

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

Université de BLIDA 1

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



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master

Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème :

*Apport de l'expression immunohistochimique de
P63 et P40 au diagnostic des cancers pulmonaires
de type épidermoïde*

Présenté par : FEKHAR Yousra

Soutenu le 26.09.2020

Devant le jury composé de :

<i>M^{me} BENHOUNA I.S.</i>	<i>Maitre de Conférence B.</i>	<i>UB1</i>	<i>Président</i>
<i>M^r BENYAHIA N.</i>	<i>Maitre de Conférence A.</i>	<i>UB1</i>	<i>Examineur</i>
<i>M^{me} CHALAL N.</i>	<i>Maitre de Conférences B.</i>	<i>UB1</i>	<i>Promotrice</i>
<i>M^{me} BEN DIMERAD T.</i>	<i>Maitre-Assistant A.</i>	<i>CHU Béni Messous</i>	<i>Co-promotrice</i>

Promotion : 2019/2020

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, louange à « Allah » le tout généreux qui nous a guidés sur le droit chemin tout au long du travail et nous a inspiré. Sans sa miséricorde, ce travail n'aura pas abouti.

Je remercie ma mère, frère, sœur, mes amies et tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à réaliser ce travail.

*Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer tout notre reconnaissance et remerciements à ma promotrice **M^{me} CHALAL N**, Maitre de Conférence B à l'université de Blida-1 qui a fait preuve d'une grande patience, générosité, ses conseils et orientations.*

*Nos plus vifs remerciements vont aussi à **M^{me} BENHOUNA I.S**, Maitre-Assistant B à l'université de Blida - 1, pour bien avoir présidé ce jury.*

*Nous remercions également **M^r BENYAHIA N**, Maitre-Assistant A à l'université de Blida- 1, pour avoir accepté de juger notre travail.*

*Notre profond respect et remerciements s'adresse aux membres de service d'anatomopathologie, en particulier **Pr. SLIMANI**, qui nous a bien accueilli dans son service et **M^{me} BEN DIMERAD T**, Maitre-Assistant A aux niveaux de CHU béni- massous qui a bien voulu nous aider et orient. J'aimerais aussi la remercier pour l'autonomie qu'elle m'a accordée, et ses précieux conseils qui m'ont permis de mener à bien ce travail.*

DEDICACES

A ma mère, Tobbale Zobida,

Pour ces longues années de soutien inconditionnel et celles qui viendront encore, pour votre confiance, pour vos sacrifices, j'espère qu'en ce jour vous serez fiers de moi. Puisse Dieu vous procurer santé, bonheur et prospérité.

A mon frère et ma sœur, Amine et Hadjer,

Pour toutes nos bêtises, pour tous nos fous rires, pour notre complicité, pour vos encouragements, je vous souhaite une vie pleine de réussite et de bonheur.

A l'épouse de mon frère, Rachda Djallatou,

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon attachement et ma grande considération pour votre encouragement, votre aide et soutien qu'il m'a aidée pour finaliser ce travail.

A mes amis, Zohor, Meriem, Marwa, Yousra et Nawel,

Je vous remercie infiniment pour tout votre soutien, pour les moments de joie comme de peine partagés. Je vous dédie ce travail en espérant avoir été à la hauteur.

RESUME

Le cancer du poumon est le troisième cancer le plus répandu dans le monde. La distinction du carcinome épidermoïde pulmonaire (SCC) est très importante dans la gestion du traitement. Des études récentes ont montré que le P40 est hautement spécifique pour les cellules squameuses et qu'il est mieux que le P63 pour le diagnostic du SCC.

L'objectif de cette étude était de décrire les caractéristiques cliniques et épidémiologiques des patients atteints de SCC et d'évaluer l'utilisation du marquage immunohistochimique de P40 dans le diagnostic du SCC et son potentiel pour remplacer l'anticorps P63 actuel comme le meilleur marqueur squameux immunohistochimique.

Afin d'atteindre cet objectif, des études rétrospective et prospective ont été effectuées sur des patients atteints de SCC. L'étude rétrospective a ciblé les patients atteints de cancer du poumon non métastatique confirmées histologiquement, durant la période comprise entre 2016 et 2019. D'autre part, l'analyse anatomopathologique a été faite prospectivement sur dix cas de cancer pulmonaire, entre décembre 2019 et août 2020. L'expression de P63 et P40 a été évaluée par la technique d'immunohistochimie.

Au total 135 cas de carcinome épidermoïde ont été recensés. Les résultats de l'étude rétrospective révèlent une prédominance masculine chez toutes les catégories d'âge avec une fréquence maximale chez les personnes âgées plus de 60 ans (33.3 %). L'âge moyen des patients était de 65.68 ± 11.81 ans. La plupart des cas étaient asymptomatiques (63 %). La manifestation clinique la plus fréquente était la toux notée chez 30,3 % des cas. La localisation tumorale la plus répandue était au niveau du poumon droit caractérisant 57 % des cas. Les SCC moyennement différenciés et le sous type « kératinisant » étaient les plus fréquents chez respectivement, 37 % et 34.8 % des cas. 19.3 % de nos patients étaient des fumeurs. Les résultats de l'immunohistochimie réalisée sur 10 cas ont montré un marquage positif chez 100 % des cas au moyen de P40, tandis qu'un marquage positif a été noté chez 80 % des cas, via le P63.

En conclusion, les résultats obtenus confirment d'une part la fiabilité du P40 dans la distinction du SCC pulmonaire par rapport au P63 et d'autre part, démontrent son implication dans le processus oncogénique du SCC.

Mots- clés : carcinome épidermoïde pulmonaire, immunohistochimie, diagnostic, marqueur, P40, P63.

ABSTRACT

Lung cancer is the third most common cancer in the world. The distinction of pulmonary squamous cell carcinoma (SCC) is very important in the management of treatment. Recent studies have shown that P40 is highly specific for squamous cells and is better than P63 for diagnosing SCC.

The objective of this study was to describe the clinical and epidemiological characteristics of patients with SCC and to assess the use of immunohistochemical staining of P40 in the diagnosis of SCC and its potential to replace the current P63 antibody as the best squamous immunohistochemical marker.

To achieve this goal, retrospective and prospective studies have been performed in patients diagnosed with SCC. The retrospective study targeted patients with histologically confirmed non-metastatic lung cancer during the period between 2016 and 2019. On the other hand, the pathological analysis was done prospectively on ten cases of lung cancer, between December 2019 and August 2020. The expression of P63 and P40 was evaluated using the technique of immunohistochemistry.

A total of 135 cases of squamous cell carcinoma have been identified. The results of the retrospective study reveal a male predominance in all age categories with a maximum frequency in patients over 60 years old (33.3%). The mean age of the patients was 65.68 ± 11.81 years. Most of the cases were asymptomatic (63%). The most frequent clinical manifestation was cough noted in 30.3% of cases. The most widespread tumor location was in the right lung, characterizing 57% of cases. Moderately differentiated SCCs and the “keratinizing” subtype were the most frequent in 37% and 34.8% of cases, respectively. 19.3% of our patients were smokers. The results of immunohistochemistry performed on 10 cases showed positive labeling in 100% of cases using P40, while positive labeling was noted in 80% of cases using P63.

In conclusion, the results obtained confirm on the one hand the reliability of P40 in distinguishing pulmonary SCC from P63 and also, demonstrate its involvement in the oncogenic process of SCC.

Keywords: lung squamous cell carcinoma, immunohistochemistry, diagnosis, marker, P40, P63.

الملخص

سرطان الرئة هو ثالث أكثر أنواع السرطانات شيوعاً في العالم. يعتبر تمييز سرطان الخلايا الحرشفية الرئوي (SCC) مهماً جداً في إدارة العلاج. أظهرت الدراسات الحديثة أن P40 خاص جداً بالخلايا الحرشفية وهو أفضل من P63 لتشخيص SCC.

كان الهدف من هذه الدراسة هو وصف الخصائص السريرية والوبائية للمرضى الذين يعانون من SCC وتقييم استخدام التلوين المناعي الكيميائي لـ P40 في تشخيص SCC وإمكانية استبدال الجسم المضاد P63 الحالي مثل أفضل واسم حرشفي مناعي.

تم إجراء الدراسات استرجاعية وبائية وأخرى استشرافية على مرضى SCC. يتم الكشف عن التعبير عن الجزيئين بواسطة تقنية الكيمياء المناعية. تم استرداد مائة وخمسة وثلاثين حالة من البارافين مثبتة في الفورمالين والتي تم تشخيصها سابقاً على أنها SCC (العدد = 135) من يناير 2016 إلى ديسمبر 2019. تمت مقارنة نتائج التفاعل المناعي للخلايا السرطانية مع الأجسام المضادة للـ P40 و P63 في عشر حالات من SCC في الرئة.

تم تحديد 135 حالة من حالات سرطان الخلايا الحرشفية. تظهر نتائج الدراسة الاسترجاعية غلبة للذكور في جميع الفئات العمرية مع تكرار الحد الأقصى في الأشخاص الذين تزيد أعمارهم عن 60 عاماً (33.3%). كان متوسط عمر المرضى 65.68 ± 11.81 سنة. كانت معظم الحالات بدون أعراض (63%). كانت المظاهر السريرية الأكثر شيوعاً هي السعال الذي لوحظ في 30.3% من الحالات. كان مكان الورم الأكثر انتشاراً في الرئة اليمنى، ويميز 57% من الحالات. كانت الخلايا السرطانية المتباينة بشكل معتدل والنوع الفرعي "الكيراتيني" هي الأكثر شيوعاً في 37% و 8.34% من الحالات على التوالي. 19.3% من مرضانا كانوا مدخنين. أظهرت نتائج الكيمياء المناعية التي أجريت على 10 حالات وسم إيجابي في 100% من الحالات باستخدام P40، بينما لوحظ وضع العلامات الإيجابية في 80% من الحالات باستخدام P63.

في الختام، تؤكد النتائج التي تم الحصول عليها من ناحية موثوقية P40 في تمييز SCC الرئوي عن P63، ومن ناحية أخرى، توضح مشاركتها في عملية تشكل الورم السرطاني نوع SCC.

الكلمات المفتاحية: سرطان الخلايا الحرشفية في الرئة، الكيمياء المناعية، التشخيص، علامة، P40، P63.

Table des matières

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE	3
I. 1. Rappel anatomique, histologique et physiologique sur les poumons	4
I. 1. 1. Anatomie des poumons	4
I. 1. 2. Histologie des poumons	5
I. 1. 3. Physiologie des poumons.....	7
I. 2. Généralités sur le cancer pulmonaire	7
I. 2. 1. Définition	7
I. 2. 2. Épidémiologie	7
I. 2. 3. Facteurs de risque associés au cancer pulmonaire	8
I. 2. 3. 1. Tabagisme	8
I. 2. 3. 2. Radon	8
I. 2. 3. 3. Expositions professionnelles.....	9
I. 2. 3. 4. Fumée domestique de carburant	9
I. 2. 3. 5. Infections.....	9
I. 2. 3. 6. Maladies inflammatoires.....	9
I. 2. 4. Classification de cancer du poumon	10
I. 2. 5. Variantes histologiques	11
I. 2. 6. Carcinogénèse pulmonaire.....	14
I. 2. 6. 1. Chez les fumeurs	14
I. 2. 6. 2. Chez les non-fumeurs.....	15
I. 2. 7. Diagnostic du cancer pulmonaire.....	16
I. 2. 8. Traitement	17
I. 3. Implication de P63 dans le cancer pulmonaire	17
I. 3. 1. Biomarqueurs des cancers.....	17

I. 3. 2. Classification immunohistochimique du cancer pulmonaire épidermoïde.....	18
I. 3. 3. Description de la P63	19
I. 3. 4. Activités des isoformes de P63	21
I. 3. 5. Rôle de la P63 dans la carcinogénèse pulmonaire	21
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	24
II. 1. Matériel	25
II. 1. 1. Matériel biologique	25
II. 1. 2. Matériel non biologique	25
II. 2. Méthodes	25
II. 2. 1. Etude rétrospective.....	25
II. 2. 2. Etude prospective	26
II. 2. 2. 1. Analyse macroscopique.....	26
II. 2. 2. 2. Analyse histologique	26
II. 2. 2. 3. Etude immunohistochimique.....	28
II. 3. Analyse statistique	30
CHAPITRE III : RESULTATS ET DUSSCUSION.....	31
III. 1. Etude rétrospective.....	32
III. 1. 1. Répartition des patients selon l'année de recrutement.....	32
III. 1. 2. Répartition des cas par sexe	33
III. 1. 3. Répartition des cas par tranche d'âge	34
III. 1. 4. Répartition des patients selon l'âge par sexe	35
III. 1. 5. Répartition des patients selon l'apparition des symptômes	36
III. 1. 6. Répartition des patients selon les manifestations cliniques	37
III. 1. 7. Répartition des patients selon le siège de la tumeur	37
III. 1. 8. Répartition de cas selon l'état de différenciation cellulaire.....	38
III. 1. 9. Répartition des patients selon le sous- type histologique	39

III. 1. 10. Répartition des patients selon le tabagisme	40
III. 2. Etude prospective	40
III. 2. 1. Etude histopathologique.....	40
III. 2. 2. Etude immunohistochimique	42
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	49
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	52
ANNEXES.....	64

Liste des abréviations

ADC	adenocarcinoma.
ADN	acide désoxyribonucléique.
ALK	Anaplastic lymphoma kinase.
ARNm	acide ribonucléique messenger.
ATP	adénosine triphosphate.
BAD	BCL2 Associated Agonist Of Cell Death.
BAX	BCL2 associated X.
CHU	centre hospitalière universitaire.
DAB	3,3-diaminobenzidine.
DBD	DNA binding domain.
E2F	E2 transcription factor.
EGF	Epidermal Growth Factor.
EGFR	Epidermal Growth Factor receptor.
EMT	transition épithéliale-mésenchymateuse.
FOXO3a	Fork-head box O3a.
H&E	hématoxyline et éosine.
HIER	récupération d'épitopes induite par la chaleur.
Hp	Helicobacter pylori.
HPV	humane papillome virus.
Hsp70	70 kilo-dalton heat shock proteins.
IHC	immunohistochimie.
JAK	Janus Kinase.
LCC	Large Cell Carcinoma.

MAPK	mitogen-activated protein kinase.
miR-130b	MicroRNA-130b.
MnSOD	manganese superoxide dismutase.
mPTP	Mitochondrial Permeability Transition Pore.
nAChR	nicotine- achetylcholine receptor.
NF-κB	nuclear factor-kappa B.
NO2	dioxyde d'azote.
NSCLC	non small cell lung cancer.
OD	oligomerisation domain.
P40	protein 40.
P53	protein 53.
P63	protein 63.
P73	protein 73.
PERP	P53 apoptosis Effector Related to PMP-22.
PI3K	Phosphatidylinositol-3-Kinase.
PKB	Protein kinase B.
RAF	Rapidly Accelerated Fibrosarcoma.
RAS	Rat sarcoma.
RISC	RNA-induced silencing complex.
ROS1	ROS proto-oncogene 1.
SAM	motif α stérile.
SCC	squamous cell carcinoma.
SCLC	small cell lung cancer.
SIRT1	sirtuine 1.

SPSS	Statistical Package for Social Sciences.
STAT	Signal Transducer and Activators of Transcription.
TA	trans- activant.
TAD	domaine de transactivation.
TAD2	domaine d'activation de la transcription 2.
TBS-T	tris-buffer saline solution containing tween.
TID	domaine inhibiteur de transcription.
TP63	tumor protein 63.
TRS	Target Retrieval Solution.
TTF1	thyroïde transcription factor 1.
VIH	virus de l'immunodéficience humaine.
WHO	World Health Organization.
β-AR	beta-2 adrenergic receptor.

Liste de figures

Figure 1 : Le système respiratoire	4
Figure 2 : Les voies respiratoires terminales.....	5
Figure 3 : Microphotographie à fort grossissement d'alvéoles normales.....	6
Figure 4 : Carcinome épidermoïde <i>in situ</i>	12
Figure 5 : Carcinome épidermoïde kératinisant.....	12
Figure 6 : Photomicrographie à fort grossissement montrant un carcinome épidermoïde peu différencié.....	13
Figure 7 : Carcinome épidermoïde basaloïde.....	13
Figure 8 : voies de signalisation favorisant la tumeur par la nicotine / nAChR.	15
Figure 9 : Biopsie pulmonaire montrant un carcinome non à petites cellules	18
Figure 10 : Proposition d'arbre décisionnel pour les carcinomes broncho-pulmonaires indifférenciés.....	19
Figure 11 : Représentation schématique des isoformes P63.....	20
Figure 12 : Rôles de P63 dans la formation, la croissance et les métastases tumorales.	23
Figure 13 : Illustration de technique d'immunohistochimie indirect	28
Figure 14 : Répartition de cas selon l'année de recrutement.....	32
Figure 15 : Répartition des cas par sexe.....	33
Figure 16 : Répartition de cas par tranche d'âge.....	34
Figure 17 : Répartition des patients selon l'âge par sexe.....	35
Figure 18 : Répartition des patients selon l'apparition des symptômes.	36
Figure 19 : Répartition des patients selon les manifestations cliniques.....	37
Figure 20 : Répartition des patients selon le siège de la tumeur.....	38
Figure 21 : Répartition de cas selon l'état de différenciation cellulaire.	38
Figure 22 : Répartition des patients selon le sous- type histologique.....	39
Figure 23 : Répartition des patients selon le tabagisme.....	40
Figure 24 : Coupe histologique d'un patient atteint de carcinome épidermoïde	41
Figure 25 : Immunomarquage positif de P40 dans un cas de carcinome épidermoïde pulmonaire.....	43
Figure 26 : Immunomarquage positif de P63 dans un cas de carcinome épidermoïde pulmonaire	44
Figure 27 : Immunomarquage positif de P63 et P40 dans un cas de carcinome épidermoïde pulmonaire.....	44

Figure 28 : Carcinome épidermoïde. Immunomarquage négatif de P63. 45

Liste des tableaux

Tableau 1 : La description de T, N et M selon la huitième édition de la classification TNM du cancer du poumon.	11
Tableau 2 : Résultats de marquage immunohistochimique avec le P40 et le P63.....	42
Tableau 3 : Répartition du nombre des patients selon l'année de recrutement.	73
Tableau 4 : Répartition des patients par sexe.....	73
Tableau 5 : Répartition des patients par tranche d'âge.	73
Tableau 6 : Répartition des patients selon l'âge par sexe.	74
Tableau 7 : Répartition des patients selon l'apparition des symptômes.....	74
Tableau 8 : Répartition des patients selon les manifestations cliniques.	74
Tableau 9 : Répartition des patients selon le siège de la tumeur.	75
Tableau 10 : Répartirent des patients selon l'état de différenciation cellulaire.....	75
Tableau 11 : Répartition des patients selon le sous type histologique.....	75
Tableau 12 : Répartition des patients selon le tabagisme.	75



INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le cancer du poumon reste la tumeur maligne la plus fréquente avec la mortalité la plus élevée au monde malgré la baisse récente de l'incidence et du taux de mortalité. C'est une pathologie hétérogène qui comprend divers types histologiques ayant une pertinence clinique **(Rodriguez et al. 2016 ; Siegel et al. 2020 ; Kastner et al. 2020)**

L'interprétation des prélèvements cytologiques et biopsiques selon la morphologie reste la base de la classification. Sur la base du type histologique principal, du pronostic et des implications thérapeutiques, les cancers du poumon sont divisés en deux groupes principaux : le carcinome à petites cellules (SCLC, 13% des cas) et le carcinome non à petites cellules (NSCLC, 83% des cas) ; **(Travis 2020)**.

