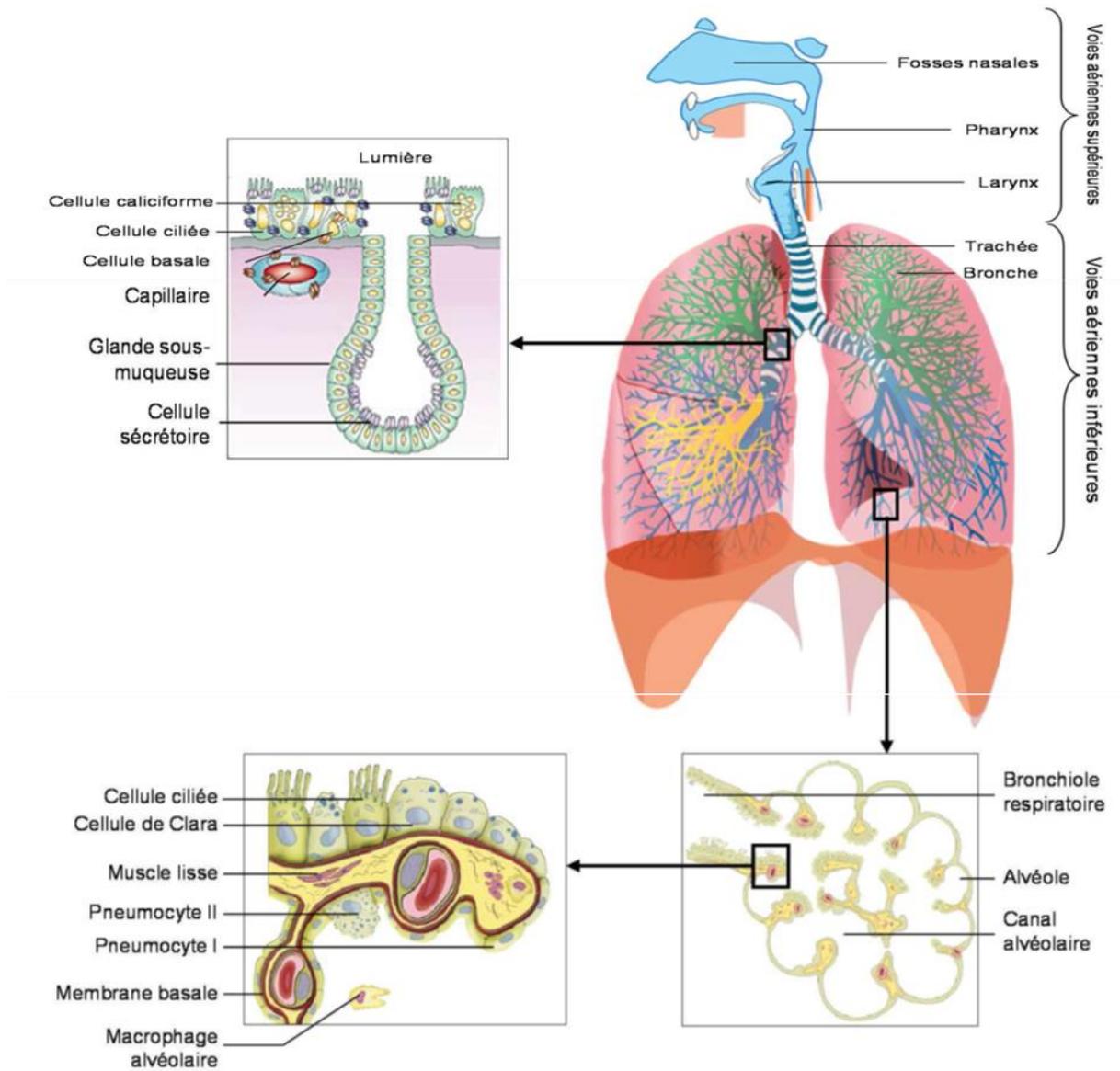


Figure 1. Anatomie de l'appareil respiratoire et organisation cellulaire de la muqueuse respiratoire (Billet, 2008).

I. 3. Epidémiologie du CBP

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le CBP est le cancer le plus fréquemment diagnostiqué dans le monde avec 1 610 000 nouveau cas chaque année (13% des cancers) et la première cause de mortalité par cancer (1,38 millions chaque année). Chez l'homme avec près de 1,1 million de nouveau cas par an, il s'agit de la première cause de cancer et de mortalité par cancer avec 951 000 décès attribuable chaque année représentant 23% de la mortalité par cancer. La situation est un peu différente chez la femme puisque le CBP est la quatrième cause de cancer avec plus de 510 000 nouveaux cas par an (9%), après le cancer du sein (23%), du colon (9%) et du col de l'utérus (9%). Avec près de 430 000 décès

chaque année, le CBP est par contre la seconde cause de mortalité par cancer chez les femmes (13%) après le cancer du sein (**Ferlay et al., 2010**).

L'incidence dans les pays en développement a rattrapées puis dépassée celle dans les pays développés puisqu'environ 55% des CBP sont actuellement diagnostiqués dans les pays en développement (**Ferlay et al., 2010**).

En Algérie, ses taux d'incidence sont en augmentation constante chez les deux sexes, suivant la courbe de consommation tabagique (**Figure 52, Annexe III**). Le CBP est premier rang chez l'homme (**Hamdi-Cherif et al., 2014**).

I. 4. Etiologie du CBP

Le tabac constitue la principale cause du cancer bronchique avec une relation dose effet (**Sanchez et al., 2015**). La relation causale entre le cancer du poumon et le tabagisme fut avancée pour la 1^{ère} fois en 1898 et ensuite clairement démontrée dans des études de cohorte dans les années 1950 et 1960. L'International Agency for Research on Cancer (IARC) estime que dans les populations avec une consommation tabagique prolongée, la proportion de cancers du poumon dus au tabagisme était de plus de 90 %. Le risque de cancer du poumon chez les fumeurs dépend de différents aspects du comportement tabagique, notamment la durée du tabagisme, la quantité de cigarettes fumées, le type de cigarette fumée et le type d'inhalation (**Flieder, 2008**).

Le tabagisme cause des changements génétiques dans les cellules pulmonaires, qui conduisent au développement du cancer. Plus de 4000 substances chimiques ont été identifiées dans la fumée de cigarette. Environ 2500 proviennent du tabac naturel transformé, tandis que le reste provient des additifs, pesticides et autres composants métalliques et organiques. Les carcinogènes connus incluent les hydrocarbures aromatiques polycycliques (PAHs), les N-nitrosamines, les amines aromatiques, les aldéhydes, les composants organiques (benzene, chlorure de vinyle) et les composants inorganiques (arsenic, chrome, radon, lead 210, polonium 210). Les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les nitrosamines spécifiques au tabac sont les carcinogènes les plus puissants dans la fumée de tabac. Ces agents carcinogènes sont donc responsables du développement de cancers chez les fumeurs mais également chez les personnes de leur entourage. Le tabagisme passif augmenterait le risque de cancer du poumon de 15 à 20%. Le tabagisme passif inclut la fumée secondaire (80 %) due aux produits de combustion du tabac et la fumée principale (20 %) exhalée par les fumeurs. La fumée secondaire contient des concentrations en carcinogènes

(nitrosamines, benzo (a)pyrène) et autres toxiques plus élevées que dans la fumée principale (**Thiberville et Paris., 2004 ; Flieder, 2008**).

D'autres facteurs de risque sont également impliqués dans l'oncogenèse pulmonaire mais ils restent néanmoins bien en deça des cas imputables au tabac. Les expositions professionnelles sont la deuxième cause de cancer bronchique et seraient à l'origine de 10% des cas. D'autres carcinogènes peuvent être incriminés tels que l'amiante, le radon, le nickel, le chrome, les goudrons, l'arsenic, l'oxyde de fer, gaz radioactif ...etc. (**Moreau, 2006 ; Quoix et Lemarié., 2011**).

Enfin, la présence de pathologies respiratoires obstructifs ou restrictifs, la prédisposition génétique et les facteurs hormonaux peuvent aussi constitués des facteurs qui augmentent le risque de survenue du CBP (**Moreau, 2006 ; Mazieres et al., 2007;Denotte, 2009**).

I. 5. Anatomopathologie et types du CBP

Les CBP sont classés en 2 types : les cancers à petites cellules (CBPC, 13% des cancers pulmonaires) et les cancers non à petites cellules (CBNPC, 87% des cancers pulmonaires) (**Brambilla et al., 2001**).

I. 5.1. Les carcinomes pulmonaires à petites cellules (CBPC)

Le carcinome à petites cellules représente 15% des cancers bronchiques et se caractérise par des cellules de petite taille avec un rapport cytoplasme / noyau faible, une chromatine d'apparence granuleuse, une activité mitotique élevée et de grandes plages de nécrose (**Figure 2**). Ce type de cancer présente un pouvoir métastatique élevé et est le plus agressif, il est donc souvent diagnostiqué à un stade étendu. Il se développe généralement dans les bronches principales, le plus souvent de siège hilare ou médiastino-pulmonaire. Ils peuvent se présenter comme une tumeur périphérique, plus rarement, isolée (moins de 10 % des cas). La mort survient en quelques mois, le temps de doublement étant de 30 à 40 jours (**Chater, 2015**).

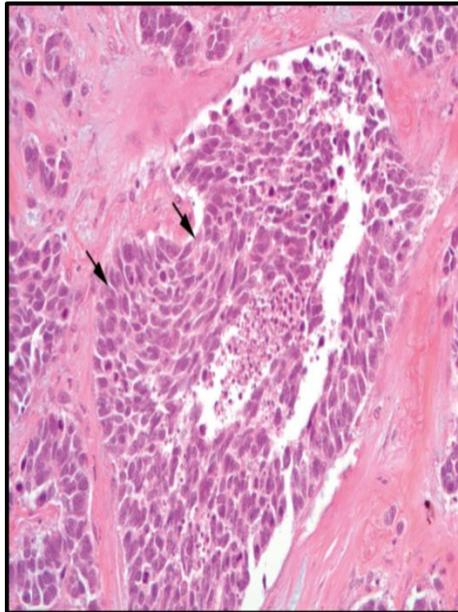


Figure 2. Carcinome à petites cellules (OMS, 2015).

I. 5.2. Les carcinomes pulmonaires non à petites cellules (CBNPC)

Les carcinomes non à petites cellules représentent 80 à 85 % des cancers de poumon et se caractérisent par des cellules qui ne semblent pas petites au microscope. Le CBNPC peut apparaître n'importe où dans les tissus qui tapissent les voies aériennes des poumons (Lantuejoul, 2017). Il regroupe, selon l'architecture, la localisation, et l'origine cellulaire, trois sous-types : les adénocarcinomes, les carcinomes épidermoïdes, et les carcinomes à grandes cellules.