Cependant, des nouvelles stratégies thérapeutiques sont proposées sur la base des diverses caractéristiques tumorales et cela demande une nécessité d'offrir une classification moléculaire plus détaillée et une distinction précisée entre les sous-types du cancer du poumon non à petites cellules (NSCLC) à savoir, les carcinomes épidermoïdes (SCC) et les adénocarcinomes (ADC), afin de prendre des décisions cliniques éclairées **(Poirier et al. 2020)**.

La protéine P63 est un homologue et un membre de la famille de P53. Elle est codée par le gène TP63 dont sa transcription peut donner au moins deux isoformes d'ARNm distincts générées par l'action de deux promoteurs différents : trans-activant (TA) et tronquées ou non trans-activant (non TA) également appelées Δ (Delta) Np63 **(Sethi et al. 2015 ; Gonfloni et al. 2015)**.

L'isoforme TAp63 (ou simplement P63) peut trans-activer les gènes rapporteurs de p53 qui favorise l'arrêt du cycle cellulaire et l'apoptose, tandis que l'isoforme Δ Np63-P40 (ou simplement P40) agit comme « p53 inducteur dominant-négatifs » en favorisant la prolifération et en bloquant l'apoptose des cellules avec une croissance cellulaire non restreinte **(Chen et al. 2018)**.

Dans le SCC pulmonaire, une amplification génomique du locus TP63 a été rapportée dans jusqu'à 16% des cas. Ainsi, plusieurs études ont indiqué que l'isoforme Δ Np63, probablement l'isoforme Δ Np63 α est l'isoforme prédominante et qui entraîne la tumorigénèse

du SCC, celui-là est dû à son activité oncogénique principale améliorée avec la présence des gènes suppresseurs de tumeurs (p53, TAp63) inactif (**Lawrence et al. 2015 ; Gatti et al. 2019**).

À l'heure actuelle, l'utilisation de l'anticorps de type 4A4 contre le TAp63 (P63) est la principale marqueur immunohistochimique utilisé pour identifier les SCCs pulmonaires (**Villalobos and Wistuba 2017**).

Cependant, des études récentes utilisant ce marqueur ont démontré des résultats faussement positifs avec une positivité dans certains ADCs, ce qui peut entraîner une confusion ou des fausses interprétations lors de diagnostic surtout en cas des tumeurs peu différenciées. En revanche, l'expression de Δ Np63 détectée par l'anticorps anti-P40 a montré une spécificité plus élevée pour le SCC, mais une sensibilité plus faible par rapport au P63 (**Cabibi et al. 2020 ; Wang et al. 2020**).

Plusieurs études ont été précédemment faites à travers le monde pour évaluer l'efficacité de P63 et P40 pour le diagnostic des carcinomes pulmonaires. Néanmoins, les résultats obtenus varient en fonction de la région et de la population d'étude.

C'est dans cette optique, que nous avons effectué une étude prospective, en vue de comparer nos données aux résultats déjà obtenus par d'autres investigations effectuées dans ce sens. Mis à part, le profil épidémiologique des carcinomes pulmonaires abordé par notre étude, la visée principale de notre travail était d'investiguer prospectivement, l'efficacité diagnostique de P63 et P40 vis-à-vis des carcinomes pulmonaires. Ainsi, l'étude qu'on a menée avait pour objectif de décrire les particularités épidémiologiques et anatomo-pathologiques des patients atteints de carcinome épidermoïde pulmonaire et de démontrer l'apport immunohistochimique de P40 au diagnostic de carcinome pulmonaire non à petites cellules de type épidermoïde et son potentiel pour remplacer l'anticorps P63 actuel comme le meilleur marqueur squameux immunohistochimique.



CHAPITRE I :

RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Rappel anatomique, histologique et physiologique sur les poumons

I. 1. 1. Anatomie des poumons

Les poumons sont un pair d'organes primaires de respiration présentés dans la cavité thoracique à côté du médiastin, ils sont couverts par une fine membrane séreuse double couche appelée la plèvre, le poumon droit a trois lobes et le poumon gauche a deux lobes chacun est aéré par une bronche secondaire, les lobes sont plus loin divisés en sections pyramidales plus petites appelées segments broncho-pulmonaires. Il y a dix segments broncho-pulmonaires dans chaque poumon avec leur apex dirigé vers le hile et chacun est aéré par une bronche tertiaire (**figure 1**) ; (**Robinson 2009** ; **Weibel 2017** ; **Peate 2018**).

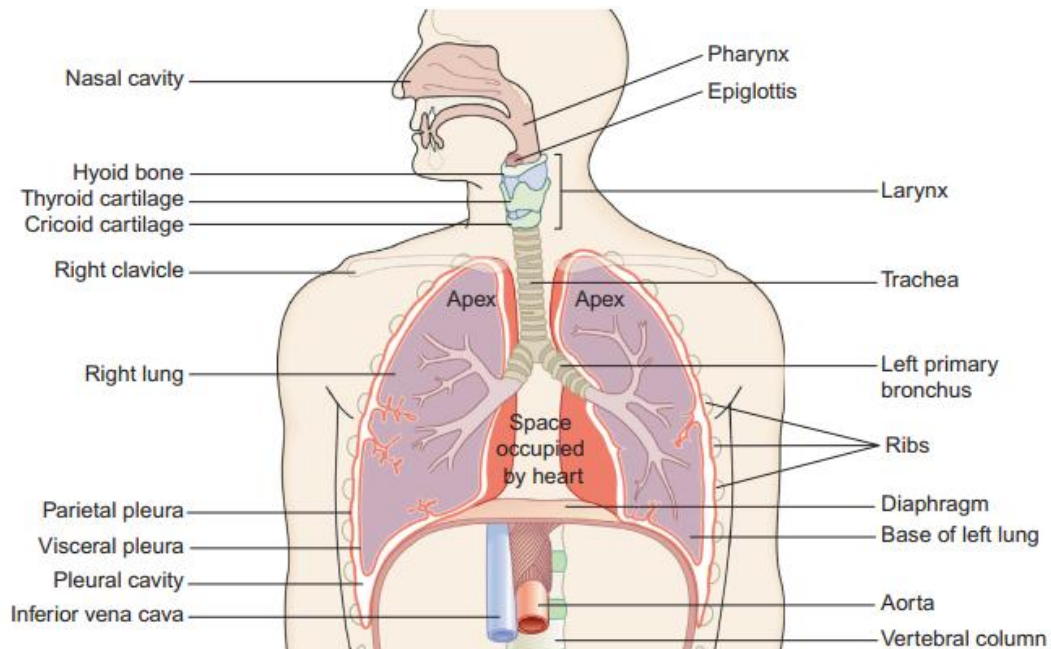


Figure 1 : Le système respiratoire (**Robinson 2009**).

Les bronches se divisent successivement plusieurs fois pour former des bronchioles puis des conduits alvéolaires jusqu'à l'obtention des alvéoles (**figure 2**). Les alvéoles sont les unités structurelles et fonctionnelles du système respiratoire ; il y a environ 300 millions d'alvéoles chez un adulte humain d'une superficie d'environ 70 mètres carrés pour les échanges gazeux (**Knudsen and Ochs 2018**).

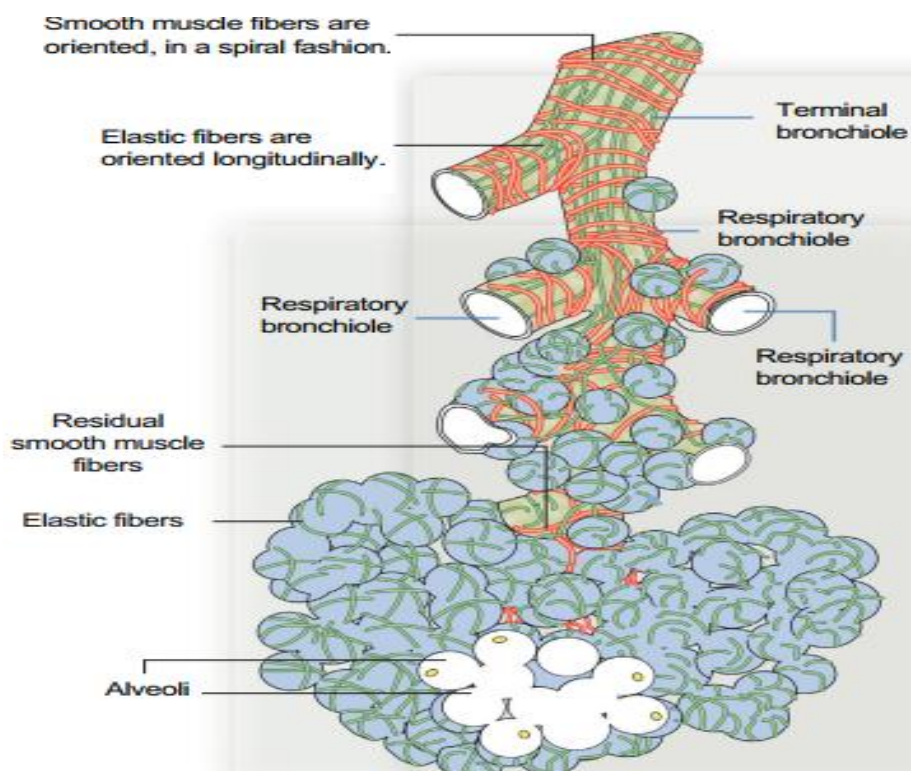


Figure 2 : Les voies respiratoires terminales (Robinson 2009).

I. 1. 2. Histologie des poumons

Dans le parenchyme pulmonaire, les voies bronchiques débouchent dans des dilatations remplies d'air qui sont les alvéoles dont ces formes est polyédrique et assez irrégulière, leur taille est très variable entre 0,1 et 0,3 mm. Autour des alvéoles il se trouve un réseau serré de capillaires sanguins fixés aux parois alvéolaires et alimentés par le sang de la petite circulation. Dans l'alvéole l'air et le sang sont séparés par une mince couche cellulaire où l'espace interstitiel est très petit : la barrière air-sang, constituée par la paroi alvéolaire (Ochs et al. 2016 ; Olmeda et al. 2017 ; Evans and Lee 2020). Il y a deux types majeurs des cellules dans la paroi alvéolaire à savoir :

- ✚ **Les cellules plates ou pavimenteuses :** Les pneumocytes membraneux ou pneumocytes de « type I » formant la structure de la paroi alvéolaire, reliés entre eux par des jonctions serrées (Yang et al. 2016).
- ✚ **Les cellules cubiques :** Les pneumocytes granuleux ou pneumocytes de « type II » qui sécrètent un surfactant pour abaisser la tension de surface empêchant donc le collapsus

des alvéoles lors de l'expiration, aussi ils se divisent pour produire les pneumocytes de « type I » (Rodríguez et al. 2018).

- ✚ **Les cellules à poussière du parenchyme respiratoire :** Qui sont les macrophages situés dans la cloison inter-alvéolaire ou dans la lumière de l'alvéole, les macrophages complètent l'action d'épuration de l'air inspiré et séjournent un temps variable dans le parenchyme respiratoire (certains y demeurent) puis ils sont soit véhiculés dans les vaisseaux lymphatiques jusqu'aux ganglions hilaires, soit entraînés par les gaz alvéolaires dans les bronchioles, les bronches et la trachée : englués dans le tapis muqueux, ils sont alors avalés ou expectorés au niveau du pharynx (**figure 3**) ; (Zhang et al. 2018 ; Belchamber and Donnelly 2020).

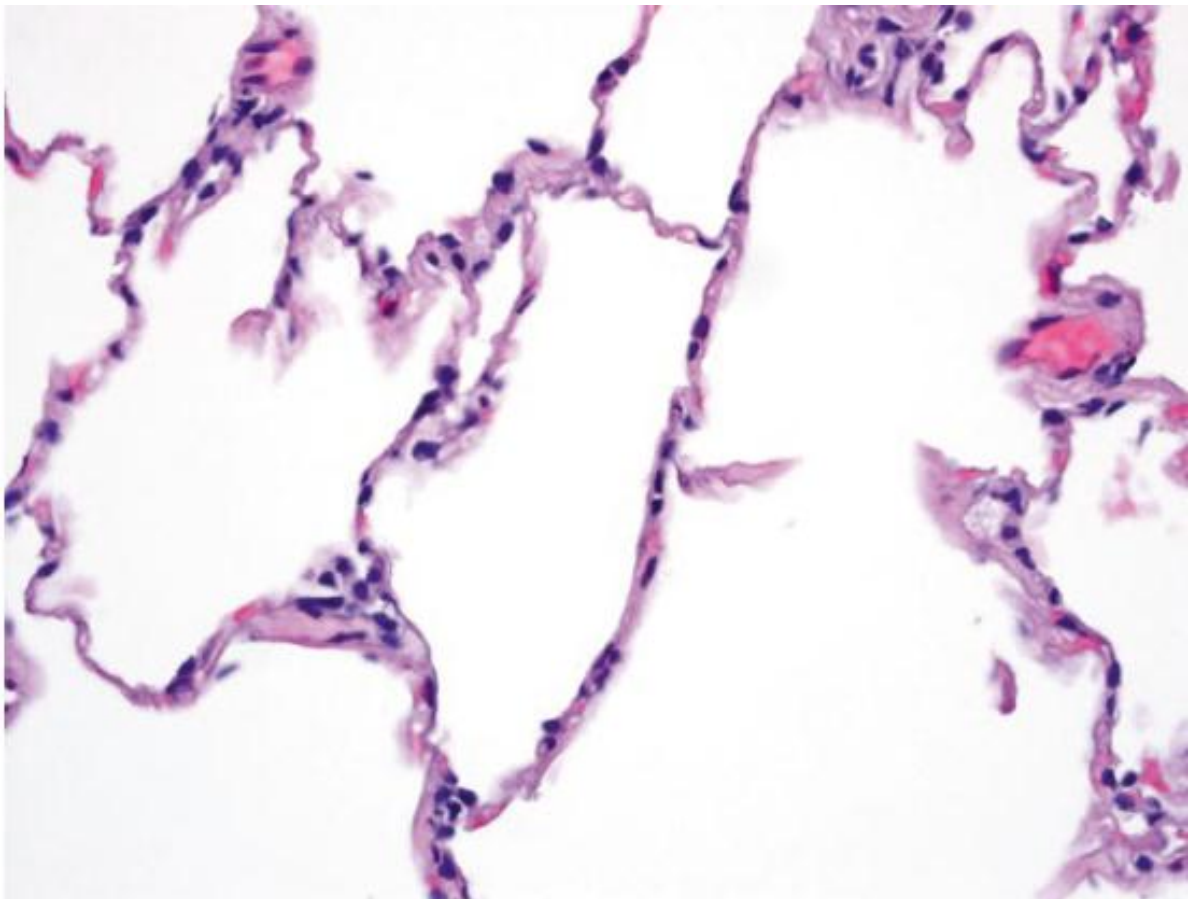


Figure 3 : Microphotographie à fort grossissement d'alvéoles normales. Les cloisons alvéolaires sont très minces et se composent d'épithélium alvéolaire aplati (pneumocytes) et des capillaires délicats (Zhang et al. 2018).

I. 1. 3. Physiologie des poumons

L'air inhalé est réchauffé, humidifié et purifié par le mucus qui tapisse les voies ventilatoires, cet air est passé de la zone nasale à la grande surface développée des alvéoles où les échanges gazeux peuvent se faire (**Del et al. 2018**).

La respiration pulmonaire se traduit par l'échange d'O₂ et de CO₂ entre les alvéoles et les capillaires sanguins pulmonaires, elle entraîne la conversion du sang désoxygéné en provenance du cœur en sang oxygéné retournant au cœur (**Magder 2018**).

Ces échanges sont motivés par la diffusion osmotique et ne nécessitent pas d'ATP ou adénosine triphosphate. Ce processus a lieu à l'inspiration en raison de la pression en O₂ élevée de l'air atmosphérique ; alors que le CO₂ suit le chemin inverse en raison de la pression en CO₂ plus faible dans l'air atmosphérique (**Hsia et al. 2011**).

I. 2. Généralités sur le cancer pulmonaire

I. 2. 1. Définition

La carcinogenèse pulmonaire est un processus à plusieurs étapes, défini par l'accumulation progressive des mutations dans les oncogènes et les gènes suppresseurs de tumeurs, entraînant des perturbations multiples dans les voies cellulaires. La physiopathologie du cancer pulmonaire englobe aussi les contributions du microenvironnement tumoral et les réponses immunitaires de l'hôte, qui sont tous liées à chaque étape de la tumorigenèse (**Marino et al. 2019 ; Salehi et al. 2020**).

I. 2. 2. Épidémiologie

Avec environ 2,1 millions de cas de cancer en 2018, 1,76 million de décès et 4,5 de taux supérieurs à ceux de 2012. Le cancer du poumon est le cancer le plus fréquent dans le monde chez les hommes et le deuxième cancer le plus fréquent chez les femmes (**Bray et al. 2018 ; Mattiuzzi and Lippi 2019**).

Cela est expliqué en partie par les différences historiques au début et le taux de consommation du tabac entre les hommes et les femmes. Cependant, des études récentes ont signalé l'élévation des taux d'incidence du cancer pulmonaire chez les femmes dans plusieurs pays développés notamment le Canada et les États-Unis (**MacRosty and Rivera 2020 ; Fidler et al. 2020**).

La majorité des patients atteints de cancer du poumon sont des fumeurs, chez les non-fumeurs la proportion varie considérablement de 10 % à 25 % et il touche les hommes plus que les femmes. Le carcinome épidermoïde est le sous-type histologique le plus courant de NSCLC, il représente environ 20 à 35 % de tous les cas de cancer du poumon (**Bhopal et al. 2019 ; Dhungana et al. 2020**).

En Algérie, une étude faite par **Otsmane et al. (2018)** a montré la même distribution d'incidence de carcinome épidermoïde mentionné précédemment.

I. 2. 3. Facteurs de risque associés au cancer pulmonaire

I. 2. 3. 1. Tabagisme

L'incidence du cancer pulmonaire est étroitement liée aux tendances de l'usage du tabac dans une région donnée. La plupart des cancers du poumon sont attribuables au tabagisme, qui expose les voies respiratoires et le parenchyme pulmonaire à de nombreux cancérigènes et pro-carcinogènes, y compris les radicaux libres, les amines aromatiques, les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les nitrosamines. Par rapport au tabagisme, les autres expositions impliquées ont un impact beaucoup plus faible sur le cancer du poumon (**WHO 2018 ; Peiffer et al. 2018 ; Sakhri and Bertocchi 2019**).

I. 2. 3. 2. Radon

Le radon est un gaz radioactif issu de la dégradation de l'uranium du sol terrestre, il a été attribué au deuxième facteur de risque de développement du cancer pulmonaire après l'exposition au tabac. L'exposition au radon est également en corrélation avec le fardeau des mutations tumorales. Cette signature mutationnelle est associée à une réparation de mésappariement d'ADN défectueuse (**Choi et al. 2016 ; Akhtar and Bansal 2017 ; Lim et al. 2019**).

I. 2. 3. 3. Expositions professionnelles

L'exposition à l'amiante, l'arsenic, le chrome et les rayonnements ionisants dans un milieu professionnel sont parmi les facteurs impliqués dans le développement de cancer du poumon. Ces expositions sont pertinentes pour les travailleurs dans les entreprises d'application de pesticides, préservation du bois, l'industrie de production et de soudage de l'acier inoxydable, mais aussi les maçons, les charpentiers et les électriciens (**Shankar et al. 2019**).

I. 2. 3. 4. Fumée domestique de carburant

Le combustible domestique est utilisé pour la cuisson et le chauffage dans le monde entier, il libère la fumée lors de la combustion, ce qui augmente la pollution de l'air intérieur et donc plus d'exposition aux particules pour les personnes (**Balmes 2019**).

I. 2. 3. 5. Infections

Il est bien connu que l'inflammation chronique secondaire est liée à des infections et associée à la cancérogenèse. *Mycobacterium tuberculosis*, Le virus du papillome humain (HPV), *Helicobacter pylori* (Hp), et le virus de l'immunodéficience humaine VIH sont généralement parmi les agents pathogènes qui peuvent causer des infections chroniques et augmenter le risque de cancer du poumon (**Malinovsky et al. 2018 ; González et al. 2018 ; Molina et al. 2019 ; Abbar et al. 2020**).

I. 2. 3. 6. Maladies inflammatoires

Les maladies inflammatoires sont un facteur de risque pour le développement de cancer des poumons, notamment l'asthme chez les patients avec ou sans des antécédents de tabagisme et la sarcoïdose qui peut affecter les poumons et les ganglions lymphatiques (**Bonifazi et al. 2015 ; Yan et al. 2017**).

I. 2. 4. Classification de cancer du poumon

Le cancer du poumon est classé en deux grandes catégories : les carcinomes « non-à petites cellules » (Non-Small Cell Lung Carcinomas, NSCLC), qui dérivent des cellules souches épithéliales de la muqueuse broncho-pulmonaire et les carcinomes « à petites cellules » (Small Cell Lung Carcinoma, SCLC) qui regroupent plusieurs catégories de cancers présentant des caractéristiques morphologiques, histologiques et ultra structurales communes, dont en particulier la présence de granules neuro-sécréteurs et une activité mitotique importante (**Antoine et al. 2018**).

Les NSCLC représentent environ 80 % des cas et peuvent adopter une architecture épidermoïde (Squamous Cell Carcinoma, SCC), glandulaire (ADenoCarcinoma, ADC) ou indifférenciée (Large Cell Carcinoma, LCC), selon l'étiologie et la localisation dans l'arbre bronchique (**Micke et al. 2016 ; Osmani et al. 2018**).

La classification TNM de l'union pour le contrôle international du cancer est la norme internationale reconnue pour la stadification du cancer. La catégorie T définit la taille et / ou l'étendue de la tumeur primaire ; la catégorie N définit l'implication des ganglions lymphatiques régionales et la catégorie M définit la présence de métastases distantes. La description de T, N et M selon la huitième édition de la classification TNM du cancer pulmonaire est clairement démontrée dans le **Tableau 1 (Travis et al. 2015 ; Feng and Yang 2019)**.

Dans notre étude, on se focalise sur les cas de SCC qui se développe à partir de l'épithélium bronchique pseudo-stratifié par un processus de métaplasie épidermoïde, selon la classification de l'organisation mondiale de la santé (WHO). Le SCC pulmonaire est une tumeur épithéliale maligne avec des foyers des cellules kératinisées et/ou des ponts intercellulaires ou une morphologie de carcinome indifférencié exprimant les marqueurs immunohistochimiques de différenciation squameuse (**Travis et al. 2015**).

Tableau 1 : La description de T, N et M selon la huitième édition de la classification TNM du cancer pulmonaire (Kutob and Schneider 2019).

T: Primary tumor	
TX	Primary tumor cannot be assessed or tumor proven by presence of malignant cells in sputum or bronchial washings but not visualized by imaging or bronchoscopy
T0	No evidence of primary tumor
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumor ≤ 3 cm in greatest dimension surrounded by lung or visceral pleura without bronchoscopic evidence of invasion more proximal than the lobar bronchus (ie, not in the main bronchus) ^a
T1mi	Minimally invasive adenocarcinoma ^b
T1a	Tumor < 1 cm in greatest dimension ^a
T1b	Tumor > 1 cm but < 2 cm in greatest dimension ^a
T1c	Tumor > 2 cm but ≤ 3 cm in greatest dimension ^a
T2	Tumor > 3 cm but ≤ 5 cm or tumor with any of the following features ^c : Involving main bronchus regardless of distance from the carina but without involvement of the carina; invading visceral pleura; associated with atelectasis or obstructive pneumonitis that extends to the hilar region, involving part or all of the lung
T2a	Tumor > 3 cm but ≤ 4 cm in greatest dimension
T2b	Tumor > 4 cm but ≤ 5 cm in greatest dimension
T3	Tumor > 5 cm but ≤ 7 cm in greatest dimension or associated with separate tumor nodule(s) in the same lobe as the primary tumor or directly invades any of the following structures: chest wall (including the parietal pleura and superior sulcus tumors), phrenic nerve, parietal pericardium
T4	Tumor > 7 cm in greatest dimension or associated with separate tumor nodule(s) in a different ipsilateral lobe than that of the primary tumor or invades any of the following structures: diaphragm, mediastinum, heart, great vessels, trachea, recurrent laryngeal nerve, esophagus, vertebral body, and carina
N: Regional lymph node involvement	
NX	Regional lymph nodes cannot be assessed
N0	No regional lymph node metastasis
N1	Metastasis in ipsilateral peribronchial and/or ipsilateral hilar lymph nodes and intrapulmonary nodes, including involvement by direct extension
N2	Metastasis in ipsilateral mediastinal and/or subcarinal lymph node(s)
N3	Metastasis in contralateral mediastinal, contralateral hilar, ipsilateral or contralateral scalene, or supraclavicular lymph node(s)
M: Distant metastasis	
M0	No distant metastasis
M1	Distant metastasis present
M1a	Separate tumor nodule(s) in a contralateral lobe; tumor with pleural or pericardial nodule(s) or malignant pleural or pericardial effusion ^d
M1b	Single extrathoracic metastasis ^e
M1c	Multiple extrathoracic metastases in 1 or more organs

I. 2. 5. Variantes histologiques

Le cancer des poumons est souvent hétérogène sur le plan histologique avec des variations d'apparence d'un champ microscopique à l'autre. On distingue des entités hybrides par exemple les carcinomes adénoquameux et même des structures typiques de différenciation neuro-endocrine dans certaines SCCs. Pour le cancer épidermoïde, on peut trouver différents sous-types : kératinisant, non kératinisant, basaloïde et *in situ* (Figures 4, 5, 6 et 7) ; (Vignaud 2016 ; Lantuejoul 2016 ; Zhang et al. 2018 ; Marino et al. 2019).

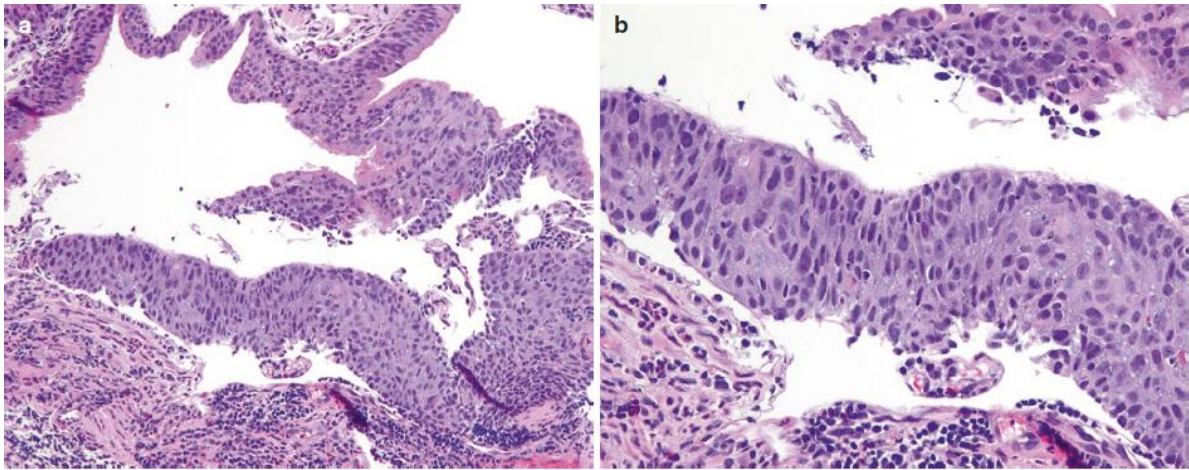


Figure 4 : Carcinome épidermoïde *in situ*. a) microphotographie à faible grossissement montrant un carcinome épidermoïde *in situ* survenant dans une grande voie respiratoire. (b) Microphotographie à fort grossissement montrant des cellules squameuses dysplasiques avec des noyaux hyper-chromatiques agrandis et des nucléoles proéminents (Zhang et al. 2018).

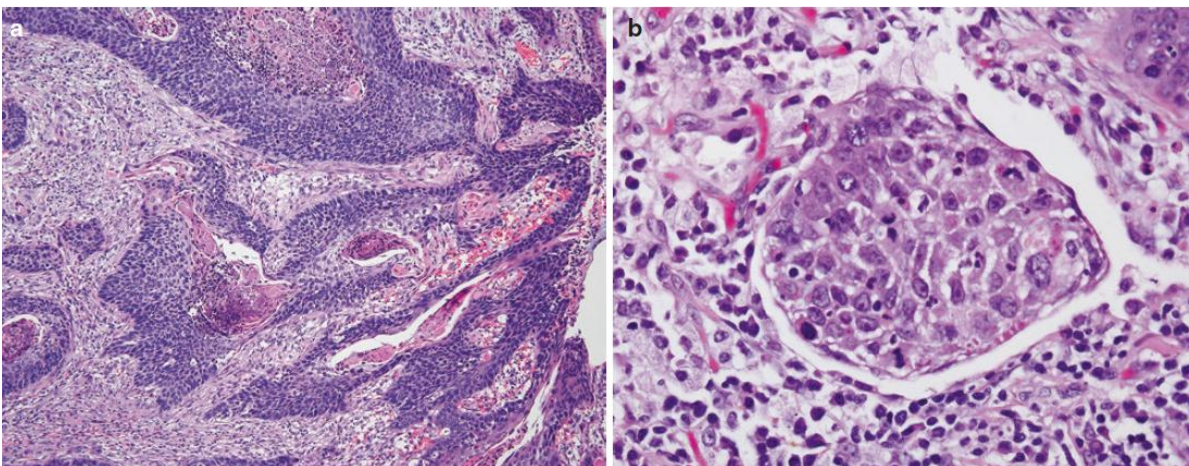


Figure 5 : Carcinome épidermoïde kératinisant. (a) Photomicrographie montrant des nids infiltrant avec une kératinisation centrale. (b) Photomicrographie à fort grossissement montrant un autre carcinome épidermoïde dans lequel se trouvent des ponts intercellulaires (Zhang et al. 2018).

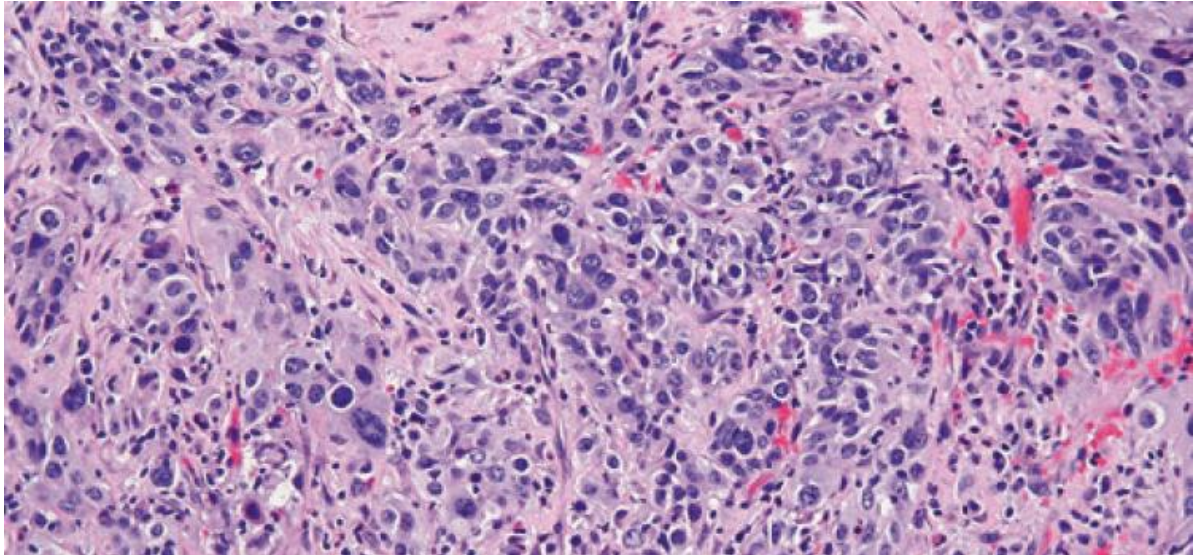


Figure 6 : Photomicrographie à fort grossissement montrant un carcinome épidermoïde peu différencié constituant des cellules tumorales infiltrant avec un cytoplasme abondant, mais sans ponts intercellulaires ou kératinisation facilement identifiable. C'est le type de carcinome qui pourrait être difficile à reconnaître comme épidermoïde en se basant uniquement sur l'histologie de routine (Zhang et al. 2018).

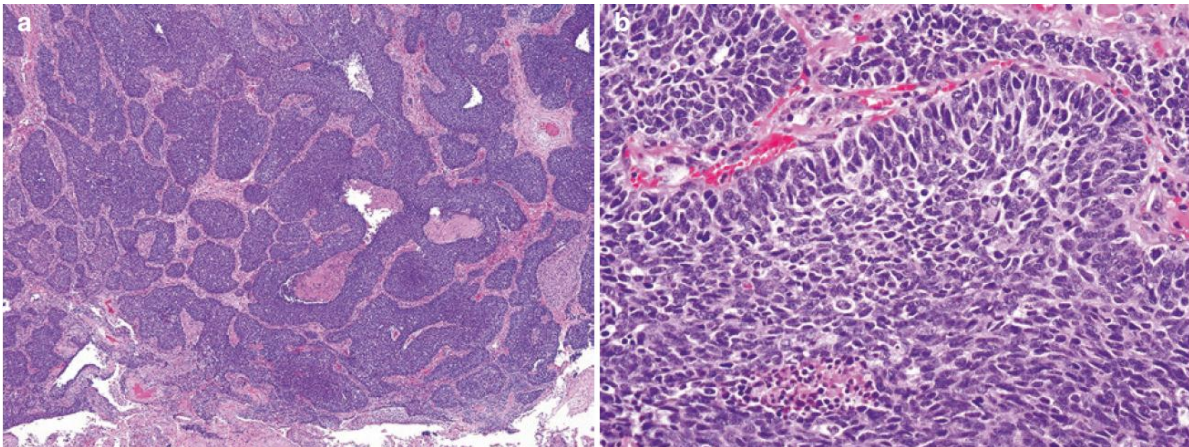


Figure 7 : Carcinome épidermoïde basaloïde (a) La microphotographie du carcinome épidermoïde basaloïde montre des nids solides et anastomosés avec une palissade périphérique. (b) Vue à fort grossissement montrant des cellules tumorales dépourvues de kératinisation et des ponts intercellulaires. Les cellules tumorales sont relativement petites et monomorphes, avec une chromatine hyper chromatique finement granuleuse ressemblant à un carcinome à petites cellules (Zhang et al. 2018).

I. 2. 6. Carcinogénèse pulmonaire

I. 2. 6. 1. Chez les fumeurs

Dans le condensat des phases particulaires et gazeuses, le tabac comporte plus de 40 carcinogènes différents comme les hydrocarbures polycycliques, les benzo-pyrènes, les amines aromatiques, les N-nitrosamines, l'arsenic, le polonium (**Peiffer et al. 2018**).

La nicotine est la principale composante addictive du tabac, elle contribue à la progression du cancer par l'activation des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChR) : des canaux ioniques à ligand membranaire. La nicotine interagit avec le nAChR et stimule son activation et la diaphonie avec le β -AR et l'EGFR. L'activation des nAChR et du β -AR intervient dans la sécrétion d'EGF pour trans-activer les EGFR (**Wang and Hu 2018 ; Cheng et al. 2020 ; Sarlak et al. 2020**).

Dans les cellules cancéreuses, les voies de signalisation en aval des nAChR favorisent la résistance aux médicaments et l'anti-apoptose en activant les facteurs de transcription, notamment STAT, NF- κ B, Jun / Fos et E2F via JAK, PI3K / PKB, RAS, RAF et la cascade de signalisation MAPK (**Hajiasgharzadeh et al. 2019**).

Les nAChR mitochondriaux déclenchent les voies de signalisation de la phosphatidyl inositol-3-kinase (PI3K) et du PKB qui empêchent l'ouverture du mPTP et la libération du cytochrome c (**Uspenska et al. 2018**).

L'activité anti-apoptotique induite par la nicotine et la résistance aux médicaments peuvent inclure plusieurs mécanismes impliqués dans : la surexpression des protéines sirtuine (3/5 et 6/7), la phosphorylation du BAD et le blocage de la translocation de BAX, conduisant au développement des cellules tumorales (**Chen et al. 2019**).