Les **adénocarcinomes (ADC)** touchent 40% des patients et forment des tumeurs glandulaires, les cellules tumorales sécrètent des mucosités intracytoplasmiques. Il est lié au tabac mais est également surreprésenté chez les non-fumeurs ainsi que chez les femmes (Jemal et al., 2011). Contrairement aux autres types de cancer bronchique, il se développe dans les parties plus distales. Il existe 5 sous-types différents d'adénocarcinomes : acineux, solide, mixte, papillaire ou bronchioalvéolaire qui sont dus à une prolifération des cellules de Clara ou pneumocytes de type II (Antoine et al., 2018). Ce dernier sous-type mérite d'être individualisé du fait d'une oncogénèse distincte (absence de lien avec le tabac, mutations fréquentes du récepteur à l'EGF (EGFR) dans le sous-type non-mucineux) et d'un meilleur pronostic lors des diagnostics précoces (Figure 3).

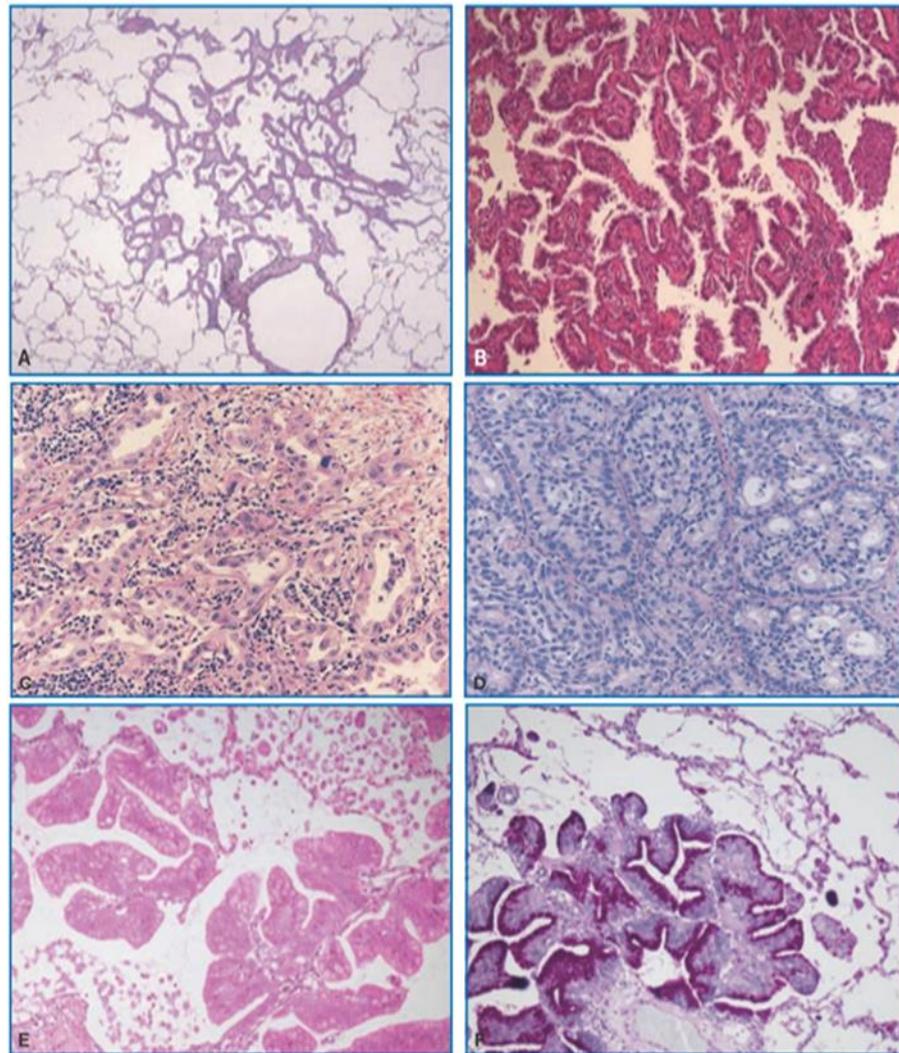


Figure 3. Adénocarcinomes avec variantes architecturales et cytologiques (**Antoine et al., 2018**). A, architecture lipidique. Adénocarcinome in situ, HES x 2.5. B, architecture papillaire, HES x 5. C, architecture acinaire, HES x 50. D, architecture solide, HES x 5. E, adénocarcinome mucineux, avec cellules cylindrique mucosécrétantes, HES x 10. F, adénocarcinome mucineux avec mucine intracellulaire, PAS x 10.

Les **carcinomes épidermoïdes (CE)**, appelés aussi carcinomes malpighiens, représentent 35% des cas et sont caractérisés par la synthèse de kératine par les cellules tumorales et par des ponts intercellulaires. Ce sont des cancers bien différenciés qui se développent également dans les parties proximales du poumon. Ils dérivent principalement de l'épithélium bronchique pseudo-stratifié et sont majoritairement associés au tabagisme actif. Il existe 3 sous types différents de carcinome épidermoïde (**Figure 4**) : Kératinisant, Non kératinisant et Basaloïde (**OMS ,2015**).

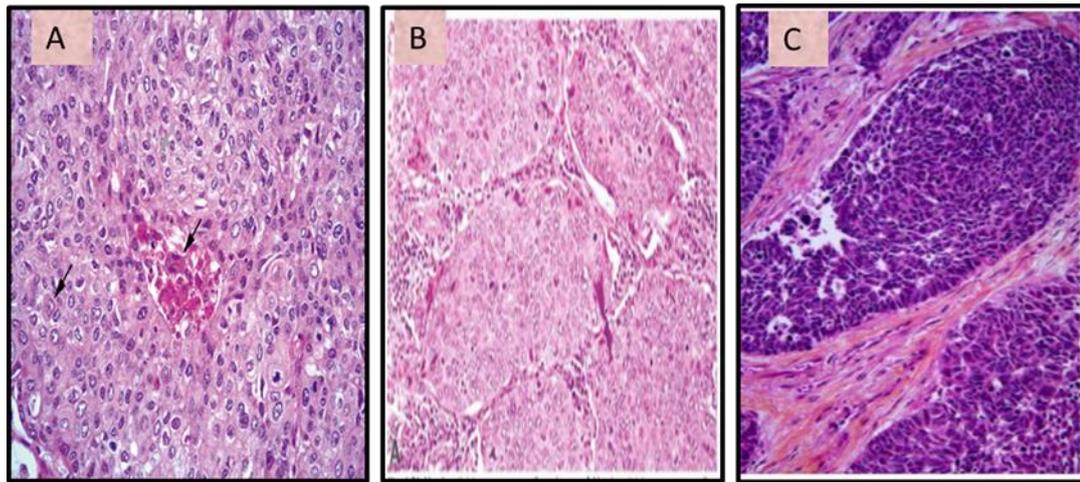


Figure 4. Les différents sous-types du carcinome épidermoïde (OMS, 2015). A, carcinome épidermoïde kératinisant (flèche noire). B, carcinome épidermoïde non kératinisant. C, carcinome épidermoïde basaloïde.

Le **carcinome à grandes cellules** représente 10% des patients atteints de cancer bronchique. Il s'agit le plus souvent d'une tumeur périphérique, volumineuse solide, nécrosée mais rarement excavée. Les cellules tumorales sont de grande taille, cohésives, très atypiques sans signe de différenciation (**Figure 5**). Il regroupe les carcinomes à grandes cellules indifférenciés et les carcinomes neuroendocrines à grandes cellules. C'est un cancer agressif et de mauvais pronostic (**Copin, 2016**).

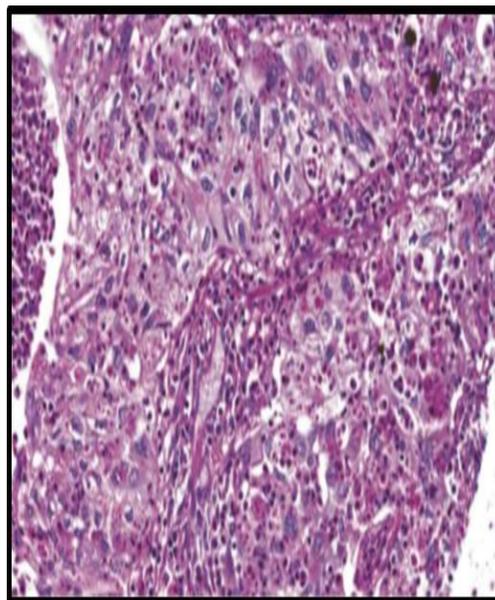


Figure 5. Carcinome a grande cellules (OMS, 2015).

I.6. Oncogenèse pulmonaire

L'oncogenèse résulte des anomalies moléculaires majeures que subissent les cellules telles que des mutations, des modifications épigénétiques, des phénomènes de translocations chromosomiques. Ces modifications conduisent en effet à l'inhibition, l'induction ou l'activation aberrante de certaines protéines impliquées dans des processus cellulaires variés (prolifération cellulaire, survie, apoptose, sénescence, migration...). Dans les cellules normales, il existe une balance entre les signaux de prolifération et ceux de mort cellulaire. Cette balance étant dérégulée dans les cellules tumorales, cela conduit donc à une prolifération non-contrôlée et à la formation de tumeur.

Il existe un grand nombre de travaux expérimentaux chez l'animal (**Melamed et Zaman., 1982 ; Nasiell et al., 1987**) suggérant une progression depuis les dysplasies vers le carcinome *in situ* puis vers le carcinome invasif. La modification la plus précoce de l'épithélium est l'hyperplasie des cellules basales, et cette hyperplasie du compartiment des cellules de réserve correspond probablement à un des premiers événements du processus de carcinogenèse multi-étapes. Sous l'influence d'une stimulation/ irritation par les carcinogènes du tabac, ces cellules amorcent une métaplasie malpighienne. L'accumulation de nouvelles agressions nucléaires conduira ensuite les cellules à l'état de dysplasie puis de carcinome *in situ* où elles acquièrent un génotype et un phénotype anormaux. Cependant ce processus séquentiel longitudinal n'a pas fait ses preuves, une évolution plus directe d'une lésion prénéoplasiques de quelque degré que ce soit à un carcinome invasif étant possible (**Annexe III**) (**McWilliams et al., 2003**).

Les études expérimentales suggèrent que toutes ces modifications seraient réversibles si l'agent stimulant ou les carcinogènes étaient supprimés (**Nasiell et al., 1987**) et que les lésions dysplasiques pourraient croître et décroître en fonction de la dose et de la durée d'exposition aux carcinogènes. Néanmoins, les altérations moléculaires persistent même quand les lésions s'amendent histologiquement.