La désacétylation médiée par SIRT1 de FOXO3a peut induire l'expression d'enzymes antioxydants, y compris MnSOD et catalase qui augmentent la survie cellulaire pendant le stress oxydatif cellulaire, (**figure 4**) ; (**Hajiasgharzadeh et al. 2019 ; Chen et al. 2019**).

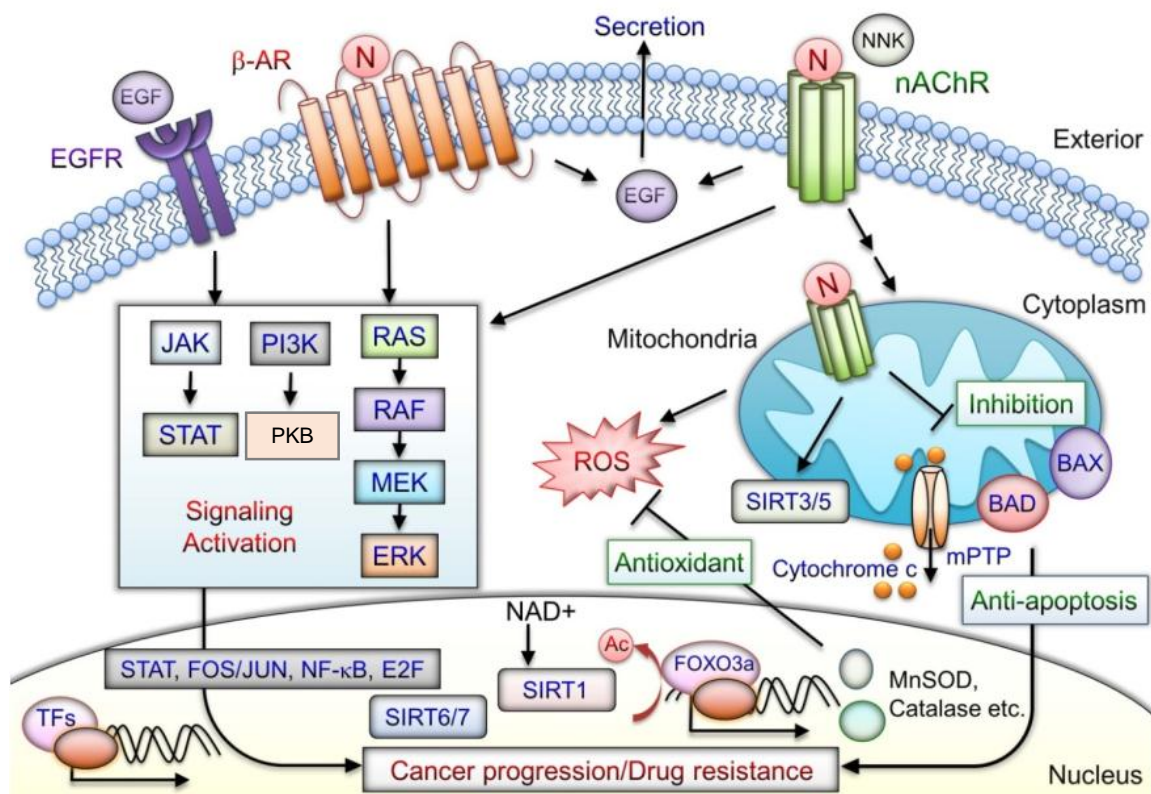


Figure 8 : voies de signalisation favorisant la tumeur par la nicotine / nAChR (Cheng et al. 2020).

I. 2. 6. 2. Chez les non-fumeurs

Le cancer du poumon chez les non-fumeurs en tant qu'entité distincte est la septième cause principale de mortalité liée au cancer. Les facteurs de risque établis comprennent la fumée secondaire, plusieurs toxines environnementales et les prédispositions génétiques potentielles (Rivera and Wakelee 2016 ; Bhopal et al. 2019).

Parmi les risques environnementales nous avons le dioxyde d'azote (NO₂). L'exposition au NO₂ peut provoquer une hypo-méthylation. L'hypo-méthylation de l'ADN est une sorte d'altération épigénétique qui affecte l'expression des gènes et conduit au développement d'un cancer (Lamichhane et al. 2017 ; Plusquin et al. 2017).

Ainsi, par rapport aux prédispositions génétiques potentielles, la prévalence des NSCLC dépendants des oncogènes avec des mutations d'EGFR et / ou translocations du PKB et ROS1 est plus élevée chez les non-fumeurs (Salehi et al. 2020).

I. 2. 7. Diagnostic du cancer pulmonaire

Le diagnostic de cancer du poumon s'effectue en plusieurs étapes :

Le médecin traitant interroge son patient sur les éventuels facteurs de risque et l'examine. Les signes du cancer pulmonaire sont souvent peu spécifiques, mais ils prennent un autre sens chez les fumeurs et les personnes ayant jamais fumé (**Nasim et al. 2019**).

Les principaux signes d'alerte sont : l'apparition de crachats sanguinolents « hémoptysie », une toux persistante différente de celle que les fumeurs souffrent habituellement, la survenue des infections respiratoires récidivantes ou répondant mal au traitement, un essoufflement anormal, une douleur dans la poitrine parfois liée à une pleurésie, une douleur inexplicable au niveau du cou, de l'épaule ou du bras, un amaigrissement inexplicable, une fatigue ainsi qu'une altération de l'état général (**Harle et al. 2019**).

Il prescrit ensuite des examens complémentaires : une radiographie du poumon et un scanner du thorax avec contraste. Mais c'est l'endoscopie des bronches qui confirme le diagnostic. C'est un examen réalisé par un pneumologue, avec un fibroscope souple. Cette fibroscopie bronchique permet de voir le cancer qui apparaît comme un bourgeon ou comme un rétrécissement à l'intérieur des bronches. Cette technique permet la réalisation de prélèvements « biopsies » qui feront l'objet d'une analyse anatomo-pathologique (**Nasim et al. 2019 ; Burks and Akulian 2020**).

Quand la biopsie par la fibroscopie est impossible, l'équipe médicale peut procéder, sous anesthésie locale, à un prélèvement de la tumeur ou de liquide pleural au travers de la paroi du thorax ou à un prélèvement de ganglions (**Park et al. 2020**).

Le diagnostic du cancer pulmonaire ne peut être confirmé que lors de l'analyse anatomo-pathologique d'une biopsie de la tumeur. Cet examen permet notamment de connaître le type de cancer en cause (cancer à petites cellules ou non à petites cellules) et de déterminer l'étendue de la tumeur pour définir son stade TNM ; (**Ryan and Burke 2017**).

Cette biopsie a pris d'autant plus d'importance que les cellules cancéreuses peuvent exprimer des « marqueurs de surface » qui traduisent des « mutations génétiques actives » et qui peuvent constituer des cibles par les nouvelles thérapies ciblées (**Penault et al. 2016**).

I. 2. 8. Traitement

Le traitement du NSCLC est spécifique au stade, les patients de stade I ou II doivent être traités par résection chirurgicale entière lorsqu'ils ne sont pas contre-indiqués. Les patients non chirurgicaux doivent être envisagés pour une radiothérapie qui consiste à exposer la tumeur à des rayons de haute énergie qui détruisent les cellules cancéreuses. C'est un traitement qui peut être utilisé seul ou associé à des traitements systémiques ou généraux comme la chimiothérapie, les thérapies ciblées ou l'immunothérapie (**Zappa and Mousa 2016 ; Reck and Rabe 2017**).

La chimiothérapie consiste à administrer un ou plusieurs médicaments toxiques pour les cellules cancéreuses. Pour traiter le cancer du poumon, parmi les principales molécules utilisées nous avons les sels de platine, la vinorelbine et le pemetrexed (**Huang et al. 2017**).

Les thérapies ciblées sont des traitements médicamenteux qui utilisent de nouvelles molécules s'attaquant plus spécifiquement aux cellules cancéreuses ou à leur environnement. Les thérapies ciblées du SCC sont relativement pauvres par rapport à celles des non-SCC. Cependant, au cours des dernières années, des essais cliniques sur les inhibiteurs du point de contrôle immunitaire pour le NSCLC, y compris le SCC, ont été largement menés, qui nous ayant apporté divers résultats déterminants applicables aux pratiques quotidiennes (**Socinski et al. 2018 ; Halliday et al. 2019**).

L'immunothérapie consiste à utiliser les défenses naturelles du patient pour lutter contre la tumeur. Le système immunitaire du patient est stimulé afin qu'il reconnaisse les cellules cancéreuses et qu'il les détruise, elle est utilisée dans les formes avancées de NSCLC et préférentiellement pour les patients fumeurs (**Zappa and Mousa 2016 ; Reck and Rabe 2017**).

I. 3. Implication de P63 dans le cancer pulmonaire

I. 3. 1. Biomarqueurs des cancers

L'Institut National de Santé de l'Espagne définit un biomarqueur comme une caractéristique objectivement mesurée et évaluée comme indicateur de processus biologiques normaux, processus pathogènes ou réponses pharmacologiques à une intervention thérapeutique (**Seijo et al. 2019**).

Un biomarqueur utile doit influencer la prise de décision clinique de manière à améliorer les soins aux patients, il devrait minimiser les dommages et les dépenses sans entraîner une augmentation des décès par le cancer (**Vargas and Harris 2019**).

I. 3. 2. Classification immunohistochimique du cancer pulmonaire épidermoïde

La sous-classification histologique des tumeurs en tant que carcinome épidermoïde ou adénocarcinome est utilisée par convention pour guider la chimiothérapie systémique pour les patients atteints du NSCLC. La classification est souvent basée sur l'observation des coupes histologiques sous le microscope. Mais, celui-là peut être difficile si on est dans les cas où l'apparence morphologique n'est pas adéquate pour la classification. Dans ces cas, des colorations immunohistochimiques discriminantes (IHC) sont souvent nécessaires (**figure 5**) ; (**Pelosi et al. 2016** ; **Patil et al. 2019** ; **Spinelli et al. 2019**).

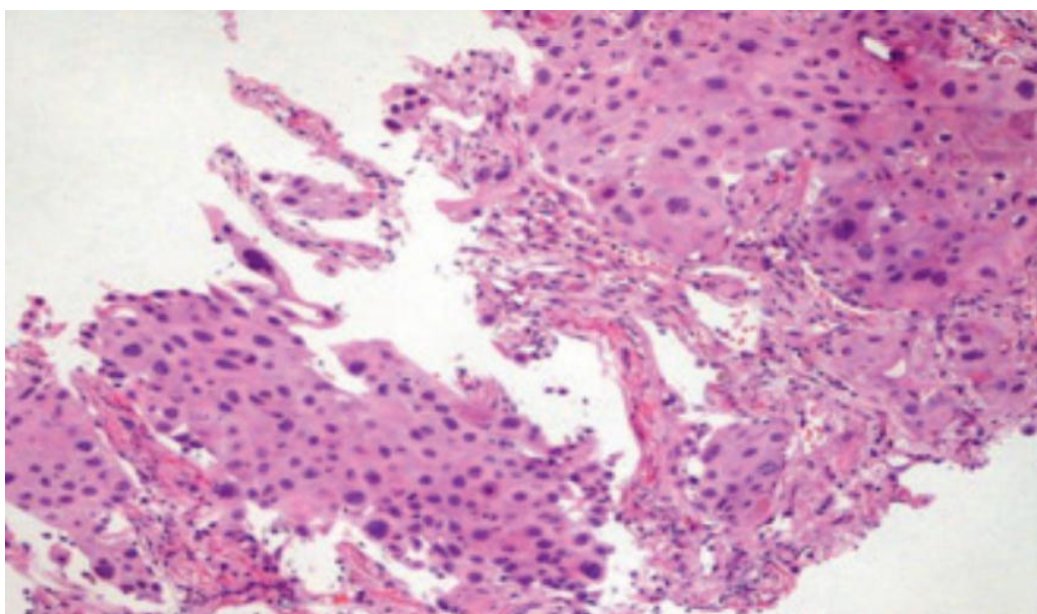


Figure 9 : Biopsie pulmonaire montrant un carcinome non à petites cellules avec un profil principalement solide qui ne montre pas une différenciation glandulaire claire ni formation de kératine (H&E, 10X) ; (**Spinelli et al. 2019**).

Un algorithme basé sur les caractéristiques morphologiques et immunohistochimiques recommande P63 pour le SCC pulmonaire, généralement il se fait en association avec d'autre marqueur d'ADC comme le TTF1 (thyroïde transcription factor) dans lequel le type de cancer est déterminé selon les différents résultats de marquages (**Zachara et al. 2015**).

Récemment, le P40, une isoforme de P63 a montré moins de sensibilité mais plus grande spécificité dans l'identification des SCC par rapport à P63 (**figure 10**). **Affandi et al. (2018)** a démontré que, bien que le P40 et P63 aient la même sensibilité, le P40 polyclonale a une spécificité plus élevée, car l'anticorps P63 peut colorer jusqu'à 37.1 % des ADCs et même peut donner des résultats faussement négatifs ou non contributives, ce qui entraîne une confusion dans certaines tumeurs peu différenciées (**Teulier 2020**).

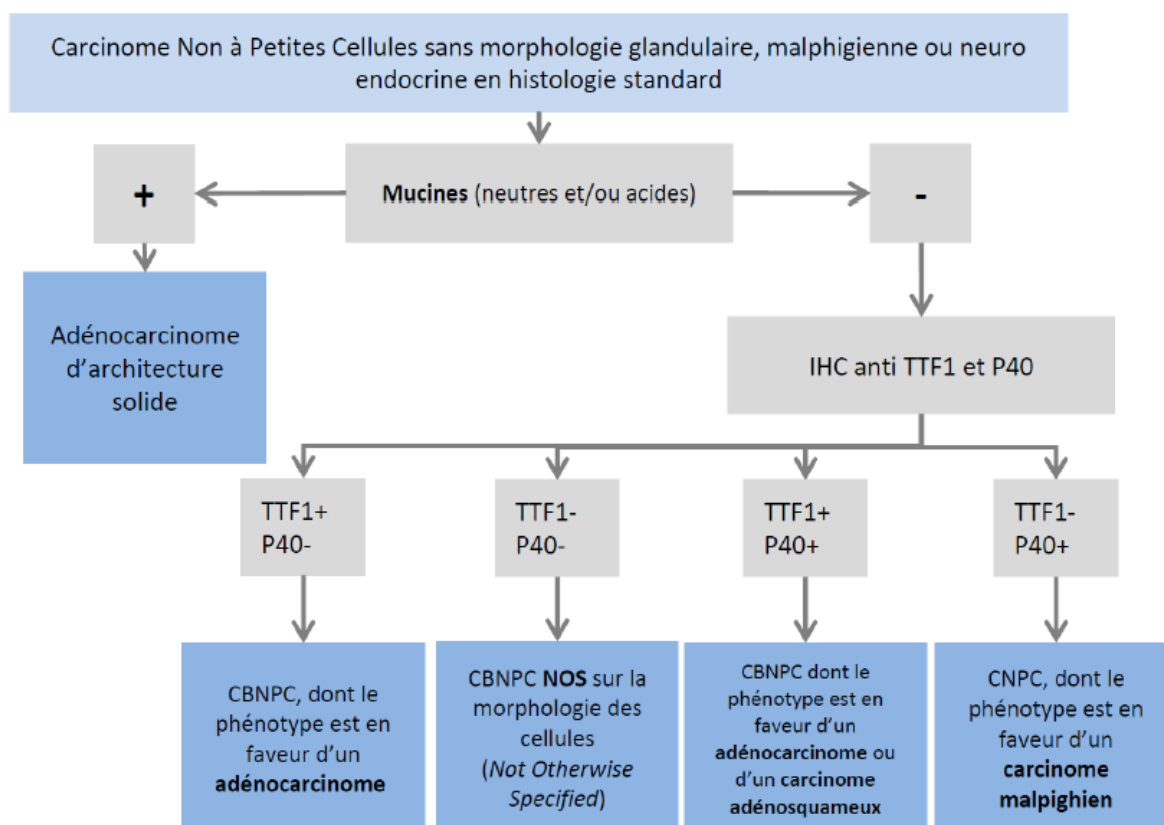


Figure 10 : Proposition d'arbre décisionnel pour les carcinomes broncho-pulmonaires indifférenciés (**Teulier 2020**)

I. 3. 3. Description de la P63

Le gène P63 est membre de la famille des facteurs de transcription P53 / P63 / P73 et joue un rôle essentiel dans le développement et l'homéostasie de l'épithélium pavimenteux. Le P63 et P73 ont été identifiés sur la base de similitudes structurelles dans les principaux domaines fonctionnels de P53 : les domaines de transactivation (TAD), de liaison à l'ADN (DBD) et d'oligomérisation (OD). Contrairement à la compréhension classique de P53, ces nouveaux membres de la famille sont révélés d'être constitués de plusieurs isoformes protéiques résultant de l'utilisation d'un promoteur alternatif et de l'épissage C-terminal (**Amelio and Melino 2018 ; Hall and Muller 2019**).

Les deux membres comprennent deux sous-classes des protéines contenant des domaines TA ou ΔN à l'extrémité aminé terminal. Les isoformes TAp63 contiennent un domaine de transactivation consensus de type P53 qui peut imiter la fonction de P53 ; tandis que les isoformes ΔN manquent de ce domaine et agissent comme « des négatifs dominants » pour TAp63 / P73, ainsi que pour P53 (Chillemi et al. 2017).

Malgré l'absence d'un domaine TA, les isoformes ΔN de P63 peuvent réguler positivement la transcription des gènes par le biais de domaines de transactivation supplémentaire. Également il est trouvé que les isoformes de P63, P73, et les isoformes de P53 sont transcrites de manière similaire et qu'ils sont co-exprimés avec le P53 canonique (Wu et al. 2019 ; Cai et al. 2019).

Entre les deux sous-classes de P63, un total de dix isoformes P63 résultant de l'épissage alternatif C-terminal ont été décrites à ce jour : TA- et ΔN - p63 : α , β , γ , δ , et ϵ (figure 11) ; (Galoczova et al. 2018).