Parallèlement à ces modifications morphologiques les cellules dysplasiques accumulent des anomalies génétiques et moléculaires leur permettant d'acquérir de nouvelles capacités de prolifération, de résistance à l'apoptose, de progression et d'invasion. L'apparition d'un cancer résulte donc d'une accumulation séquentielle d'altérations génétiques et épigénétiques (**Chung et al., 1996 ; Sozzi et al., 1992 ; Thiberville et al., 1995 ; Wistuba et al., 2000a**) qui pour la plupart sont dues aux agents carcinogènes du tabac (**Volgenstein et Kinzler., 1993**).

La présence de certaines d'entre elles (pertes d'allèle, méthylation) s'observe déjà au sein de l'épithélium bronchique normal, hyperplasique ou en métaplasie malpighienne des fumeurs ainsi qu'au niveau de l'épithélium alvéolaire, avant même l'apparition d'authentiques lésions dysplasiques suggérant donc que leur apparition précède celle des lésions histologiques (*Annexe III*) (Mao et al., 1997 ; Witsuba et al., 2000b).

Ces anomalies moléculaires et génétiques sont de plus multicentriques traduisant donc une atteinte diffuse de l'arbre bronchique qui peut présenter différents types d'anomalies à différents sites, d'évolution, de degré de gravité et de rapidité d'accumulation variables. Le processus de cancérogenèse est donc multicentrique et multiétapes tant sur le plan phénotypique que génétique. L'accumulation de ces anomalies génétiques et épigénétiques, et plus globalement moléculaires, favorise la croissance excessive, le potentiel d'envahissement local et la capacité de métastaser. Ces anomalies affectent donc plus particulièrement des gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire tels que les oncogènes qui favorisent la croissance cellulaire, les gènes suppresseurs de tumeur qui inhibent cette croissance et les gènes régulant la mort cellulaire programmée ou apoptose. Ainsi environ 50 gènes suppresseurs de tumeurs et plus de 100 oncogènes ont été identifiés. Les allèles mutants des oncogènes sont considérés comme dominants car l'altération d'un seul allèle suffit à entraîner une transformation cellulaire, cette altération étant due soit à une mutation, une translocation ou une amplification génique ; à l'inverse l'inactivation d'un gène suppresseur de tumeur nécessite l'altération des deux allèles, par mutation, délétion ou méthylation par exemple, ces gènes étant donc considérés comme récessifs. Les gènes impliqués dans l'apoptose peuvent se comporter soit comme des gènes dominants anti apoptotiques soit comme des gènes récessifs pro apoptotiques. D'autres catégories de gènes sont également impliquées dans la carcinogenèse incluant les gènes codant pour des protéines de migration cellulaire, d'angiogenèse, des protéines réparatrices de l'ADN et d'immortalité cellulaire comme la télomérase.

I.6.1. Rôle du p63 dans l'Oncogenèse pulmonaire

La plupart des tumeurs pulmonaires ont inactivé plusieurs gènes suppresseurs de tumeurs, certains étant communs aux carcinomes à petites cellules et non à petites cellules, tandis que d'autres sont plus spécifiques d'un type histologique donné.

Parmi les gènes suppresseurs de tumeur les plus fréquemment délétés, le p53. L'implication des mutations du gène p53 dans les cancers et particulièrement dans les cancers pulmonaires a été largement démontrée.

Le p63 (p53-related protein), un homologue de p53, partage certaines fonctions caractéristiques de p53 telle que la transactivation génique et l'induction de l'apoptose (**Bergholz et Xiao., 2012**). Ils présentent des fonctions pléiotropes, notamment le développement l'épithélium stratifié, la prolifération cellulaire, la survie, l'apoptose, la différenciation, sénescence et vieillissement. Néanmoins, il a été démontré que p63 était impliqué dans tous les aspects de la tumorigenèse et de la progression du cancer.

Le gène p63 joue un rôle dans les interactions mésenchyme- épiderme au cours du développement embryonnaire et les mutations de p63 entraînent une dysplasie ectodermique. L'isoforme délétée en N terminal -DeltaN p63- présente des propriétés oncogéniques ou anti apoptotiques et le gène p63 est amplifié dans des lignées de cellules carcinomateuses malpighiennes de la tête et du cou ou pulmonaires (**Hibi et al., 2000 ; Bergholz et Xiao., 2012**).

Le p63 favorise vraisemblablement la chimiosensibilité des cellules tumorales. Cependant, les mécanismes moléculaires du tumorigenèse lié au p63 restent sombres et non complètement déchiffrés (**Bergholz et Xiao., 2012**).

La protéine p63 est surexprimée dans les métaplasies de la muqueuse bronchique et dans tous les carcinomes épidermoïdes. Elle constitue donc un bon marqueur histologique du compartiment épidermoïde des tumeurs présentant une histologie mixte (**Irwin et Kaelin., 2001**).

I.6.2. Rôle du TTF-1 dans l'Oncogenèse pulmonaire

Le facteur de transcription thyroïdien TTF-1 (*thyroid-transcription factor-1*) est exprimé dans les cellules vésiculaires thyroïdiennes, les cellules du diencephale, les pneumocytes de type II et les cellules bronchiolaires. Ce facteur de transcription régule l'expression de plusieurs gènes codants pour la thyroglobuline, la thyroperoxydase, le récepteur à la thyrotropine, et les protéines du surfactant A, B et C (**Gilbert-Sirieix et Massaad-Massade., 2011**).

Le TTF-1 est un des gènes de régulation du développement pulmonaire, il est exprimé par l'épithélium des bronchioles respiratoires et des alvéoles. TTF-1 est généralement utilisé

comme marqueur des cellules épithéliales dans les cancers pulmonaires (**Oliveira et al., 2001**). De plus, son expression est corrélée au degré de différenciation cellulaire dans les carcinomes pulmonaires non à petites cellules (**Ordonez, 2000**). Il est spécifiquement exprimé dans les adénocarcinomes pulmonaires et dans les 3 formes acinaire, papillaire et bronchioalvéolaire (**Bohinski et al., 1998**). Il est en revanche absent dans les adénocarcinomes développés dans d'autres organes (**Bohinski et al., 1998**). De plus, le TTF-1 semble être impliqué dans la prolifération des adénocarcinomes pulmonaires. En effet, des publications font état de son statut de proto-oncogène spécifique de lignage (**Kwei et al., 2008**). Ainsi, son expression aberrante participerait à la carcinogenèse et à la progression tumorale (**Garraway et Sellers., 2006**). Le TTF-1 est également exprimé dans les carcinomes du poumon à petites cellules (**Jagirdar, 2008 ; Kitamura et al., 2009**) et dans les tumeurs neuroendocrines du poumon (**Oliveira et al., 2001**). Cependant, il ne peut pas être utilisé comme marqueur spécifique des carcinomes du poumon à petites cellules puisque son expression a été également retrouvée dans des carcinomes à petites cellules issus d'autres organes (**Ordonez , 2000**).

I.7. Les base du traitement du CBP

I.7.1. Stadification et classification 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**).

Les cliniciens et pathologistes ont adopté la nouvelle stadification ou classification proposée par l'IASLC et présente également dans la 8^{ème} édition de la classification TNM. Les critères pour le T (taille des nodules tumoraux), le N (envahissement des ganglions lymphatiques) et le M (présence ou de absence de métastases à distance) se sont basés uniquement sur des facteurs pronostiques. Cette stadification est donc responsable des différentes conduites à tenir thérapeutiques. Dans le **Tableau 1** sont répertoriées les caractéristiques de cette classification (**Goldstraw et al., 2016**).

Tableau 1. Classification TNM du cancer du poumon, 8^{ème} édition (Goldstraw et al., 2016).

Taille (T)	TX	Tumeur primaire non connue ou tumeur prouvée par la présence de cellules malignes dans les sécrétions broncho-pulmonaires mais non visible aux examens radiologiques et endoscopiques.
	T0	Absence de tumeur identifiable.
	Tis	Carcinome in situ
	T1	Diamètre de la tumeur ≤ 3 cm dans son diamètre le plus grand Pas de signe d'invasion au-delà de la bronche lobaire T1a (mi) : Adénocarcinome minimalement-invasif T1a : ≤ 1 cm T1b : > 1 cm et ≤ 2 cm T1c : > 2 cm et ≤ 3 cm
	T2	Tumeur de plus de 3 cm, mais de 5 cm ou moins, avec quelconque des éléments suivants : - envahissement d'une bronche souche quelle que soit sa distance par rapport à la carène mais sans envahissement de la carène, -envahissement de la plèvre viscérale, -existence d'une atélectasie ou pneumonie obstructive s'étendant à la région hilare ((sub)lobaire ou pulmonaire). T2a > 3 cm mais ≤ 4 cm T2b > 4 cm mais ≤ 5 cm
	T3	Tumeur de plus de 5 cm et de 7 cm ou moins, ou associée à un (des) nodule(s) tumoral (aux) distinct(s) et dans le même lobe, ou ayant au moins l'un des caractères invasifs suivants : -atteinte de la paroi thoracique (incluant les tumeurs du sommet), -atteinte du nerf phrénique, -atteinte de la plèvre pariétale ou du péricarde.
Ganglions (N)	T4	Tumeur de plus de 7 cm ou associée à un (des) nodule(s) pulmonaire(s) distinct(s) comportant un envahissement quelconque parmi les suivants : -médiastin, cœur ou gros vaisseaux, trachée, diaphragme, nerf récurrent, œsophage, corps vertébraux, carène, nodules tumoraux séparés dans deux lobes différents du même poumon.
	NX	Envahissement locorégional inconnu
	N0	Absence de métastase dans les ganglions lymphatiques régionaux.
	N1	Métastases ganglionnaires péri-bronchiques homolatérales et/ou hilaires homolatérales incluant une extension directe
	N2	Métastases dans les ganglions médiastinaux homolatéraux ou dans les ganglions sous-carénaux
Métastases (M)	N3	Métastases ganglionnaires médiastinales controlatérales ou hilaires controlatérales ou scaléniques, sus-claviculaires homo- ou controlatérales
	M0	Pas de métastase à distance.
	M1	M1a : Nodules tumoraux séparés dans un lobe controlatéral, ou nodules pleuraux ou pleurésie maligne ou péricardite maligne M1b : 1 seule métastase dans un seul site métastatique M1c : Plusieurs métastases dans un seul site ou plusieurs sites atteints

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.

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 cancer du poumon sont résumée dans le **Tableau 2**.

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

Tableau 2. Classification du cancer du poumon par stade (**Eberhardt et al., 2015**).

STADE		Classification TNM
Carcinome occulte		Tx N0 M0
Stade 0		Tis N0 M0
Stade I	IA	IA1
		IA2
		IA3
	IB	T1a (mi) N0 M0/T1a N0 M0 T1b N0 M0 T1c N0 M0 T2a N0 M0
Stade II	IIA	T2b N0 M0
	IIB	T1, 2 N1 M0/T3 N0 M0
Stade III	IIIA	T1, 2 N2, M0/T3 N1 M0/ T4 N0, 1 M0
	IIIB	T1, 2 N3 M0/T3, 4 N2 M0
	IIIC	T3, 4 N 3 M0
Stade IV	IV A	Tout M1a/Tout M1b
	IVB	Tout M1c

I.7.2. Traitement du CBP

Il y a globalement trois armes thérapeutiques spécifiques pour le traitement des cancers bronchiques non à petites cellules : la chirurgie, la chimiothérapie et la radiothérapie.

La chirurgie d'exérèse reste le seul traitement curateur du CBNPC, elle est le traitement de choix dans les cancers de stade I et II et garde une place importante pour les cancers de stade IIIA dans le cadre d'un traitement multimodal (**Grand, 2013**). Néanmoins, elle n'est pas sans conséquence, elle a un taux de mortalité de 4.4% en fonction de l'état pulmonaire du patient ainsi que d'autres facteurs de risque. Elle n'est réalisée que si le patient est résécable (diagnostic à un stade précoce) et opérable. La chirurgie correspond à une lobectomie, ablation d'un seul lobe ou à une pneumonectomie, ablation d'un poumon entier, chez les patients ne présentant pas de contre-indication. Elle est, de plus, associée à un curage ganglionnaire. Les résections segmentaires (ablation d'une petite partie du lobe) sont rarement appliquées dans les cas de cancers car trop souvent associées à des récurrences locales (**Wagner, 2008**).

La chimiothérapie a pour objectif de détruire les cellules cancéreuses et d'éviter les rechutes locales et métastases. Elle est le traitement de base des patients non candidats à la chirurgie car à des stades déjà trop avancés. Les drogues utilisées sont les sels de platine tels que le cisplatine ou le carboplatine généralement couplés à des taxanes (stabilisateurs des microtubules) tels que le paclitaxel ou le docetaxel, à de la vinorelbine (poison du fuseau mitotique), à la gemcitabine (antimétabolite) ou au pemetrexed (antifolate). Si le patient rechute après une première ligne de chimiothérapie, une seconde ligne peut être administrée (monothérapie par erlotinib, pemetrexed ou docetaxel) (**Denotte, 2009 ; Emery, 2014**).

Elle est souvent associée à d'autres traitements comme la chirurgie, la radiothérapie, l'hormonothérapie et l'immunothérapie (**Derniame, 2006**).

La radiothérapie est souvent utilisée en parallèle de la chimiothérapie, en particulier chez les patients non opérables. On parle alors de radio-chimiothérapie et elle peut être concomitante si les rayons sont reçus lors des séances de chimiothérapie. Elle consiste en l'administration d'une dose de 50 à 70 grays de manière fractionnée par doses de 1.8 à 2 grays.

La radiothérapie en conditions stéréotaxiques des cancers du poumon est un traitement reconnu pour les patients inopérables qui peuvent alors bénéficier d'un traitement à visée curative, celle-ci représente une nouvelle indication thérapeutique. Dans ce cas, une irradiation du cerveau, à des doses moindres (20-30 grays), permettra de limiter l'apparition de métastases cérébrales, il s'agit alors de radiothérapie prophylactique (**Antoni, et al., 2015**).

Dans les cas des CBPC intrathoraciques, la radiothérapie est systématique. Dans les cas de CBNPC, la radiothérapie est discutée chez les patients de stades IIIA présentant des envahissements des ganglions lymphatiques lors de la résection ainsi que chez les patients de stade IIIB présentant un état général satisfaisant. Chez les patients métastatiques (60% des patients diagnostiqués), la radiothérapie ne sera utilisée qu'à des fins palliatives pour diminuer les symptômes et les douleurs liées aux métastases, par exemple lors de douleurs osseuses ou de problèmes respiratoires (**Senan et Lagerwaard., 2005**).

I.7.3. Thérapies moléculaires ciblées du CBP

Une meilleure compréhension des voies de signalisation impliquées dans les processus d'oncogenèse pulmonaire a permis de développer des thérapeutiques ciblées. Dans le cadre des cancers bronchiques, les voies de l'angiogenèse et des facteurs de croissance ont été particulièrement étudiées (**Tableau 17, Annexe III**) (**Vignot et al., 2015**).

En effet, lors de la croissance tumorale une néo-angiogenèse est nécessaire afin d'apporter les nutriments nécessaires à la tumeur et l'inhibition de celle-ci peut bloquer la croissance tumorale et donc la progression du cancer. Le bevacizumab, anticorps monoclonal humanisé dirigé contre le VEGF, facteur de croissance impliqué dans la néo-angiogenèse, a largement été étudié et il est actuellement utilisé dans le traitement des CBNPC non épidermoïdes et des essais cliniques sont en cours pour étudier son efficacité dans les CBPC (**Blackhall et Shepherd., 2007 ; Hirsh, 2010 ; Pal et al., 2010**). Sa toxicité est en particulier due à des problèmes de coagulation (hémorragie, caillot) (**Mazieres et Dansin., 2008**) en particulier dans les carcinomes épidermoïdes.

Les voies de signalisation contrôlées par des facteurs de croissance dont l'activité est augmentée dans les processus oncogéniques sont également des cibles de choix. Le récepteur à l'EGF (EGFR) est souvent surexprimé dans les cancers bronchiques. Des inhibiteurs de ce récepteur ont donc été développés et 2 types de molécules ont vu le jour. Ainsi un anticorps monoclonal, le cetuximab, bloque la liaison du facteur de croissance sur son récepteur inhibant ainsi son activation. Il est aujourd'hui utilisé en première ligne dans le traitement des

CBNPC en combinaison avec une chimiothérapie conventionnelle (**Bergot et al., 2008**) mais du fait d'un index thérapeutique jugé trop étroit, son développement a été stoppé dans cette indication (il est toujours utilisé dans le traitement des cancers colorectaux). La toxicité de ce traitement est avant tout cutanée.

Le gefitinib ou l'erlotinib sont des TKI (petites molécules inhibitrices de l'activité tyrosine kinase) spécifiques de l'EGFR. Ils sont à ce jour utilisés en traitement de 1ère, 2ème ou 3ème ligne dans les CBNPC (**Blackhall et Shepherd., 2007**). Ces traitements sont plus efficaces chez les femmes, non fumeuses, d'origine asiatique présentant des carcinomes bronchioloalvéolaires. Cependant, les derniers essais cliniques montrent de meilleurs résultats avec ces TKI utilisés seuls en première ligne en comparaison avec le doublet carboplatine-paclitaxel mais cela uniquement chez les patients porteurs des mutations activatrices (**Maemondo et al., 2010**).

Un 3ème type de traitement appelé vaccin anti-tumoral est en train d'apparaître. Le principe étant que le système immunitaire reconnaisse les cellules tumorales comme du « non soi » et les détruise. La lyse par les lymphocytes T cytotoxiques ou les cellules NK ne peut se faire qu'après la reconnaissance d'antigènes spécifiques n'étant pas exprimés à la surface des cellules normales (**Bergot et al., 2008**).

Références bibliographiques

Antoine M, Morochl J, Kebir F, Georges M, Wislez M J. Cadranel de Classification histomoléculaire des cancerspulmonaires SPLF. Elsevier Masson SAS. Rev Malad Resp Actua; 10: 236-247(2018).

Antoine M. Qu'apporte l'immunohistochimie à la prise en charge du cancer bronchique ? De la morphologie au diagnostic et au traitement. Elsevier Masson SAS. Rev Pneumol Clin; 63: 183-192 (2007).

Bergot E, Levallet G, Zalcmann G. Biological treatments of lung cancer in 2008 and in the near future. Rev Mal Resp; 25: 3S119-126 (2008).

Billet S. Caractérisation physicochimique d'un aérosol d'origine urbanoindustrielle (PM2.5), activation métabolique, génotoxicité et spectre mutationnel de TP53 (2008).

Blackhall FH et Shepherd FA. Small cell lung cancer and targeted therapies. Curr Opin Oncol; 19: 103-108 (2007).

Bohinski RJ, Bejarano PA, Balko G, Warnick RE, Whitsett JA. Determination of lung as the primary site of cerebral metastatic adenocarcinomas using monoclonal antibody to thyroid transcription factor-1. J Neuro Oncol; 40: 227-3 (1998).

Bonnichon E, Le Floch H, Rivière F et al. Dyspnea in lung cancer. Rev pneumo cliniq; 64 : 62-68 (2008).

Bouزيد Kamel. Deuxième édition des Journées nationales d'oncologie, la commune de Filfila à l'est de Skikda, Algérie (2018).

Brambilla E, Travis WD, Colby TV, Corrin B, Shimosato Y. the new world health organization classification of lung tumours. Euro resp jour; 18 (6): 1059-1068 (2001).

Brambilla E. Classification of broncho-pulmonary cancers (WHO 1999). Rev Mal Respir; 19: 455-466 (2002).

Cadelis G, Kaddah S, Bhakkan B, Quellery M, Deloumeaux J. Epidémiologie et incidence du cancer bronchique primitif dans une région à faible consommation tabagique: la Guadeloupe. Données 2008-2009 du registre des cancers. Rev Mal Respir; 30 (7) : 537-548 (2013).

Références bibliographiques

Chater A. Cancer broncho pulmonaire et thérapeutique. Thèse de doctorat, université Abou BekrBelkaid. Tlemcen, Algérie; 129p (2014).

Chilosi M, Murer B. Mixed adenocarcinomas of the lung: place in new proposals in classification, mandatory for target therapy. Arch Pathol Lab Med; 134(1): 55-65 (2010).

Coëtmeur D, Leveiller G, Frappat V et al. Relation entre cancer bronchique primitif et consommation tabagique. Résultats de l'étude KBP-2010-CPHG du Collège des pneumologues des hôpitaux généraux. Rev Mal Resp; 33-7: 583-593(2015).

Collège des Enseignants de Pneumologie. Tumeurs du poumon, primitives et secondaires (2017).

Copin MC. Large cellcarcinoma, lympho-epithelioma-like carcinoma, NUT carcinoma. Annales de pathologie; 36: 24-33 (2016).

Denotte M. L'utilisation de la thérapie ciblée dans les cancers bronchique. Thèse de doctorat. Université Henri Poincaré-Nancy I, Faculté de pharmacie; 85p (2009).

Derniame S. Cancer du poumon/Réponse immunitaire locale-modulation tumeur dépendante. Thèse de doctorat. Université Henri Poincaré-NancyI, Biologie cellulaire; 285p (2006).

Detterbeck FC, Boffa DJ, KimAW, Tanoue LT. The Eighth Edition Lung Cancer Stage Classification. CHEST; 151(1): 193-203(2017).

Doll R, Peto R. Mortality in relation to smoking: 20 years' observations on males British doctors. Dr. Mcd. J; 2: 1525-36 (1976).