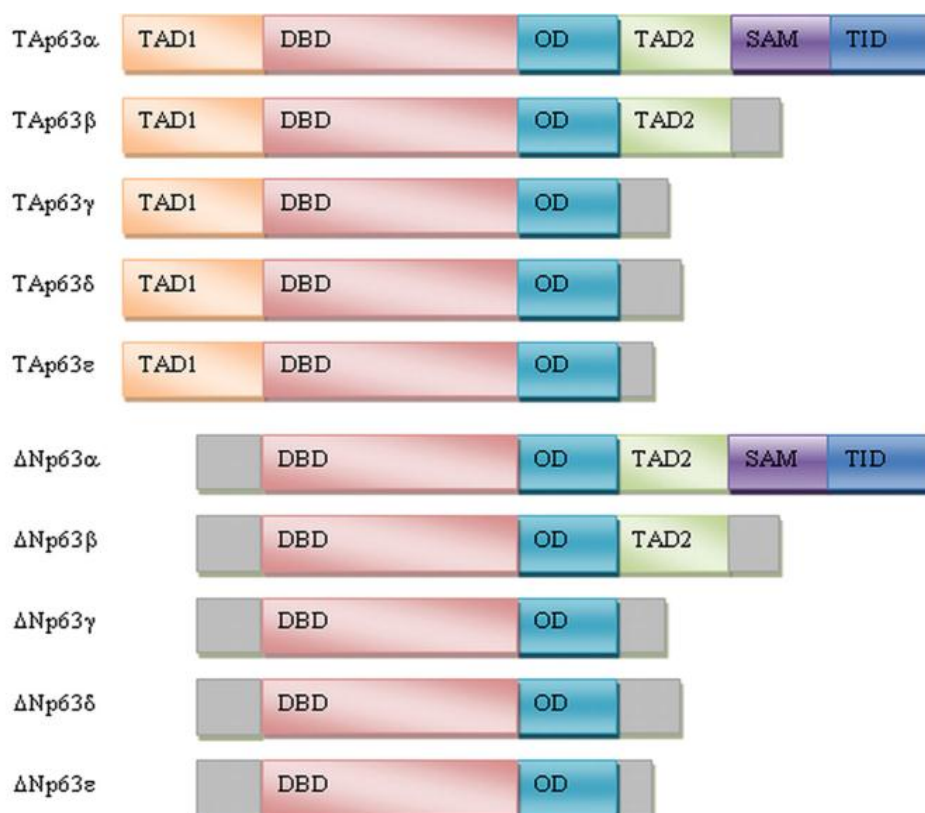


Figure 11 : Représentation schématique des isoformes P63, TAD2 : domaine d'activation de la transcription 2, SAM : motif α stérile, TID : domaine inhibiteur de transcription.

(Galoczova et al. 2018).

I. 3. 4. Activités des isoformes de P63

Chez l'homme, les mutations hétérozygotes dans TP63 provoquent plusieurs troubles du développement qui ressemblent partiellement aux défauts de développement observés chez les souris nulles P63. Notamment, la suppression génétique sélective des isoformes $\Delta Np63$ récapitule le phénotype observé chez les souris knock-out P63 global, indiquant fortement que $\Delta Np63$ est l'isoforme P63 principale régissant la morphogénèse épithéliale (**Jieqiong et al. 2018 ; Hall and Muller 2019**).

Les cibles en aval des protéines P63 sont impliquées dans une variété des processus biologiques essentiels : P63 et d'autres membres de la famille P53 partagent des cibles en aval communes, qui leur permettant d'orchestrer pour réguler le cycle cellulaire. Comme le P53, les isoformes TA de P63 peuvent sans aucun doute activer ces gènes en aval et par conséquent conduire à un arrêt du cycle cellulaire, à la sénescence cellulaire et à l'apoptose cellulaire (**Jieqiong et al. 2018 ; King et al. 2019**).

Au contraire, les protéines $\Delta Np63$ inhibent la transcription de ces gènes, provoquant une prolifération et une survie cellulaire améliorées. Cet effet des $\Delta Np63$ s est dû au manque d'un TAD intact qui leur permet d'antagoniser la trans-activité d'autres protéines de la famille P53 en formant des complexes inhibiteurs ou en se liant de manière compétitive avec les cibles du p53 (**Chen et al. 2018 ; Hall and Muller 2019**).

I. 3. 5. Rôle de la P63 dans la carcinogénèse pulmonaire

A l'état normal, les isoformes $\Delta Np63$ oncogènes sont équilibrés avec les TAp63, TAp73, TAp63 et p53 qui sont des suppresseurs de tumeur. Mais en cas d'absence de p53 ou de P73 fonctionnels suffisants avec une amplification ou une perte du locus du gène P63 ça peut causer un déséquilibre de cycle cellulaire conduisant à une prédisposition au cancer (**Armstrong et al. 2016**).

L'une des altérations génomiques les plus courantes partagées entre le SCC du poumon, de la tête, le cou, de l'œsophage, du col de l'utérus et de la vessie est l'amplification de la région chromosomique entre 3q26 et 3q28 qui comprend la P63. Ceci est associé à une prédominance d'ARNm pour les isoformes $\Delta Np63\alpha$ par rapport aux ARNm TAp63 (**Campbell et al. 2018**).

La P63 semble être impliquée à la fois dans le développement et la suppression tumorale :

D'une part la surexpression et la prédominance de l'isoforme Δ Np63 dans le carcinome épidermoïde est essentiel pour la survie et développement tumoral. Il a également été documenté que Δ Np63 α peut réguler positivement la transcription de Hsp70, une protéine de réponse au stress et un déterminant de la mort cellulaire et de la transformation cellulaire (**Linshan et al. 2017 ; Yao and Chen 2017**).

Ainsi, il a été également signalé que Δ Np63 α régule positivement les molécules d'adhésion à la matrice cellulaire, y compris les intégrines α 6, β 1 et β 4 (**Yi et al. 2017**).

Cependant, les Δ Np63 peuvent également trans-activer des gènes impliqués dans la transition épithéliale-mésenchymateuse (EMT) ce qui favorise les métastases cancéreuses (**Bui 2018**).

D'autre part, la régulation négative de l'isoforme TAp63 joue un rôle central dans la métastase (**figure 12**). L'activité suppressive des tumeurs de TAp63 semble être dépendre du contexte génétique ou du type cellulaire. La déficience en TAp63 induit la sénescence cellulaire dans les cellules épidermiques normales et les cellules cancéreuses dérivées de l'épithélium, mais augmente la prolifération et améliore l'oncogénèse médiée par Ras dans le contexte de la déficience en p53 *in vivo* (**Yao and Chen 2017 ; Jieqiong et al. 2018 ; Chen et al. 2018 ; Moses et al. 2019**).

Les TAp63 suppriment les métastases cancéreuses grâce à la régulation du miR-130b et l'enzyme Dicer : une endonucléase RNase III qui transforme les précurseurs de miARN parmi eux miR-130b en ARN fonctionnels qu'ils sont ensuite incorporés au complexe de silençage induit par l'ARN (RISC) et permettre l'inactivation des oncogènes cibles (**Yi et al. 2017 ; Bui 2018**).

De plus, les TAp63 peuvent également activer la transcription de PERP : P53 apoptosis Effector Related to PMP-22 pour inhiber les métastases. L'instabilité génomique et l'augmentation des dommages à l'ADN résultant de la déficience en TAp63 induisent la sénescence cellulaire (**Mikolaskova et al. 2018 ; Patel et al. 2020**).

Malgré le concept répandu de TAp63s comme des suppresseurs de tumeurs. Il est rapporté que la protéine TAp63 α peut antagoniser les effets de p53 sur ces gènes cibles dans certains carcinomes thyroïdiens (**Manzella et al. 2017**).

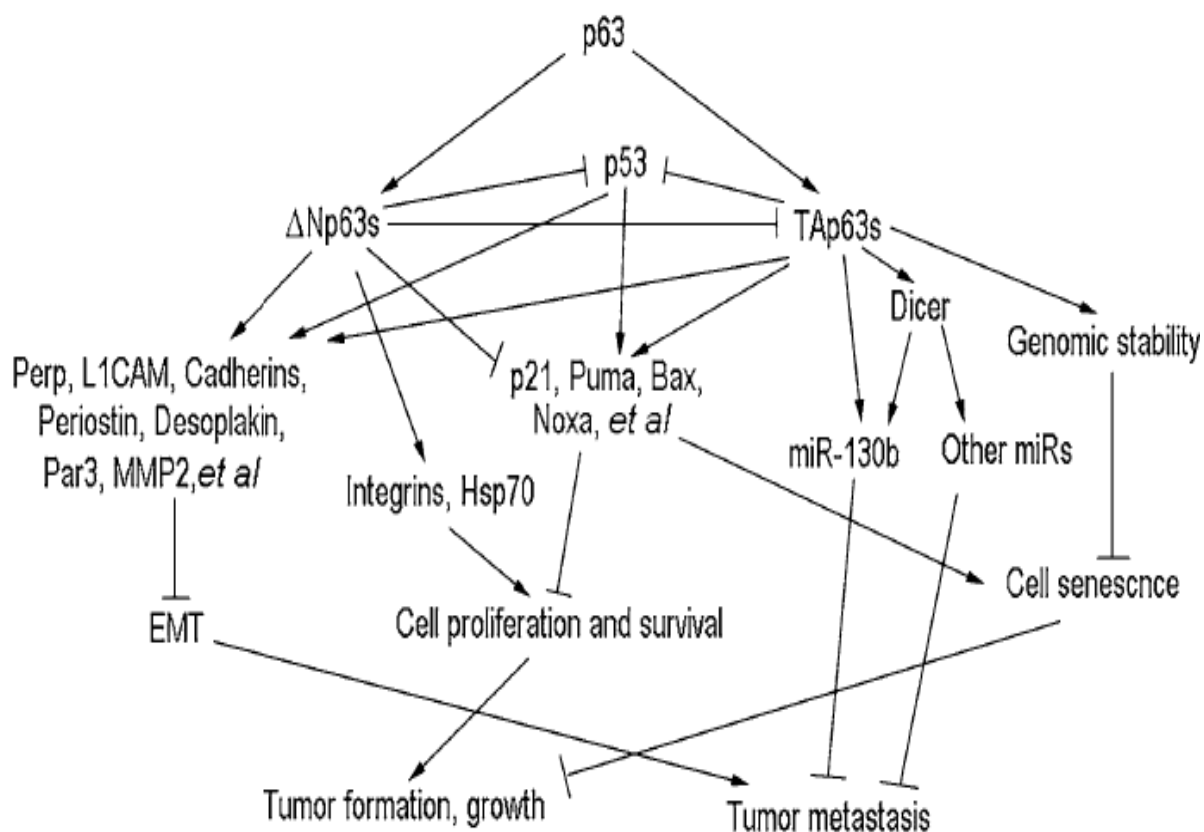


Figure 12 : Rôles de P63 dans la formation, la croissance et les métastases tumorales. Les TAp63 agissent principalement comme des suppresseurs de tumeurs en inhibant la prolifération cellulaire, la survie et les métastases tumorales et exercent occasionnellement une activité oncogène en réprimant la trans-activité de P53. Les ΔNp63s favorisent la formation et la croissance de certaines tumeurs dérivées de l'épithélium grâce à une prolifération et une survie cellulaire améliorées. En revanche, les ΔNp63 répriment la métastase via l'inhibition de l'EMT. La flèche pleine signifie une régulation positive, tandis que la flèche émoussée représente une inhibition (**Chen et al. 2018**).



CHAPITRE II :

MATERIEL ET METHODES

La visée fondamentale de notre étude était de décrire les caractéristiques épidémiologiques de SCC et d'évaluer l'utilisation de P40 et p63 pour classer les tumeurs sans différenciation squameuse ou glandulaire claire et avec une histologie solide / pseudo-squamoïde. Afin d'atteindre ces objectifs, des études rétrospective et prospective ont été menées sur des cas de cancers des poumons non métastatiques, confirmés histologiquement au sein du service d'anatomie pathologique du CHU Issad Hassani de Béni-Messous. Notre investigation s'est étalée sur une période de 09 mois allant du 1^{er} décembre 2019 au 30 août 2020.

II. 1. Matériel

II. 1. 1. Matériel biologique

Dix blocs paraffinés de biopsie de patients atteints de cancer bronchique répertoriés et archivés dans le laboratoire d'Anatomie pathologique du CHU Issad Hassani de Béni Messous, ont fait l'objet de la présente étude.

II. 1. 2. Matériel non biologique

Une variété d'appareillages et de réactifs était indispensable à la réalisation de notre étude. L'ensemble du matériel est clairement démontré dans l'annexe 1.

II. 2. Méthodes

L'étude qu'on a menée sur le cancer pulmonaire comportait deux principaux volets à savoir, une enquête épidémiologique rétrospective et une étude anatomopathologique.

II. 2. 1. Etude rétrospective

L'étude rétrospective a porté sur 135 cas de cancer du poumon non métastatique confirmés histologiquement durant la période entre 2016 et 2019. Plusieurs paramètres ont été inclus dans cette étude. Ainsi, les caractéristiques épidémiologiques, cliniques, anatomopathologiques et le suivi des patients ont été analysés par notre étude.

L'assemblage des données a été fait à partir des dossiers de patients et des renseignements accompagnant les prélèvements. Le diagnostic des cas s'est basé principalement sur l'examen histologique.

II. 2. 2. Etude prospective

L'étude prospective menée entre Décembre 2019 et Août 2020 s'est basée principalement sur l'analyse anatomopathologique de dix cas de cancer pulmonaire. La sous-classification exacte de ces cas, entre un carcinome épidermoïde ou autre, était fondamentale pour une bonne prise en charge thérapeutique des patients. L'étude anatomopathologique a été faite en plusieurs étapes comme décrit ci-dessous.

II. 2. 2. 1. Analyse macroscopique

A l'œil nu, le prélèvement a été décrit, mesuré, pesé, palpé et éventuellement schématisé ou photographié. Ensuite, des fragments de petites tailles (biopsies) ont été mis en totalité dans une cassette plastique puis dans le formol à 10 % pour les fixer. Pour les grosses pièces, on a sélectionné des tranches d'intérêt (à des zones lésées) suivant le protocole adapté à la pathologie.

II. 2. 2. 2. Analyse histologique

Les étapes décrites ci- dessous ont été effectuées en vue d'obtenir des coupes histologiques colorées à partir des fragments précédemment mis en cassettes, afin de les observer au microscope ce qui a permis donc, d'identifier des lésions, des tumeurs malignes ou bénignes ou d'autres observations dans le tissu.

- **Fixation** : elle était indispensable pour conserver la morphologie cellulaire. Cette étape doit être immédiate ou au moins très rapidement débutée après l'obtention du prélèvement. Toute fixation défectueuse rend l'étude anatomopathologique difficile voire impossible en raison de la dessiccation et/ou autolyse du tissu. Ces dernières ont été fixées dans le formol pendant environ 24 heures.
- **Déshydratation et imprégnation** : la déshydratation a été faite via remplacement de l'eau des prélèvements par l'alcool pour permettre son imprégnation dans la paraffine. Cette phase a été effectuée dans un automate Leica composé de 6 bacs d'éthanol à ces différentes concentrations : 50°, 60°, 70°, 80°, 90°, et 100°. Passant ensuite par du xylène, un mélange de xylène et paraffine et enfin par 2 bacs de la paraffine fondue. Le cycle a une durée d'environ 14 heures.

- **Inclusion et mise en bloc** : le moulage du prélèvement a été effectué dans un bloc de paraffine. Après refroidissement et démoulage des blocs de paraffine, chaque bloc était arrangé dans le microtome Leica.
- **Préparation des coupes et séchage** : la confection des coupes très fines de 3 μm d'épaisseur a été faite grâce à un microtome pour obtenir une seule couche de cellules. Ces coupes s'attachent les unes aux autres pour former un ruban. Quelques coupes du ruban ont été étalées sur des lames propres. Les lames ont été placées dans une étuve réglée à 42 °C pendant une nuit pour augmenter l'adhérence des coupes sur les lames.
- **Déparaffinage et réhydratation** : la dissolution de la paraffine de tissu a été faite en immergeant les lames dans des bains de xylène pendant 5 min. Par la suite, les coupes ont été réhydratées dans des bains d'alcool de degré décroissant (100°, 90-80° et 70°).
- **Coloration** : Après la réhydratation. La coloration de routine, hématoxyline et l'éosine (H&E) a été effectuée par des passages dans un bain des hématoxylines pendant 3 min suivie avec deux lavages avec de l'eau courant pendant 5 min, chacun. Par la suite, les lames ont été mises dans un bain d'éosine pendant 1 min puis rincés avec de l'eau courante. Les lames ont été soumises ensuite à quatre bains d'alcool croissant puis mises dans trois bains de xylènes pour l'éclaircissement. Cette coloration dichromatique a permis donc, de colorer : les noyaux en bleu/violet par l'hématoxyline et les cytoplasmes en rose par l'éosine.
- **Montage et observation** : par l'utilisation d'une résine synthétique « Eukitt », des lamelles très fines ont été collées sur les lames qu'ils sont nettoyés avec le xylène. Les lames séchées à l'air ont été ensuite examinées au microscope optique à différents grossissements (X40, X100 et X400) puis interprétées. A la fin, des photos ont été prises avec un photo-microscope puis traitées par un logiciel Leica (Asez).

II. 2. 2. 3. Etude immunohistochimique

Le traitement de carcinome épidermoïde dépend d'une identification et d'une classification bien assurés qu'il est souvent basé sur l'observation des coupes avec la coloration standard sous le microscope. Mais, celui-là peut être difficile si on est dans les cas où l'apparence morphologique n'est pas adéquate pour la classification. Dans ces cas, des colorations immunohistochimiques (IHC) sont nécessaires. L'immunohistochimie permet la localisation et la quantification des protéines dans les cellules sans les détruire par la détection d'antigène (ex : le P40 et la P63) grâce à un anticorps primaire à épitope spécifique à l'antigène qu'il est capturé par un anticorps secondaire couplé à une enzyme. Le couple anticorps/enzyme réagit avec un substrat pour donner une réaction colorée facile à visualiser au microscope (**figure 13**) ; (**Kim et al. 2016**).

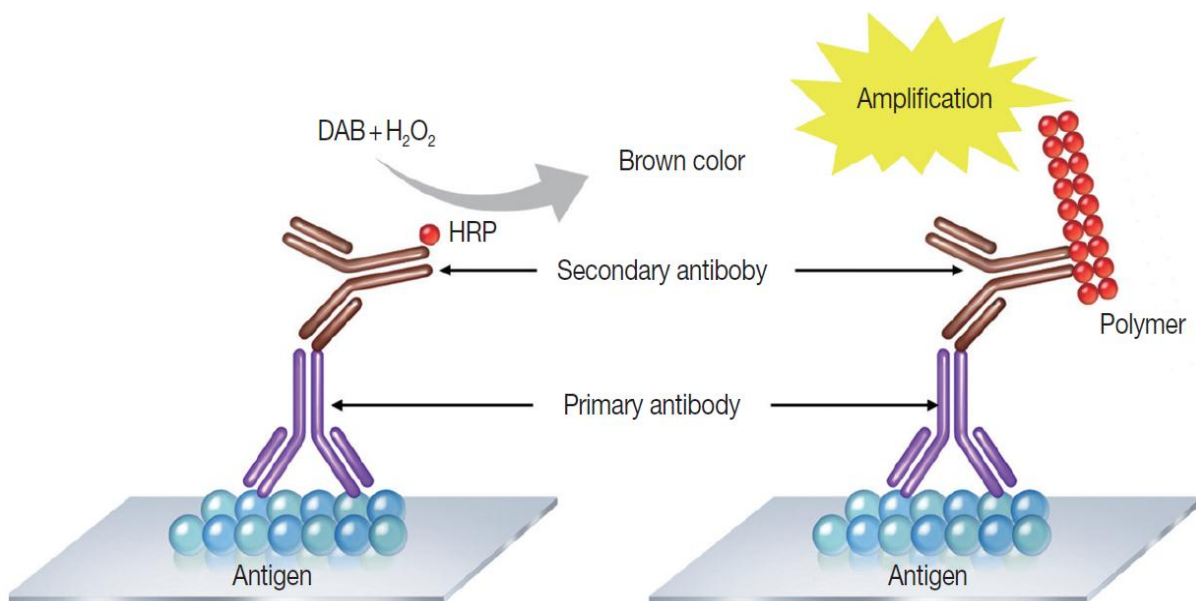


Figure 13 : Illustration de technique d'immunohistochimie indirect (**Kim et al. 2016**).