Eberhardt WEE, Mitchell A, Crowley J, Kondo H, Kim YT, Turrisi A et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for the Revision of the M Descriptors in the Forthcoming Eighth Edition of the TNM Classification of Lung Cancer. J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer; 10(11): 1515-22 (2015).

Emery M. Multidisciplinary treatment for locally advanced CBNPC cells: Uses and methods of radio-chemotherapy. Rev malad resp actua; 6: 154-157 (2014).

Ferlay J, Shin H-R, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. Int J Cancer; 15: 127(12):2893-917(2010).

Références bibliographiques

Flieder D. Common Non-Small-Cell Carcinomas and Their Variants, Pulmonary Pathology. Springer Editor; 4: 216-307(2008).

Garraway LA et Sellers WR. Lineage dependency and lineage-survival oncogenes in human cancer. Nat Rev Cancer; 6: 593-602 (2006).

Gilbert-Sirieix Marie et Massaad-Massade Liliane. TTF-1 : ni ange ni démon. médecine/sciences ; 27 : 183-6 (2011).

Goldstraw P, Chansky K, Crowley J, Rami-Porta R, Asamura H, Eberhardt WEE et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for Revision of the TNM Stage Groupings in the Forthcoming (Eighth) Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer; 11(1): 39-51(2016).

Grand B. Lung cancer surgery: video-assisted thoracic surgery, robot-assisted thoracoscopy, segmentectomy. Rev malad resp actua ; 5: 490-495(2013).

Hamdi C M, BouharatiK, Kara L, Rouabah H, Hammouda D, Fouatih Z. Les cancers en Algérie données épidémiologiques du Réseau National des Registres du Cancer (2015).

Hamdi CM, Mahnane Abbes, Kara Lamia, Makhloufi Kenza, DilmiNaziha, Atoui Saida, BouharatiKhaoula,GuezatiZahra, FoudiKhadidja,RouabahHamza, Boudiaf Amina. PREMIER ATLAS CANCER 2014-2016. Registres du Cancer Réseau Régional EST et Sud-Est algerie (2014-2016).

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).

Harir N, Zeggai S, Maalema. Epidemiological and pathological profile of lung cancer in West Algeria: About 772 cases. Afric J Cancer; 7: 22-26 (2015).

Références bibliographiques

Hibi K, Trink B, Patturajan M, Westra WH, Caballero OL, Hill DE, Ratovitski EA, Jen J, Sidransky D. AIS is an oncogene amplified in squamous cell carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA*; 97: 5462-7 (2000).

Hirsh V. Systemic therapies in metastatic non-small-cell lung cancer with emphasis on targeted therapies: the rational approach. *Curr Oncol*; 17: 13-23 (2010).

Inoue M et al. Clinicopathological characteristics and surgical results of lung cancer patients aged up to 50 years: The Japanese Lung Cancer Registry Study 2004. *Lung Cancer*; 83: 246– 251 (2014).

International Agency for Research on Cancer. Dernières données mondiales sur le cancer : le fardeau du cancer atteint 18,1 millions de nouveaux cas et 9,6 millions de décès par cancer en 2018. Communiqué de presse N° 263 (2018).

Jagirdar J. Application of immunohistochemistry to the diagnosis of primary and metastatic carcinoma to the lung. *Arch Pathol Lab Med*; 132(3): 384-396 (2008).

Jemal A, Bray F, Center M, Ferlay J, Ward E, Forman D. global cancer statistics. *CA: a cancer journal for clinicians*; 61(2): 69-90 (2011).

Johann Bergholz et Zhi-XiongXiao. Role of p63 in Development, Tumorigenesis and Cancer Progression. *Cancer Microenvironment*; 5: 311-322 (2012).

Joobeur S, Mribah H, Saad A Ben et al. Adénocarcinome pulmonaire primitif : expérience d'un centre hospitalier tunisien. *Pan Afr Med J*; 21: 1-6 (2015).

Kitamura H, Yazawa T, Sato H et al. Small cell lung cancer: significance of RB alterations and TTF-1 expression in its carcinogenesis, phenotype, and biology. *Endocr Pathol* ; 20 : 101-7 (2009).

Kwas H, Guerhazi E, Zendah I et al. Aspects épidémiologiques, cliniques et évolutifs des cancers bronchiques primitifs localement avancés ou métastatiques. *Rev Mal Resp*; 33: A89-A90 (2016).

Kwei KA, Kim YH, Girard L et al. Genomic profiling identifies TTF1 as a lineage-specific oncogene amplified in lung cancer. *Oncogene*; 27: 3635-40 (2008).

Références bibliographiques

Lantuejoul S. classification histomoléculaire des cancers pulmonaires : quoi de neuf en 2017 ? WHO classification of the lung tumors: What is news in 2017? *Rev Malad Resp Actua*; 9: 106-115(2017).

Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, Sugawara S, Oizumi S, Isobe H, Gemma A, Harada M, Yoshizawa H, Kinoshita I et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med*; 362: 2380-2388 (2010).

Mao L, Lee JS, Kurie JM, Fan YH, Lipman SM, Lee JJ, Ro JY, Broxson A, Yu R, Morice RC, Kemp BL, Khuri FR, Walsh GL, Hittelman WN, Hong WK. Clonal genetic alterations in the lungs of current and former smokers. *J Natl Cancer Inst*; 89: 857- 862 (1997).

Martelli-Reid, Christine Asik, Nina Baluja, Peter Ellis, David Dawe, HelaineGuther, Susan Hanes, Barbara Jackson, Raymond Jang, Michael Johnston, Natasha Leighl, Hailee Morrison, Christina Sit, Vicki Sorrenti, Anand Swaminath, Yee Ung, Sunil Verma, Paul Wheatley-Price, Magdalene Winterhoff, Joanne Yu.©Cancer pulmonaire Canada (2013).

Mazieres J et Dansin E. Efficacy and tolerance of bevacizumab in non-small cell lung cancer: preliminary report. *Rev PneumolClin*; 64: 166-172 (2008b).

Mazieres J, Rouquette I, Brouchet L. Lung cancer in women and pregnancy: towards a hormonal origin? *Rev Mal Respir*; 24: 983-997 (2007a).

McWilliams A, Mayo J, MacDonald S, leRiche JC, Palcic B, Szabo E, Lam S. Lung cancer screening: a different paradigm. *Am J Respir Crit Care Med*; 168:1167-73 (2003).

Mechatti. Etude épidémiologique du cancer broncho-pulmonaire dans l'Est algérien. Mémoire de Master soutenu à l'université des Frères Mentouri Constantine faculté des sciences de la nature et de la vie, Constantine (2015).

Melamed MR et Zaman MB. Pathogenesis of epidermoid carcinoma of lung. In: Shimostao Y; Melamed MR; Nettesheim P, eds. Morphogenesis of lung cancer, vol 1. Boca Raton, FL: CRC Press; 37- 64(1982).

Monge M. Cancer du poumon. *Cancérologie et Biologie*. Elsevier Masson SAS; 14 : 283-298 (2006).

Références bibliographiques

Moreau D. Etude de nouvelles cibles moléculaires de cancer broncho-pulmonaire non à petites cellules pharmaco modulées par des substances originales naturelles etsynthétiques. Thèse de doctorat. Université de Nantes, Faculté de pharmacie. 321p (2006).

Mukhopadhyay S et Katzenstein AL. Comparison of monoclonal napsin A, polyclonal napsin A, and TTF-1 for determining lung origin in metastatic adenocarcinomas. *Am J Clin Pathol*; 138(5): 703-711 (2012).

Nasiell M, Auer G, Kato H. Cytological studies in man and animals on the development of bronchogenic carcinoma. In: Mc Dowell EM. Ed. Lung carcinoma. Edinburgh: Churchill Livingstone; 207- 242 (1987).

Ndiaye EM, Touré NO, Thiam K, MF. Diatta Cissé, A. Difficultés diagnostiques et de prise en charge des cancers broncho-pulmonaires primitifs (CBPP) dans le service de pneumologie du CHNU de Fann. *Rev Malad Resp, Supplement January*; 32: A92 (2015).

Oliveira AM, Tazelaar HD, Myers JL, et al. Thyroid transcription factor-1 distinguishes metastatic pulmonary from well-differentiated neuroendocrine tumors of other sites. *Am J Surg Pathol*; 25: 815-9 (2001).

Ordonez NG. Thyroid transcription factor-1 is a marker of lung and thyroid carcinomas. *Adv Anat Pathol*; 7: 123-7 (2000).

Ouarssani A. Délai de prise en charge diagnostique et thérapeutique du cancer broncho pulmonaire. Thèse Doctorat Médecine, Fes; n°92(2016).

Pal SK, Figlin RA, Reckamp K. Targeted Therapies for Non-Small Cell Lung Cancer: An Evolving Landscape. *Mol Cancer Ther* (2010).

Pelosi G, Barbareschi M, Cavazza A, Graziano P, Rossi G, Papotti M. Large cell carcinoma of the lung: a tumor in search of an author. A clinically oriented critical reappraisal. *Lung Cancer*; 87(3): 226-231 (2015a).

Pelosi G, Fabbri A, Bianchi F et al. DeltaNp63 (p40) and thyroid transcription factor-1 immuno-reactivity on small biopsies or cellblocks for typing non-small cell lung cancer: a novel two-hit, sparing-material approach. *J Thorac Oncol*; 7(2): 281-290 (2012).

Références bibliographiques

Pelosi G, Fabbri A, Papotti M et al. Dissecting Pulmonary Large-Cell Carcinoma by Targeted Next Generation Sequencing of Several Cancer Genes Pushes Genotypic-Phenotypic Correlations to Emerge. *J Thorac Oncol*; 10(11): 1560-1569 (2015b).

Pelosi G, Rossi G, Cavazza A et al. DeltaNp63 (p40) distribution inside lung cancer: a driver biomarker approach to tumor characterization. *Int J SurgPathol*; 21(3): 229-239 (2013).

Pelosi G, Scarpa Aldo, Forest Fabien, Sonzogni Angelica. The impact of immunohistochemistry on the classification of lung tumors, *Exp Rev of Resp Med*; 10:10, 1105-1121 (2016).

Quoix E, Lemarié.E. Epidemiological novelties in lung cancer. *Rev Malad resp*; 28: 1048-1058 (2011).

Rekhtman N, Paik PK, Arcila ME, Tafe LJ, Oxnard GR, Moreira et al. Clarifying the spectrum of driver oncogene mutations in biomarker-verified squamous carcinoma of lung: lack of EGFR/KRAS and presence of PIK3CA/AKT1 mutations. *Clin Cancer Res*; 18: 1167-76 (2012).

Renaud S, Falcoz PE, Santelmo N, Massard G. Management of massive hemoptysis. *Rev pneumo cliniq*; 68: 123-130 (2012).

Rédaction Médiste. Cancer et métastase: la difference entre cancer primitif et secondaire du poumon (2017). (www.medisite.fr/cancer-du-poumon-cancer-et-metastase-la-difference-entre-cancer-primitif-et-secondaire-du-poumon). Consulter le 2/3/2019.

Righi L, Graziano P, Fornari A et al. Immunohistochemical subtyping of non small cell lung cancer not otherwise specified in fine-needle aspiration cytology: a retrospective study of 103 cases with surgical correlation. *Cancer*; 117(15): 3416-3423 (2011).

Rossi G, Pelosi G, Graziano P, Barbareschi M, Papotti M. A reevaluation of the clinical significance of histological subtyping of non-small-cell lung carcinoma: diagnostic algorithms in the era of personalized treatments. *Int J SurgPathol*; 17(3): 206-218 (2009).

Sanchez ML, Couraud S, Souquet P-J. Updated data on epidemiology of lung cancer. *Rev malad resp*; 7: 285-289 (2015).

Références bibliographiques

Sánchez JCE, José AA, Rosario M. Tumor, node and metastasis classification of lung cancer M1a versus M1b Analysis of M descriptors and other prognostic factors. *Lung Cancer*; 84: 182–189 (2014).

Schweitzer-Daly N, Cabarrot E, Guimbaud R, Moyal E. Cancer broncho-pulmonaire. *Cancérol cliniq.* 2ème Ed Masson. 173-178 (2003).

Senan S et Lagerwaard FJ. The role of radiotherapy in non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 16 Suppl; 2: 223-228 (2005).

Sozzi G, Miozzo M, Donghi R, Pilotti S, Cariani CT, Pastorino U, Della Porta G, Pierotti MA. Deletions of 17p and p53 mutations in preneoplastic lesions of the lung. *Cancer Res*; 52: 6079- 6082 (1992).

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

Terry J, Leung S, Laskin J, Leslie KO, Gown AM, Ionescu DN. Optimal immunohistochemical markers for distinguishing lung adenocarcinomas from squamous cell carcinomas in small tumor samples. *Am J Surg Pathol*; 34: 1805-11(2010).

Thiberville L, Paris C. Épidémiologie et facteurs de risque des cancers bronchiques primitifs. *Epidemiology and risk factors of primary lung cancer.* EMC - Pneumologie; 1: 7-18 (2004).

Thiberville L, Payne P, Vielkinds J, LeRiche J, Horsman D, Nouvet G, Palcic B, Lam S. Evidence of cumulative gene losses with progression of premalignant epithelial lesions to carcinoma of the bronchus. *Cancer Res*; 55: 5133-9 (1995).

Travis W, Brambilla E, Burke A, Marx A, Nicholson A. WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart (eds. Bosman, F, Jaffe, E, Lakhani, S, Ohgaki, H) IARC Press, Lyon, (2015a).

Travis WD, Brambilla E, Burke AP, Marx A, Nicholson AG. WHO classification of tumours of the lung, pleura, thymus and heart. Lyon: International Agency for Research on Cancer; (2015b).

Références bibliographiques

Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG et al. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances since the 2004 Classification. *J Thorac Oncol*; 10(9): 1243-1260 (2015c).

Vignot S, Tassen G, Solub D, Wilkowsky C. thérapie moléculaire ciblées. *Traité de medecine Akos*; 10 (4): 1-7 (2015).

Vogelstein B et Kinzler KW. The multistep nature of cancer. *Trends Genet*; 9: 138-141(1993).

Wagner KJ. Surgical management of non-small cell lung cancer. *Semin Oncol Nurs*; 24: 41-48 (2008).

Warth A, Muley , Herpel E, Meister M, Herth FJ, Schirmacher P et al. Large-scale comparative analyses of immunomarkers for diagnostic subtyping of non-small-cell lung cancer biopsies. *Histopathology*; 61(6): 1017-25(2012).

Watanabe Y. TNM classification for lung cancer. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*; 9: 343-350(2003).

Wissler MP. Bilan de l'analyse du statut mutationnel EGFR de 1 patients atteints d'adénocarcinomes pulmonaires pris en charge par la plateforme d'oncologie moléculaire du CHU CAV de Nancy. Université de Lorraine. Thèse de doctorat. Université de Nancy; 113p (2012).

Wistuba II, Behrens C, Virmani AK, Mele G, Milchgrub S, Girard L, Fondon JW 3rd, Garner HR, McKay B, Latif F, Lerman MI, Lam S, Gazdar AF, Minna JD. High-resolution chromosome 3p allelotyping of human cancer and preneoplastic/preinvasive bronchial epithelium reveals multiple, discontinuous sites of 3p allele loss and three regions of frequent breakpoints. *Cancer Res*; 60: 1949-1960 (2000a).

Wistuba II, Berry J, Behrens C, Maitra A, Shivapurkar N, Milchgrub S, Mackay B, Minna JD, Gazdar AF. Molecular changes in the bronchial epithelium of patients with small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*; 6: 2604-10 (2000b).

Annexes I

N° :	Nom et prénom :
Age :	Sexe : <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> M
Maladies associées :	
Profession :	
La durée de la profession : de _____ à _____	
Exposition aux polluants : <input type="checkbox"/> amiante, <input type="checkbox"/> goudron, <input type="checkbox"/> pesticides <input type="checkbox"/> arsenic <input type="checkbox"/> métaux	
<input type="checkbox"/> autres :	
Habitat (Rural ou urbain):	
Antécédents familiaux : <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	lien de parenté :
Tabagisme : <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	Age de début :
Tabagisme passif:	
Type histologique :	
A petites cellules <input type="checkbox"/>	
Non à petites cellules :	
Carcinome épidermoïde <input type="checkbox"/>	
Adénocarcinome <input type="checkbox"/>	
À petites cellules <input type="checkbox"/>	
À grandes cellules <input type="checkbox"/>	
Autre (précisé ou non préciser) :	
Stade du Cancer :	
Cancer métastatique :	Type :

Figure 25 : Fiche d'exploitation

Appareillages



Figure 26. Automate d'immunohistochimie (VENTANA BenchMark)



Figure 27. Bain marie (nuve)



Figure 28. Appareil de la déshydratation (Leica).



Figure 29. Microtome (Leica).



Figure 30. Appareil de l'inclusion (Leica).

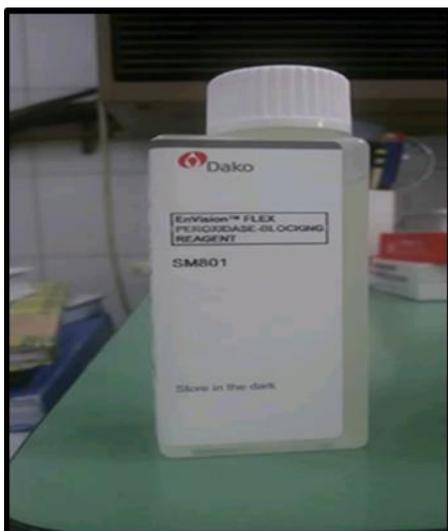


Figure 35. H₂O₂



Figure 36. Amplifiant (HRP).



Figure 37. kit DAB (chromogène + tampon)

Annexes II

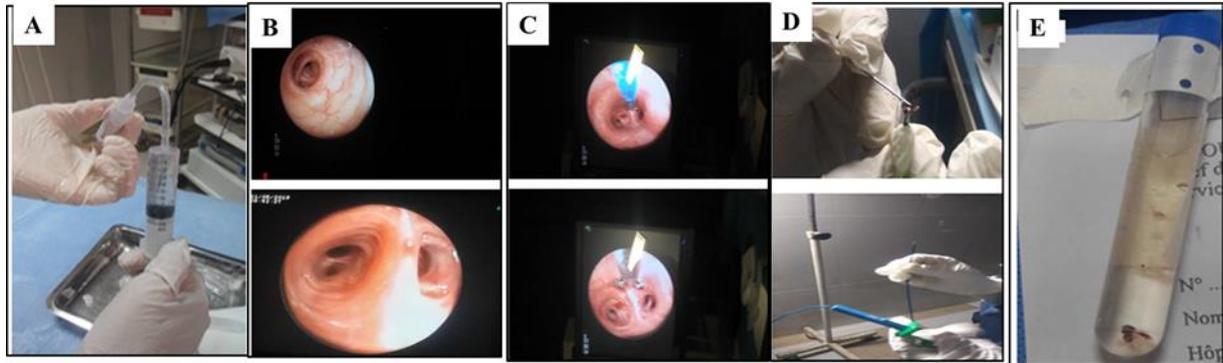
Etapes d'endoscopie bronchique

Figure 38. Etapes d'endoscopie bronchique. A, préparation d'anesthésie ; B, vue bronchoscopique des bronches et bronchioles ; C, introduction d'une pince à biopsie ; D, récupération de la biopsie à l'aide d'une aiguille ; E, biopsie bronchique fixée au formol à 4%.

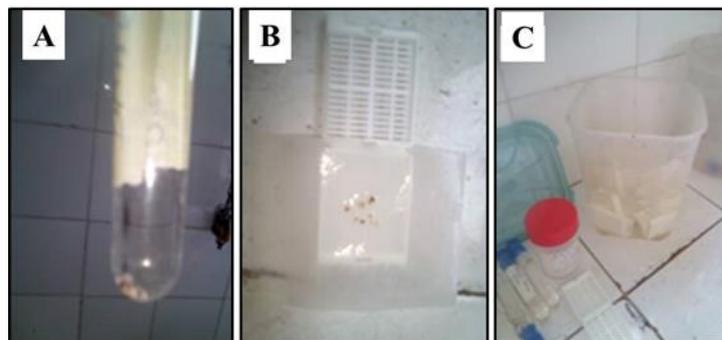
Fixation

Figure 39. 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

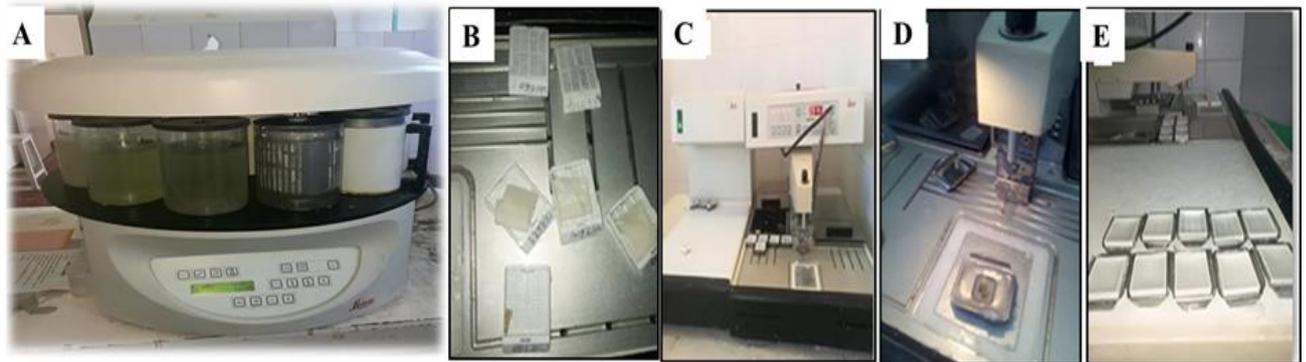


Figure 40. Étapes de déshydratation, inclusion et confections de blocs de paraffine. A, automate LEICA de déshydratation et d'inclusion. B, biopsies déshydratées et prêtent pour l'inclusion. C et D, confection des blocs de paraffine à l'aide de l'automate LEICA. D, refroidissement des blocs dans la zone froide de l'appareil LEICA.