Toutes les étapes et le protocole de l'IHC ont été réalisés comme suit :

- ❖ **Préparation des coupes** : les blocs en paraffine déjà préparée et conserver dans l'archive de laboratoire ont été récupérés pour réaliser des coupes histologiques de 2 à 3 μm . Ces derniers ont été étalés sur des lames silanisées. Le silane (SiH₄) sur les lames permet de fixer la coupe histologique et lui permet de résister à la chaleur, les lames ont été ensuite séchées, déparaffinées et réhydratées.

- ❖ **Démasquage des sites antigéniques** : malgré des qualités de conservation supérieures, sur le plan de la morphologie, les échantillons fixés dans le formol et inclus dans la paraffine peuvent perdre une partie ou l'intégralité de leur immuno-réactivité en raison de la formation des lisions entre les protéines qui rendent les épitopes inaccessibles pour les anticorps. La récupération des épitopes peut être améliorée grâce à une technique appelée « récupération d'épitopes induite par la chaleur » (HIER). Pour appliquer cette technique on a utilisé une solution de récupération : TRS (Target Retrieval Solution) concentré à 50 fois. Les échantillons émergés dans cette solution ont été exposés à la chaleur à 96°C générée par un bain-marie, pendant une durée de 35 jusqu'à 40 minutes.
- ❖ **Refroidissement et lavage** : les lames devaient être doucement refroidies pendant 20 minutes à l'air ambiant afin d'éviter le choc thermique. Ensuite, les lames ont été lavées avec de l'eau distillée puis avec un tampon TBS-T (tris-buffer saline solution containing tween concentré à 20 fois, pH 7, 6). Après avoir coulé les dernières gouttelettes sur les lames, on a utilisé un stylo « Dako Pen » pour tracer un cercle hydrofuge autour des coupes de tissus. Ce cercle fournit une barrière aux liquides tels que, les solutions d'anticorps appliquées aux coupes, aidant ainsi à obtenir des résultats des colorations immunohistochimiques plus uniformes et permet de réduire la quantité de réactifs. Enfin, les lames ont été gradées dans un milieu humide noire pendant une nuit.
- ❖ **Inhibition des peroxydases endogènes** : la peroxydase endogène doit être bloquée dans l'IHC pour l'empêcher de réagir avec le substrat et donner des résultats faussement positifs. L'inhibition a été faite par l'ajout de H₂O₂ sur les lames, Après une période d'incubation de 5 minutes, les lames ont été immergées dans trois bains de tampons TBS-T froid, pendant une durée de 5 minutes, pour chaque bain.
- ❖ **Immunomarquage** : 100µl d'anticorps primaires (de P40 ou de P63) ont été ajoutés. Le clone 4A4 de l'anticorps P63 utilisé dans cette étude reconnaît P63 et son domaine de trans-activation. D'autre part, le clone d'anticorps de P40 utilisé dans cette étude (PDR055) reconnaît spécialement l'isoforme tronqué en N-terminale de la protéine P63 (ΔNP63) qui est démontrée comme étant plus spécifique des cellules squameuses. Suivant, une incubation des lames a été faite à l'ombre pendant 35 minutes dans une température ambiante, puis un lavage des lames a été effectué avec le TBS-T trois fois, pendant 5 minutes chacun.

- ❖ **Anticorps secondaire** : l'ajout d'anticorps secondaire est suivie par une incubation durant 15 à 30 minutes dans une température ambiante à l'abri de la lumière. Puis on lave les lames avec le TBS-T trois fois pendant 5 minutes chacun.
- ❖ **Révélation** : On a ajouté aux lames, un mélange de gouttes de chromogène DAB (3,3-diaminobenzidine) et 1 ml de tampon tween pendant 2 à 3 minutes à température ambiante. Enfin, le rinçage des lames a été ensuite réalisé avec de l'eau distillé puis bleuir dans une solution ammoniacale (3%) puis par un deuxième lavage avec de l'eau distillé.
- ❖ **Contre coloration** : après la coloration immunohistochimique de l'antigène cible, une seconde tâche est souvent appliquée pour fournir un contraste avec le chromogène pour une meilleure discrimination du signal cible. Pour cela, on a plongé les lames dans l'hématoxyline de Mayer pendant trois minutes, puis on a rincé avec de l'eau courant. Ensuite, on bleuir les lames dans une solution ammoniacale et on les rince avec l'eau distillée.
- ❖ **Montage et observation** : les lames ont été déshydratées dans l'alcool croissant (alcool 70 °C, alcool 90 °C, alcool absolu [x2], Xylène [x3]) puis dans le toluène pour l'éclaircissement. On a monté une lamelle sur chaque lame par Eukitt et les séché dans l'air libre. Les lames ont été examinées au microscope optique à différents grossissements (X40, X100 et X400) puis interprétées par le medecin pathologiste qui rédige et signe un compte rendu. Des photos ont été prises avec un photo-microscope et ensuite traitées par un logiciel Leica (Asez).

II. 3. Analyse statistique

L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel SPSS version 25,0 (IBM Corp, Armonk, NY, États-Unis).



CHAPITRE III :

RESULTATS ET DISSCUSION

Dans cette partie, les résultats atteints sont présentés, sous forme des tableaux, secteurs et micrographies, interprétés et discutés selon la bibliographie.

III. 1. Etude rétrospective

Au total 135 cas de carcinome épidermoïde (SCC) ont été recensés au sein du service d'anatomie pathologie de CHU à Béni Messous, durant la période entre le 1^{er} janvier 2016 et 30 décembre 2019.

III. 1. 1. Répartition des patients selon l'année de recrutement

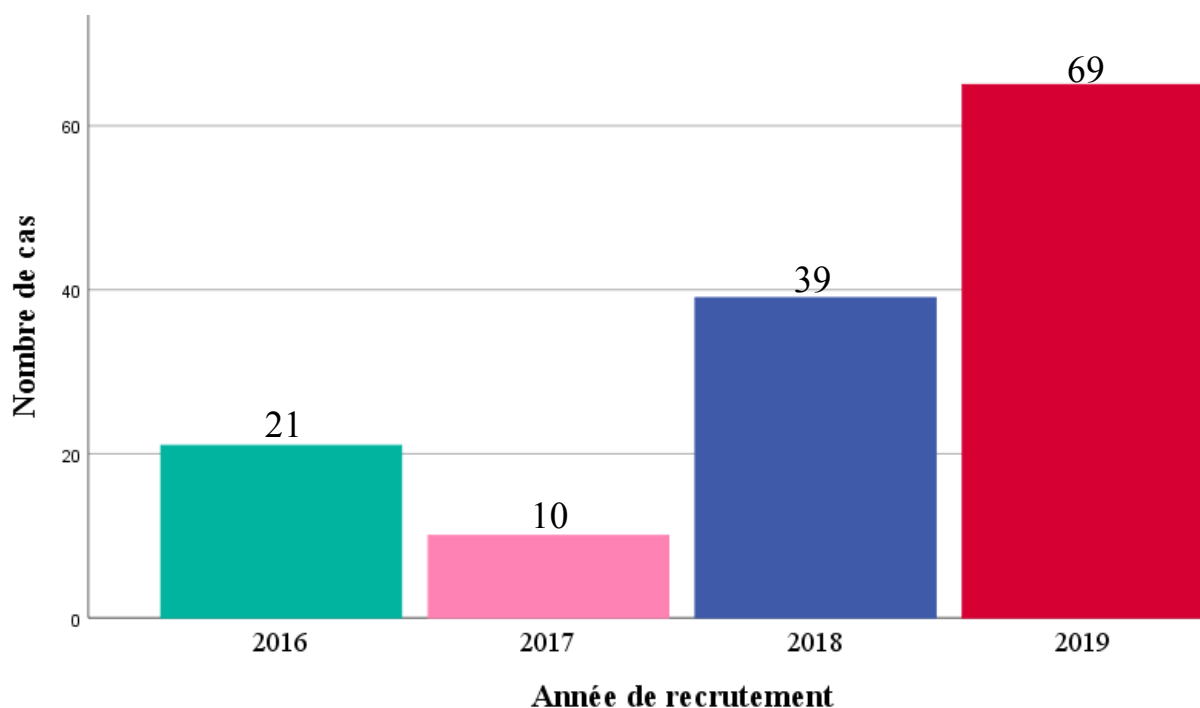


Figure 14 : Répartition de cas selon l'année de recrutement.

Sur une période de quatre ans, 135 cas incidents de carcinome épidermoïde ont été diagnostiqués avec un nombre important de 69 cas (48.1 %) au cours de l'année 2019 suivis de 39 cas (28.9 %) pendant l'année 2018, 21 cas (15.6 %) en 2016 tandis que, seulement (7.4 %) en 2017. Enfin, on dénombre une moyenne d'environ 34 cas incidents de carcinome épidermoïde par an. (**Figure.14 ; tableau 3, annexe 2**).

Nos résultats étaient similaires à la plupart des données rapportées par la littérature (**Zhang et al. 2018**). L'incidence du carcinome épidermoïde a été importante en 2019 (69/135 cas). Cela est dû probablement à la sensibilisation de la population vis-à-vis du cancer rendant diagnostic plus rapide et plus fréquent.

III. 1. 2. Répartition des cas par sexe

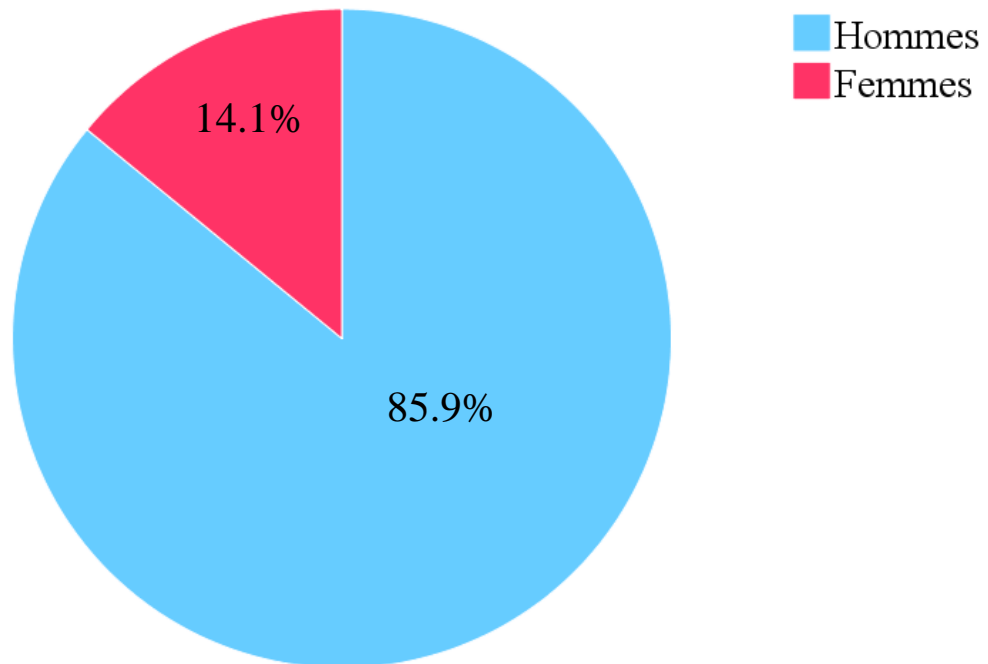


Figure 15 : Répartition des cas par sexe.

La répartition des cas par sexe montre une prédominance masculine de 116 cas (85.9 %) par rapport à 19 cas (14.1 %) notés chez les femmes. Le sex-ratio homme/femme était de 6,10 (**Figure. 15 ; tableau 4, annexe 2**).

La prédominance masculine a été retrouvée dans la plupart des études nationales comme celle de **Otsmane et al. (2018)** et internationales (**Ting et al. 2016**).

Ceci s'explique probablement par la consommation excessive de tabac, un facteur de risque important du carcinome épidermoïde, chez les hommes par rapport aux femmes qui sont moins sujettes à cette pratique (**MacRosty and Rivera 2020**).

III. 1. 3. Répartition des cas par tranche d'âge

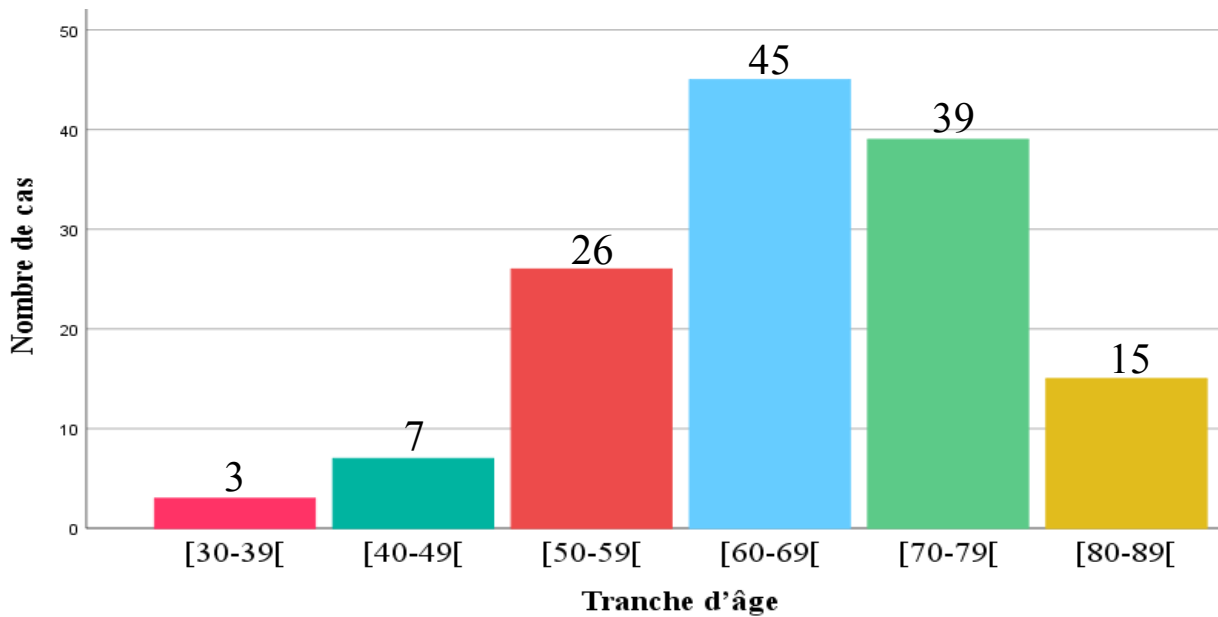


Figure 16 : Répartition de cas par tranche d'âge.

Dans notre étude, l'incidence du SCC était élevée après 50 ans et devient encore plus importante chez les sujets âgés entre 60 et 69 ans, avec 45 cas (33.3 %). La moyenne d'âge était de 65.68 ± 11.81 ans (**Figure. 16 ; tableau 5 ; annexe 2**).

Des résultats similaires à celle de nous ont été rapportés par **Fidler et al. (2020)**. Dans notre contexte, l'affaiblissement du système immunitaire avec l'âge, le mode de vie et le taux et la période de consommation de tabac peuvent expliquer la fréquence des SCC chez les sujets âgés. Cependant, l'implication de ces facteurs doit être confirmée par des études épidémiologiques plus poussées à la recherche d'autres facteurs environnementaux chez les personnes âgées de moins de 50 ans.

Par ailleurs, chez les personnes âgées entre 30 et 39 ans, seulement trois cas (2.2 %) ont été collectés durant les quatre ans. Le même résultat a été rapporté par une étude à Pologne (**Kozielski et al. 2012**).

Cependant, nos résultats étaient inférieurs pour cette catégorie par rapport aux résultats d'une autre étude, qui ont noté 10.9 % de cas pour la catégorie d'âge entre 31 et 40. Nous n'avons pas été en mesure de clarifier l'incidence du tabagisme dans cette catégorie, car le statut de ce dernier n'est pas saisi dans les renseignements des patients, pour cela on propose de

motiver les médecins pour enquérir les relations des malades avec des membres de famille de 1^{er} degré fumeurs, car toute forme d'exposition au tabagisme augmente le risque de cancer du poumon (Liu et al. 2015 ; Nasim et al. 2019).

Néanmoins, un corpus croissant de littérature suggère que, le NSCLC chez les non-fumeurs présente plusieurs caractéristiques cliniques, pathologiques et moléculaires distinctes impliquant qu'il pourrait s'agir d'une maladie différente par rapport au NSCLC chez les fumeurs (Bhopal et al. 2019).