Coupes histologiques et coloration H-E



Figure 41. Étapes de coupes histologiques. A, biopsies bronchiques incluses au bloc de paraffine. B, un microtome (LEICA). C, coupes histologiques de 3 µm (ruban). D, étalement des coupes histologiques sur lames.

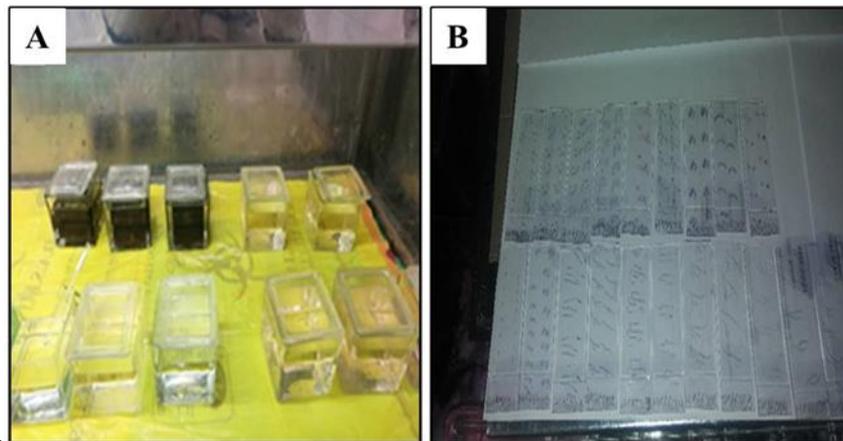


Figure 42. Etapes de coloration hématoxyline- éosine (H-E). A, batterie de coloration H-E. B, lames prêtent pour l'observation au microscope.

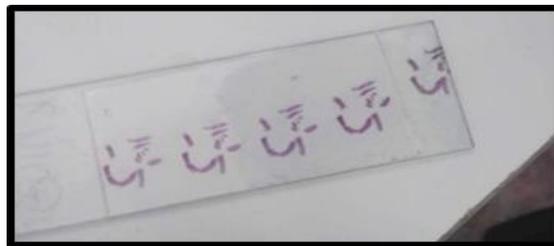


Figure 43. Coupe histologique d'une biopsie transparital (carotte tissulaire).



Figure 44. Coupe histologique d'une biopsie bronchique

Etude immunohistochimique (IHC)

Déparaffinage

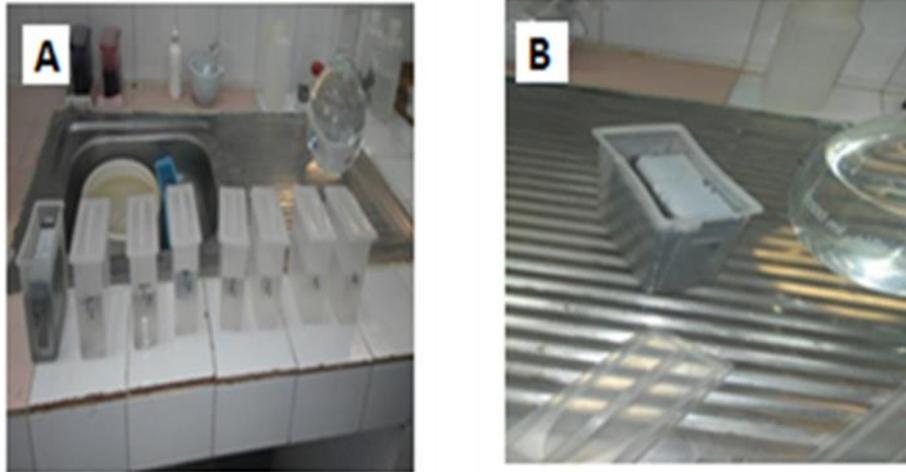


Figure 45. L'étape de déparaffinage. A : 8 bacs de déparaffinage (4 bacs du toluène et 4 bacs d'alcool) B : bain de l'eau distillé (rinçage des tissus).

Démasquage



Figure 46. Les étapes de démasquage. C : 3 bacs 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 47. l'étape 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 G : 3 bains du tampon de lavage (TBS) (rinçage des tissus).

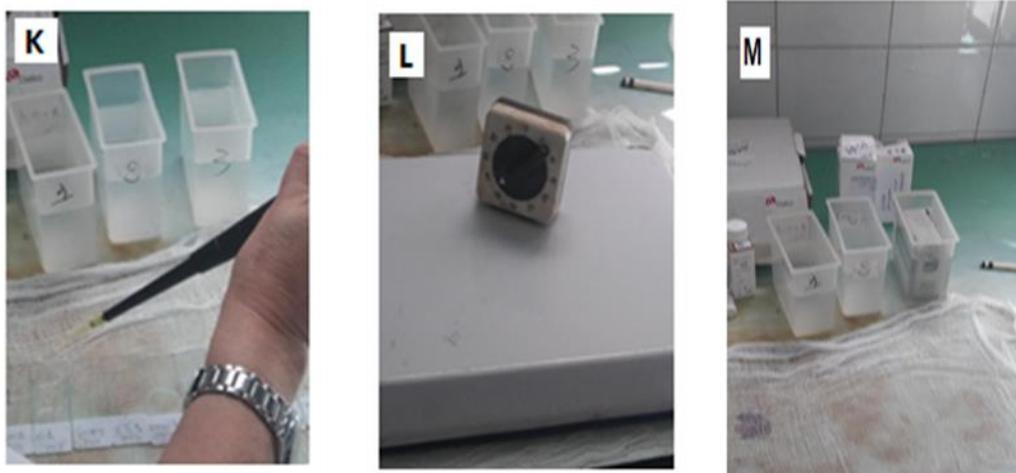
Anticorps primaire

Figure 48. Incubation de prélèvement avec l'anti corps primaire. K : l'ajout d'anti corps primaire sur les tissus (TTF1/P63) L : l'incubation du complexe AG-AC dans le noir M : 3 bains du tampon de lavage (TBS).

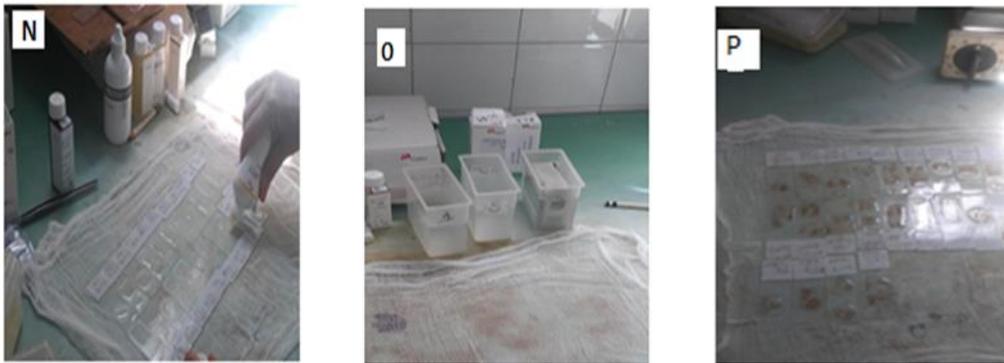


Figure 49. Révélation du complexe AC-AG par le chromogène DAB. N : l'ajout d'anticorps secondaire couplé à l'HRP, O : 3 bains du tampon de lavage (TBS), P : l'ajout de chromogène (DAB) (résultat positive : couleur brune : P63+, TTF1+).

Contre coloration



Figure 50. la contre coloration des prélèvements et l'obtention d'une lame d'immunohistochimie R : bain de l'hématéine, S : lame d'immunohistochimie

Etude microscopique

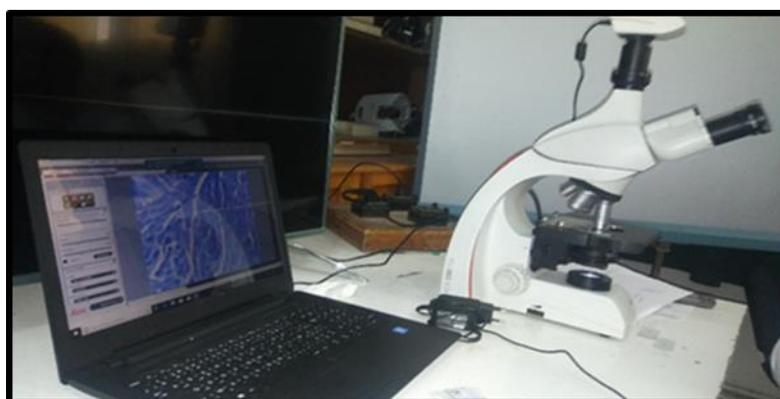


Figure 51. l'interprétation des lames à l'aide d'un microscope électronique

Annexe III

Tableau 16 : Répartition des patients atteints de CBP selon les pathologies associées. HTA, Hypertension artérielle ; CE, carcinome épidermoïde ; BPCO, broncho-pneumopathie chronique obstructive ; DT, diabète ; HP, hypertrophie de la prostate ; HBP, hypertrophie bénigne de la prostate.

Maladies associées / patients	Tuberculose*/ Tuberculose extra-pulmonaire•	Arthrose	HTA	CE	BPCO	DT	HP'/ HBP''
1^{er} patient	X•						
2^{ème} patient						X	
3^{ème} patient			X				
4^{ème} patient			X				
5^{ème} patient			X				
6^{ème} patient						X	
7^{ème} patient							X'
8^{ème} patient		X					
9^{ème} patient				X			
10^{ème} patient					X		X''
11^{ème} patient	X*					X	
12^{ème} patient			X				X'
13^{ème} patient			X				X''
14^{ème} patient			X			X	

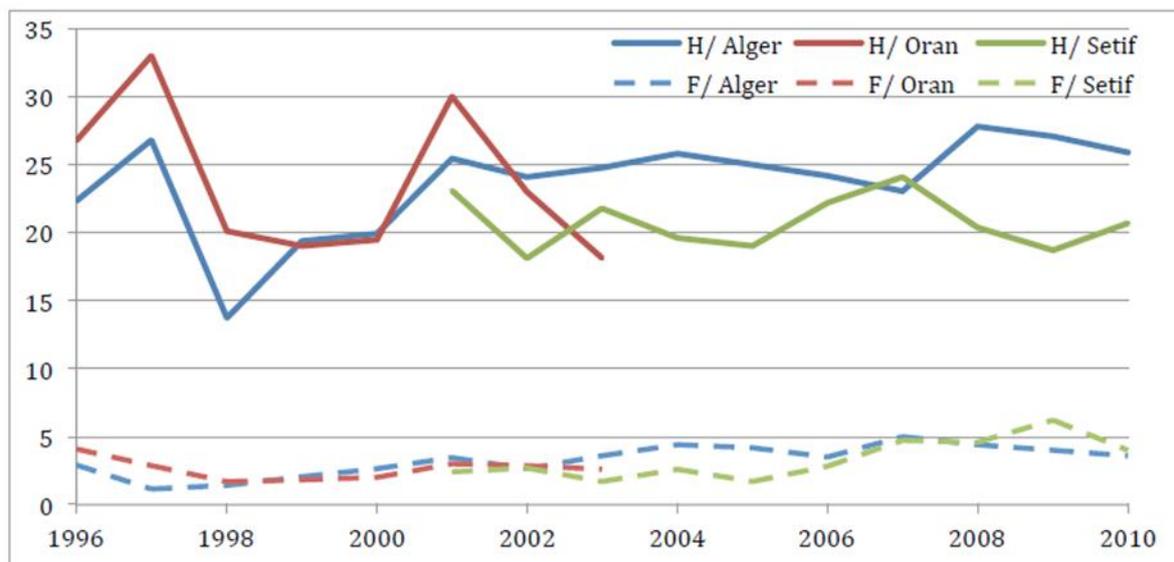


Figure 52. Incidences standardisées du CBP à Alger et Oran de 1996 à 2010 en fonction du sexe (**Manuel de Prise en charge Du Cancer Broncho-Pulmonaire, 2016**).

Signes cliniques du cancer broncho-pulmonaire (CBP)

Les personnes atteintes d'un cancer du poumon ne présentent aucun symptôme ou seulement de vagues symptômes avant que la maladie ait progressé car le poumon est dépourvu de terminaisons nerveuses, une tumeur pulmonaire localisée n'est pas forcément douloureuse. Par conséquent, dans la majorité des cas, la maladie a déjà atteint un stade avancé au moment du diagnostic, Les douleurs commencent à apparaître quand la tumeur atteint certains tissus proches comme la plèvre, appuie sur des structures nerveuses avoisinantes ou s'étend à d'autres organes (métastases cérébrales, osseuses, hépatiques...) (**Martelli-Reid et al., 2013**).

Pour favoriser un diagnostic précoce et ainsi améliorer le pronostic vital de la maladie, il est recommandé de consulter en cas de :

-la toux est le signe le plus fréquent et ceci est dû à la stimulation des récepteurs endo-bronchiques par des phénomènes mécaniques ou inflammatoires (**Monge, 2006**)

-l'hémoptysie (crachats sanguinolents) se définit par l'extériorisation du sang d'origine sous-glottique (arbre trachéo-bronchique ou parenchyme pulmonaire) par la bouche, le plus souvent lors d'un effort de toux ; l'expectoration hémoptoïque s'observe dans moins de 10% des cas (**Renaud et al., 2012**).

-la dyspnée (gêne respiratoire) est un symptôme extrêmement fréquent dans le CBP et se définit comme la sensation d'une respiration inconfortable, pénible et laborieuse (**Bonnichon et al., 2008**),

-les douleurs thoraciques peuvent témoigner d'un envahissement pariétal ou d'une pleurésie satellite de la tumeur (**Schveitzer et al., 2003**)

-les syndromes paranéoplasiques : ils sont fréquents (10 à 20 % des cas) et évocateurs de cancers broncho-pulmonaire

-l'expectoration purulente avec ou sans fièvre (**Monge, 2006**)

Evolution histologique vers la cancérogenèse

L'évolution vers la cancérogenèse se traduit par des anomalies morphologiques visibles de l'épithélium respiratoire. L'épithélium normal évolue ainsi par des lésions paranéoplasiques de sévérité croissante avant d'éventuellement aboutir au carcinome invasif (**Brambilla, 2002**).

Différentes étapes précancéreuses sont distinguées, selon l'intensité des anomalies et le niveau de l'épithélium touché :

-La dysplasie légère est marquée par des anomalies discrètes (hypercellularité et pléomorphisme) (**Figure 53C**).

-La dysplasie est dite modérée lorsque les cellules anormales s'étendent sur les deux tiers inférieurs de l'épithélium, que les anomalies s'intensifient (hypercellularité, pléomorphisme moyen et anisocytose) (**Figure 53D**).

- La dysplasie sévère, les cellules anormales recouvrent tout l'épithélium et présentent de nombreuses anomalies (perte de maturation, anisocytose et pléomorphisme important). Les noyaux sont de taille irrégulière, hyperchromatiques, avec quelques mitoses (**Figure 53E**).

-La dernière étape avant le carcinome invasif est le carcinome in situ, stade auquel la taille des cellules est augmentée et le pléomorphisme très important, ou les noyaux présentent une chromatine irrégulière et ont perdu leur orientation, la membrane basale est respectée (**Figure 53F**).

L'évolution du tissu normal vers le carcinome in situ est associée à une augmentation de l'épaisseur du tissu (**Brambilla, 2002**).

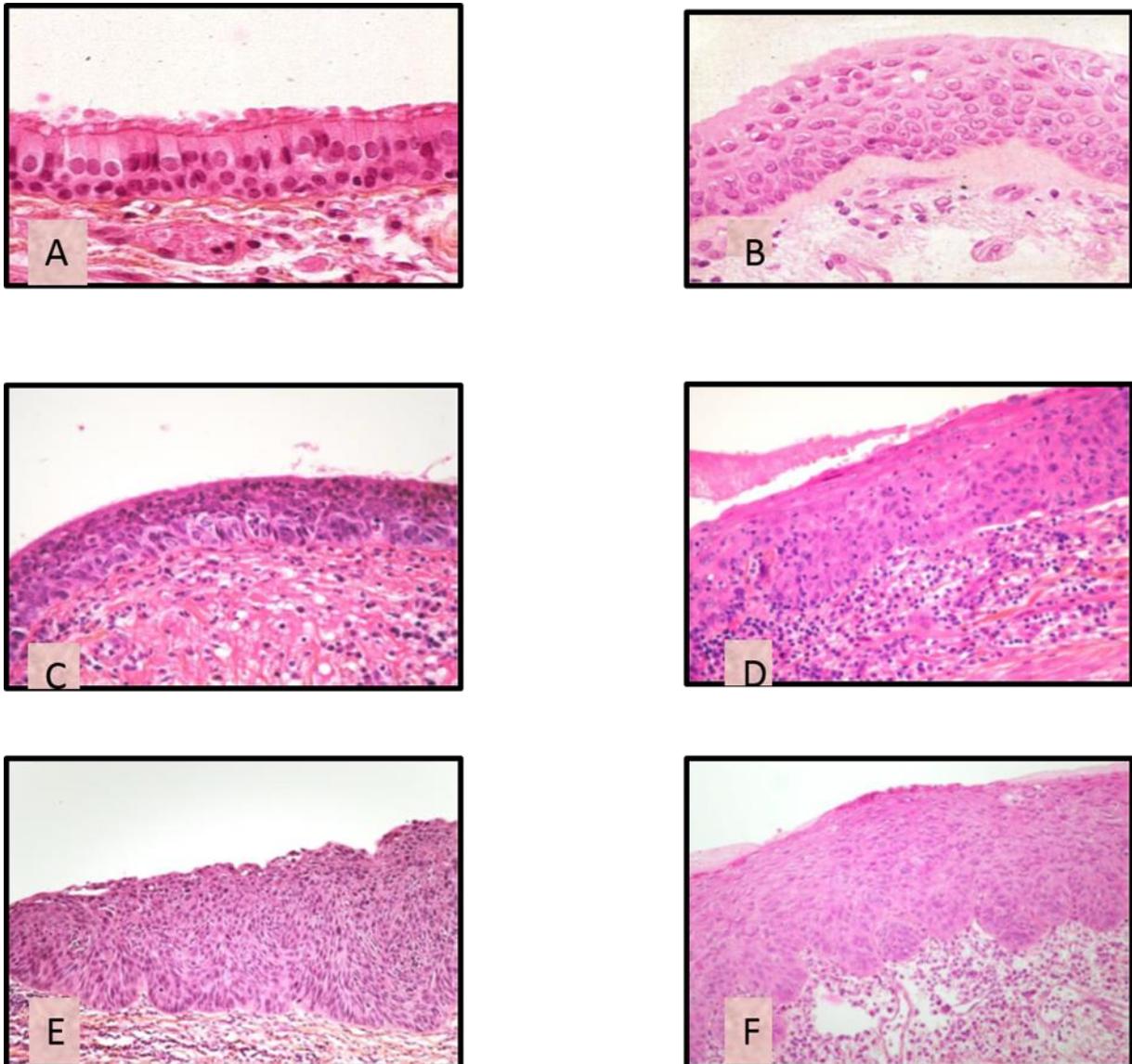


Figure 53. Histologie des lésions préneoplasiques bronchiques (Travis et al., 2004). A : épithélium bronchique normal. B : métaplasie malpighienne immature. C : dysplasie légère. D : dysplasie modérée. E : dysplasie sévère. F : carcinome in situ.

Cancer primitifs et secondaire

Le cancer primitif du poumon : une tumeur pulmonaire est qualifiée de "primitive" lorsqu'elle se développe initialement au sein des cellules du poumon. La plupart de ces cancers affectent les cellules bronchiques et se répartissent dans deux grandes catégories : les

cancers bronchiques non à petites cellules (75 % à 80 %) et les cancers bronchiques à petites cellules (20 % à 25 %).

Cette pathologie est d'autant plus agressive qu'elle se propage relativement facilement à d'autres organes. En outre, les poumons constituent également une localisation métastatique fréquente pour de nombreux autres cancers.

Le cancer secondaire du poumon : les poumons représentent des organes souvent concernés par la dissémination de cellules cancéreuses issues d'un autre cancer, Contrairement au cancer primitif qui prend naissance dans le poumon, les métastases pulmonaires surviennent lorsqu'un cancer issu d'un autre organe se propage jusqu'aux poumons. Dans le langage médical, on parle de cancer secondaire en présence de métastases pulmonaires. Ce potentiel métastatique s'explique par le caractère central des poumons (**Rédaction Médiste, 2017**).