III. 1. 4. Répartition des patients selon l'âge par sexe

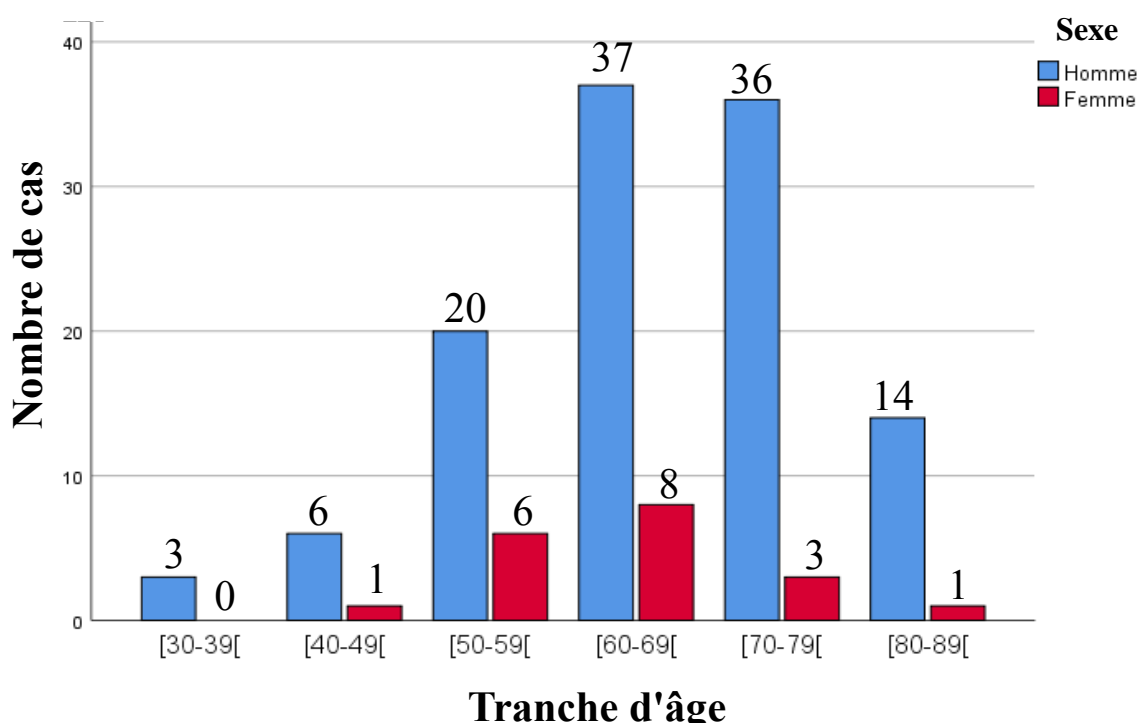


Figure 17 : Répartition des patients selon l'âge par sexe

Selon nos résultats, l'âge moyen des hommes était plus élevé par rapport à celui des femmes (66.04 ± 13.52 ans contre 63.10 ± 9.79 ans). De plus, nos données ont montré que le SCC survient souvent chez le sujet âgé de plus de 60 ans pour les deux sexes.

Toutefois, la minorité des cas été enregistré chez les patient âgés entre 80 et 89 ans, pour les deux sexes. Pour ce qui est de la tranche d'âge comprise entre 30 et 39 ans, seulement trois hommes ont été enregistrés (Figure 17 ; tableau 6, annexe 2).

Nos résultats étaient similaires à la plupart des données rapportées par la littérature portant sur la prédominance masculine après l'âge de 50 ans chez des patients atteints de NCSLC. En revanche, ils sont contradictoires avec la prédominance masculine avant l'âge de 50 ans (**Franceschini et al. 2017 ; Ahmedin et al. 2018**).

Ces résultats doivent être confirmés par des études épidémiologiques plus poussées à la recherche des facteurs justifiant ces constatations.

III. 1. 5. Répartition des patients selon l'apparition des symptômes

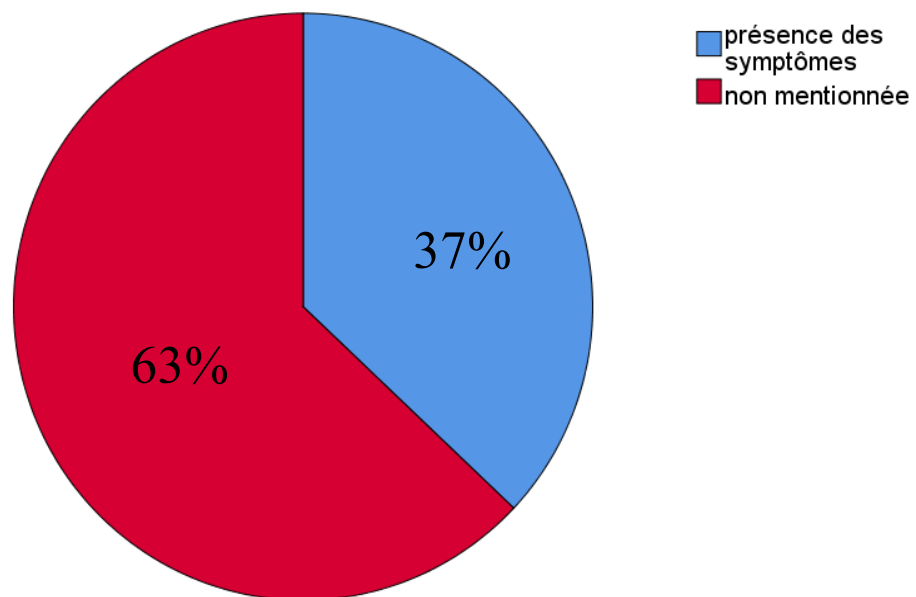


Figure 18 : Répartition des patients selon l'apparition des symptômes.

D'après nos résultats, la majorité des patients soit 63 % des cas, n'avait pas de symptômes bien déterminés (**Figure 18 ; tableau 7, annexe 2**).

Nos résultats sont contradictoires avec ceux trouvés par **Nasim et al. (2019)**, qui ont montré que 50 % des patients étaient symptomatiques.

Ce résultat peut être expliqué par le dépistage précoce du cancer pulmonaire surtout chez les patients âgés de plus de 60 ans qui présentent d'autres maladies chroniques et qui consultent les médecins plus fréquemment.

III. 1. 6. Répartition des patients selon les manifestations cliniques

Les principaux symptômes qui ont caractérisé nos cas, soit 50 patients étaient : la toux notée chez 30,3 %, une dyspnée d'effort (17,4 %), une hémoptysie (17,4 %), les douleurs thoraciques (12.8 %), l'asthénie (7,3 %) ainsi qu'une altération de l'état général chez 5.5 % des cas. (**Figure. 19 ; tableau 8, annexe 2**).

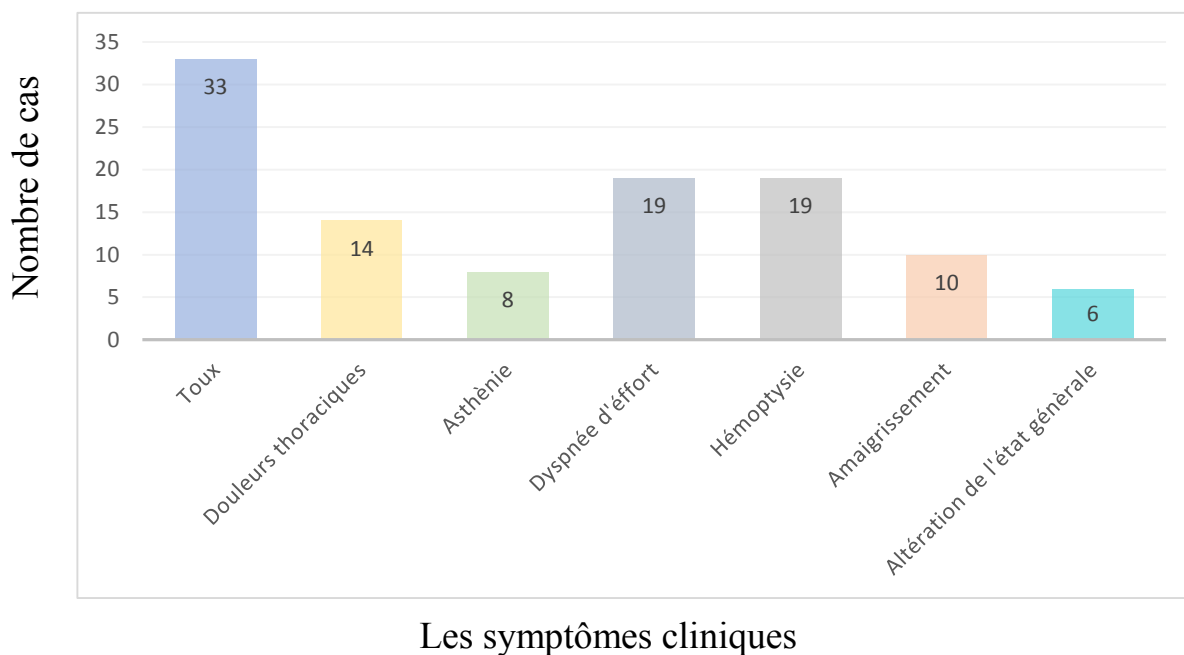


Figure 19 : Répartition des patients selon les manifestations cliniques.

Nos résultats sont similaires à ceux rapportés dans la plupart des séries de la littérature (**Athey et al. 2018**).

III. 1. 7. Répartition des patients selon le siège de la tumeur

Dans notre série portant sur 135 cas de SCC de poumons, le siège de la tumeur le plus fréquent était le poumon droit noté chez 57 % des cas .Nos résultats sont similaires à la plupart des séries rapportées dans la littérature (**Figure 20 ; tableau 9, annexe 2**) ; (**Albasri 2019**).

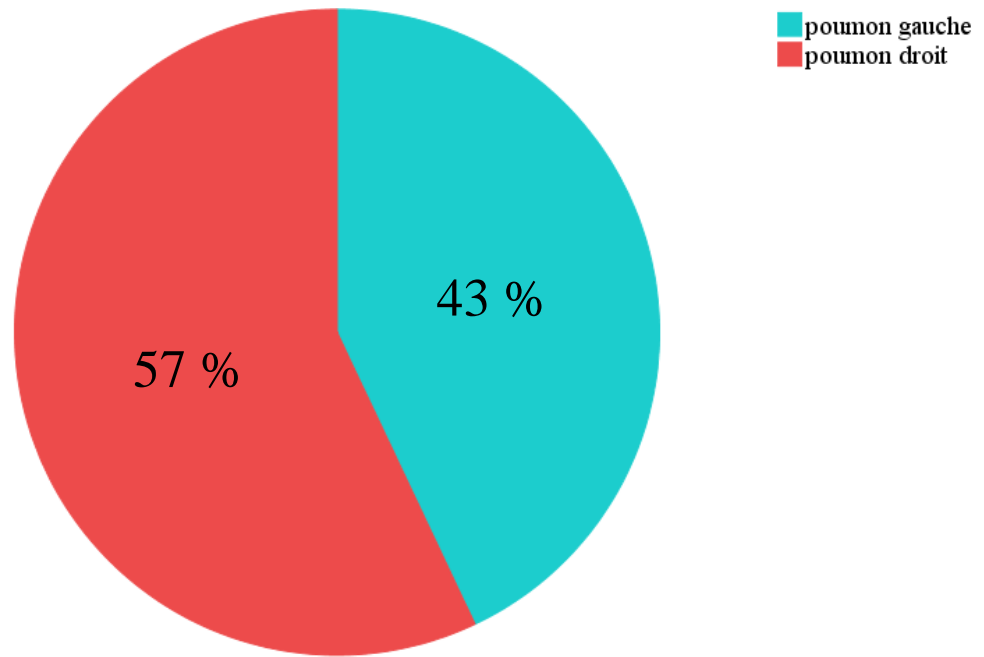


Figure 20 : Répartition des patients selon le siège de la tumeur.

III. 1. 8. Répartition de cas selon l'état de différenciation cellulaire

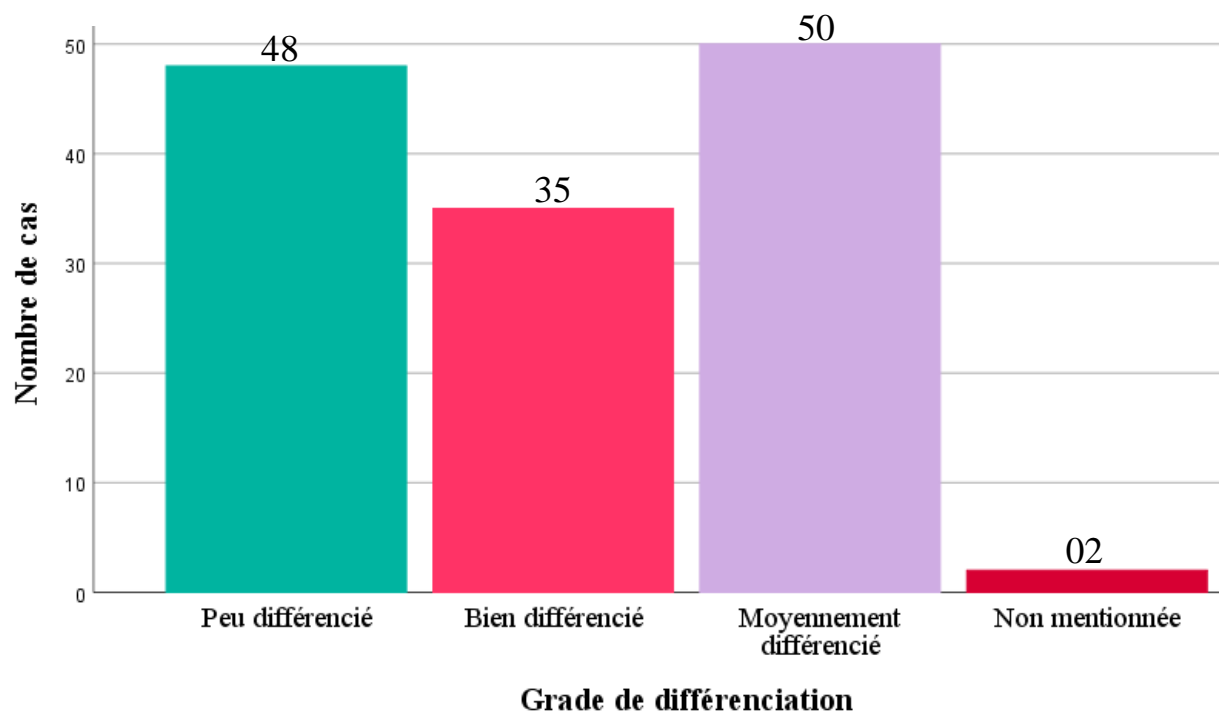


Figure 21 : Répartition de cas selon l'état de différenciation cellulaire.

Les résultats obtenus ont montré une prédominance du SCC moyennement différencié soit 37 % des cas. Par rapport au carcinome peu différencié noté chez 35 % des cas. Enfin, le SCC bien différencié a été noté uniquement chez 25 % des cas. Ces pourcentages concordent avec ceux de l'étude menée par **Albarisi (2019)** ; (**Figure 21** ; **tableau 10, annexe 2**).

III. 1. 9. Répartition des patients selon le sous- type histologique

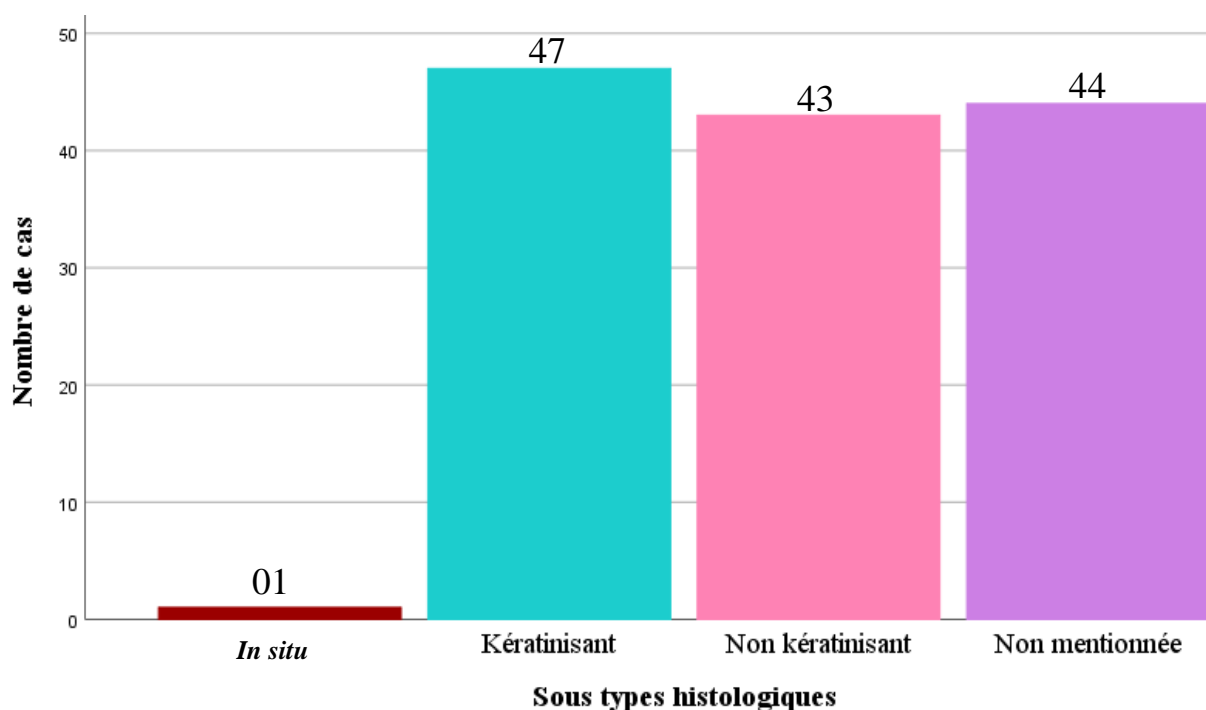


Figure 22 : Répartition des patients selon le sous- type histologique.

Une prédominance de SCC kératinisant (34.8 %) a été notée, dans notre série par rapport, aux SCC non kératinisant (31.9 %) tandis que, seulement un cas de SCC *in situ* (0.7 %) a été enregistré. Ces pourcentages concordent avec ceux obtenus par l'étude de **Park et al. (2017)** ; (**Figure 22** ; **tableau 11, annexe 2**).

III. 1. 10. Répartition des patients selon le tabagisme

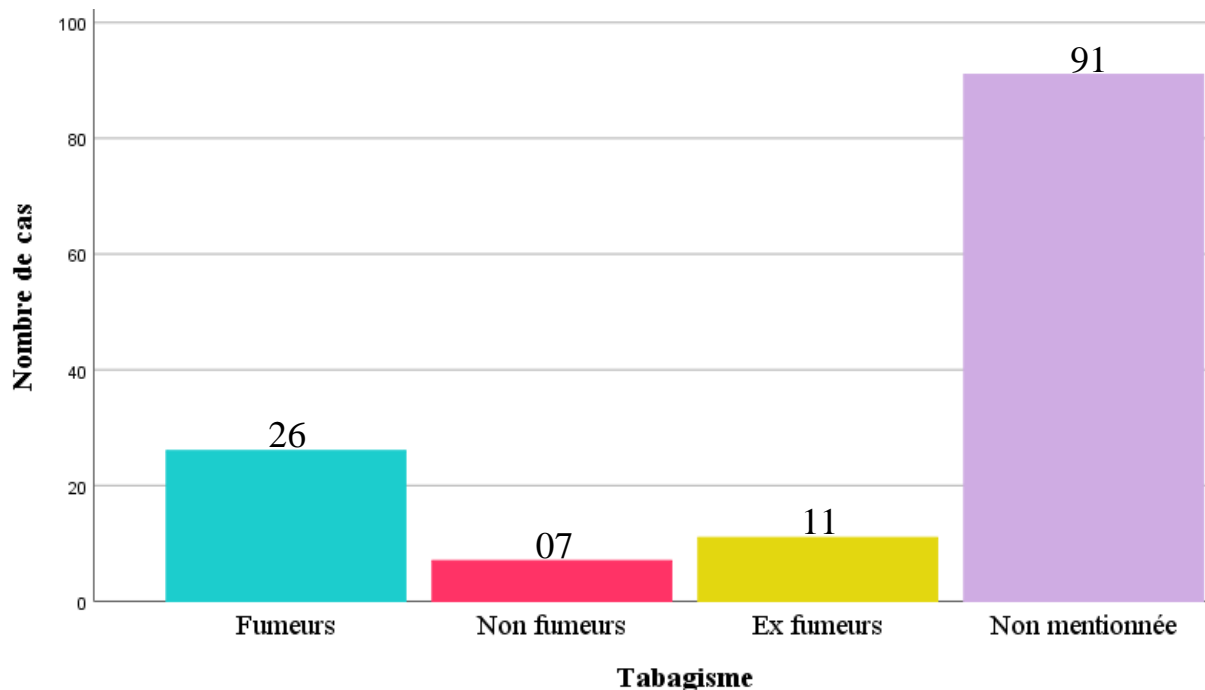


Figure 23 : Répartition des patients selon le tabagisme.

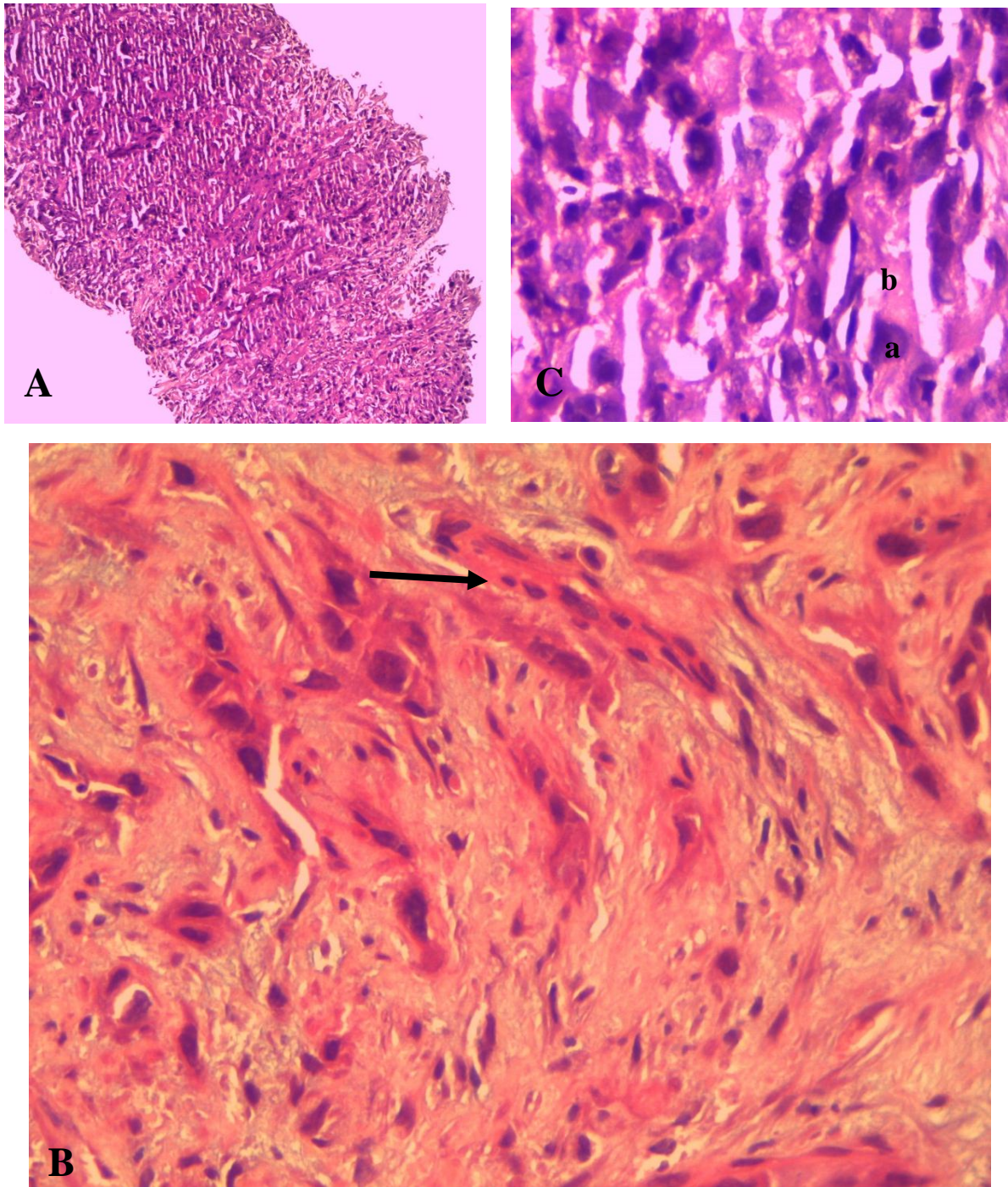
Nos données ont démontré que la majorité des cas (soit, 19.3 %) avec facteurs de risque bien mentionnés, était des fumeurs par rapport aux ex fumeurs qui n'ont représenté que 8,1 %. D'autre part, seulement ,5.2 % des cas étaient non-fumeurs. La moyenne de consommation de tabac était égale à 49.19 paquets par an. Nos résultats sont similaires à la plupart des séries rapportées dans la littérature (**Figure 23** ; **tableau 12, annexe 2**) ; (**Bing et al. 2020**).

III. 2. Etude prospective

Les résultats d'observation des coupes histologiques et du marquage immunohistochimique réalisé sur les 10 cas de carcinome épidermoïde sont présentés sous forme de micrographies et de tableaux.

III. 2. 1. Etude histopathologique

Les fragments biopsiques montrent à l'examen microscopique une muqueuse bronchique siège d'une prolifération épithéliale maligne de nature épithéliale faite de massifs de cellules polygonales à cytoplasme abondant éosinophile. Le noyau est hyper chromatique fortement atypique, siège de mitose atypique.



a : noyau ; **b** : cytoplasme.

Figure 24: Coupe histologique d'un patient atteint de carcinome épidermoïde, travées de cellules tumorales (flèche) dans un stroma fibro-inflammatoire. Coloration H&E; Gr: x40 (A); x100 (B); x400 (C).

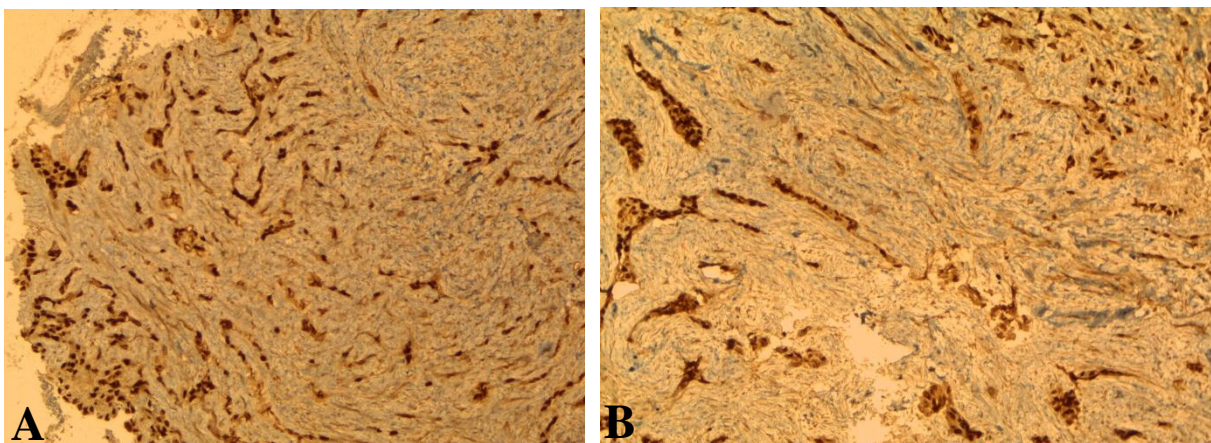
III. 2. 2. Etude immunohistochimique

Dix cas de carcinome épidermoïde ont bénéficié d'un marquage avec le P40 et P63. Les résultats obtenus sont présentés sous forme de figures et de tableaux, comme décrit ci-dessous :

Tableau 2 : Résultats de marquage immunohistochimique avec le P40 et le P63.

Numéro de cas	Résultat de marquage avec le P40	Résultats de marquage avec le P63
1	positif	négatif
2	positif	négatif
3	positif	positif
4	positif	positif
5	positif	positif
6	positif	positif
7	positif	positif
8	positif	positif
9	positif	positif
10	positif	positif

Tous les 10 cas de SCC étaient P40 positif (100 %). Nous avons détecté un marquage de P63 positif dans 08 cas (80 %) de SCC (**tableau 2**).



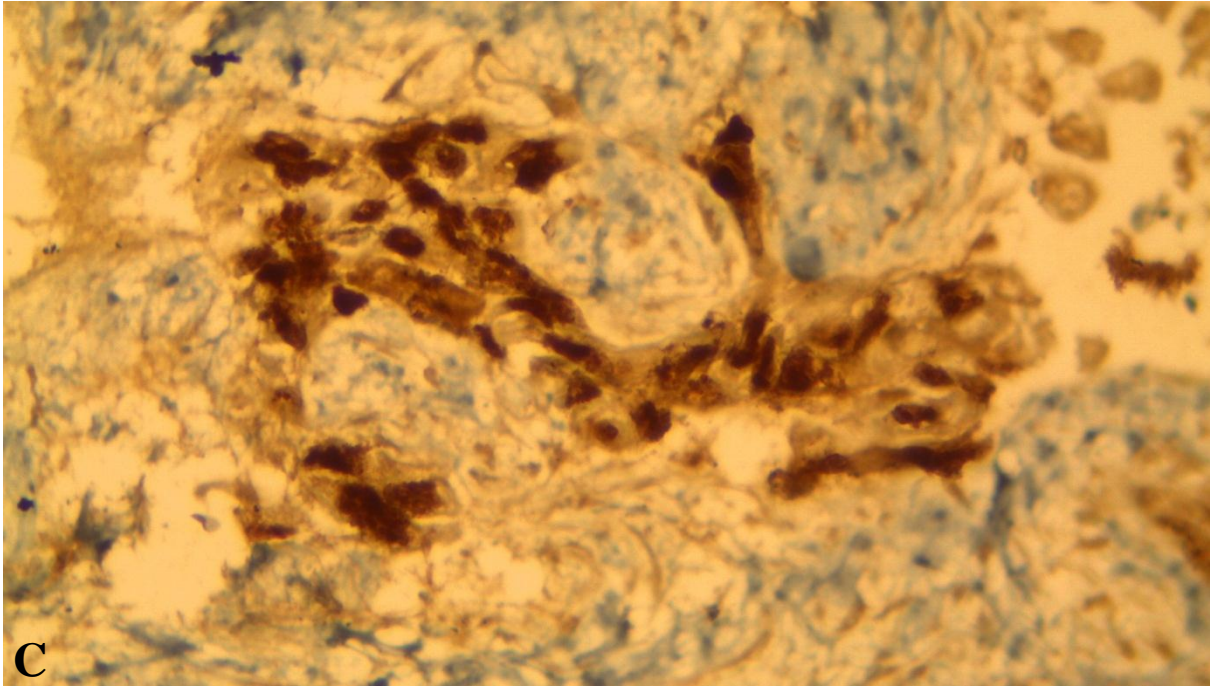
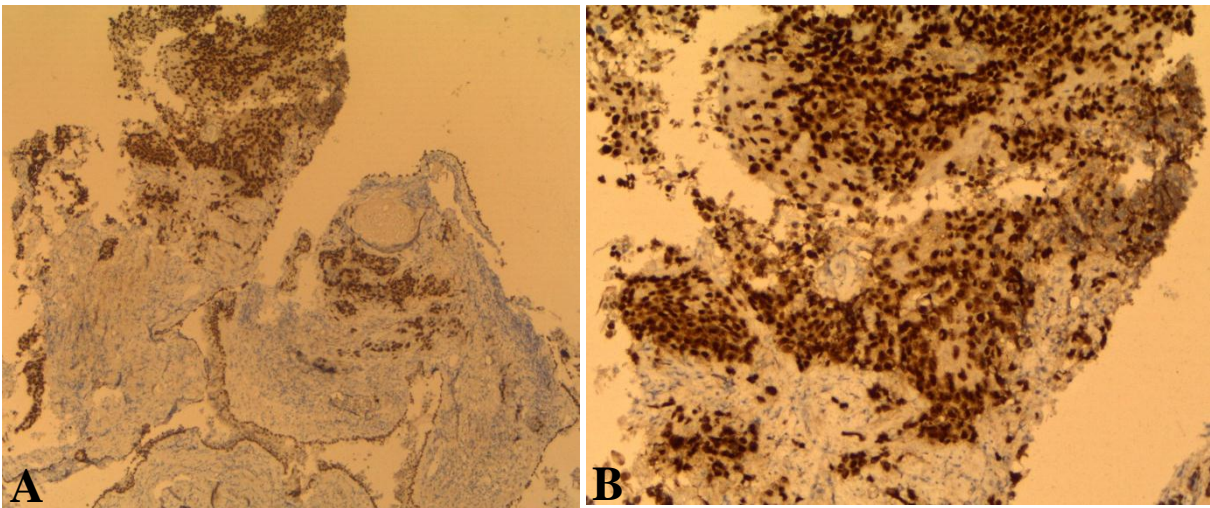


Figure 25 : Immunomarquage positif de P40 dans un cas de carcinome épidermoïde pulmonaire, marquage nucléaire intense diffus de toutes les cellules tumorales Gr. : x40 (A) ; x100 (B) ; x400 (C).



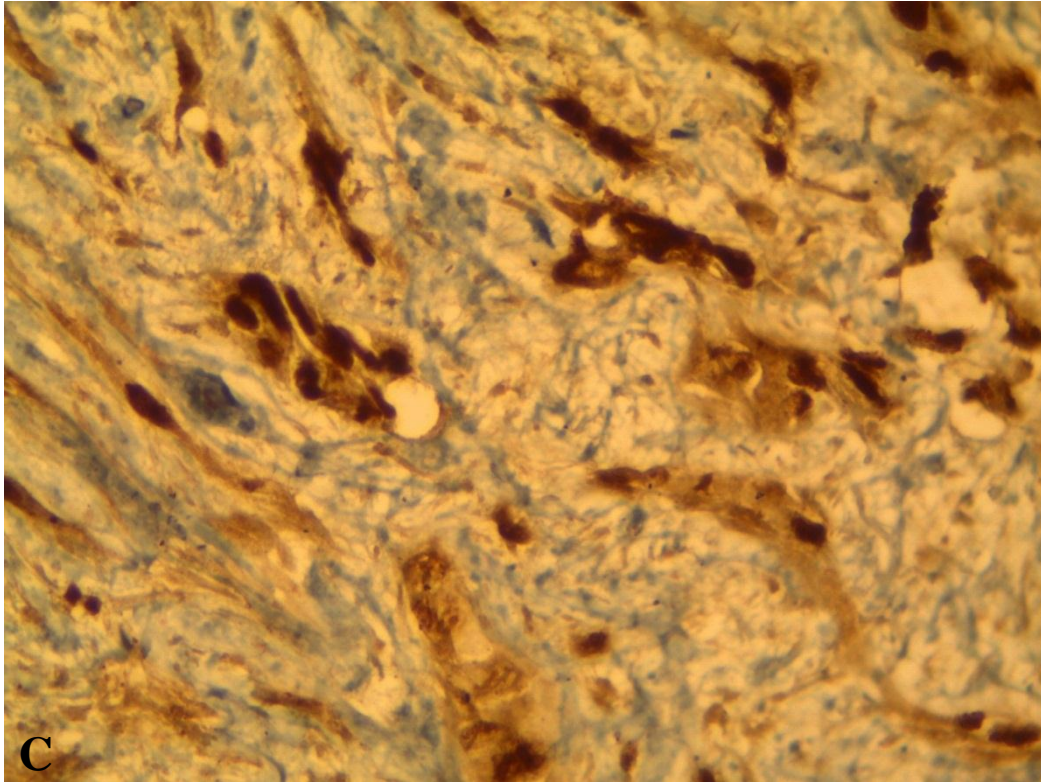


Figure 26 : Immunomarquage positif de P63 dans un cas de carcinome épidermoïde pulmonaire, marquage nucléaire intense diffus des cellules tumorales . Gr. : x40 (A) ; x100 (B) ; : x400 (C).

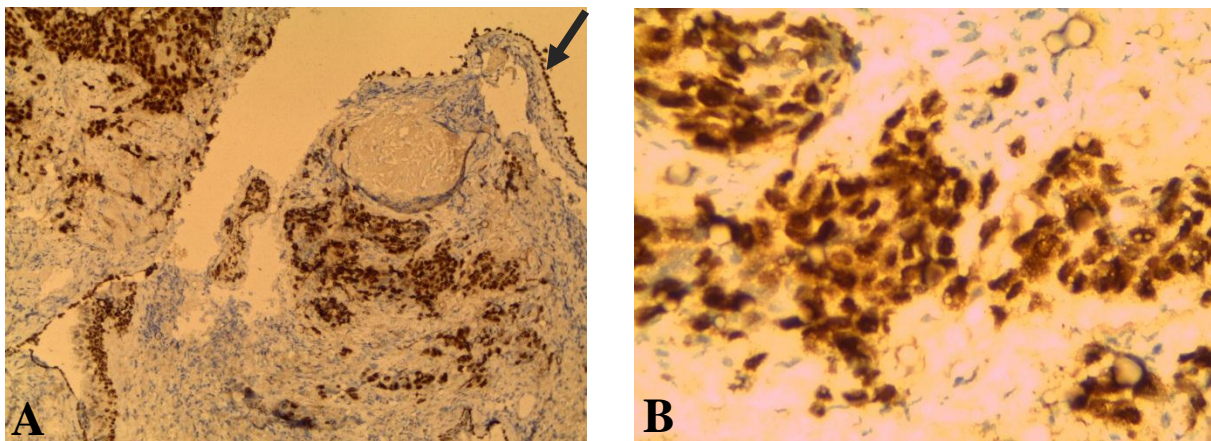


Figure 27 : Immunomarquage positif de P63 et P40 dans un cas de carcinome épidermoïde pulmonaire. Marquage intense diffus des cellules tumorales avec marquage de l'épithélium de surface (témoin) (flèche). Gr. : x40 (A) ; x400 (B).

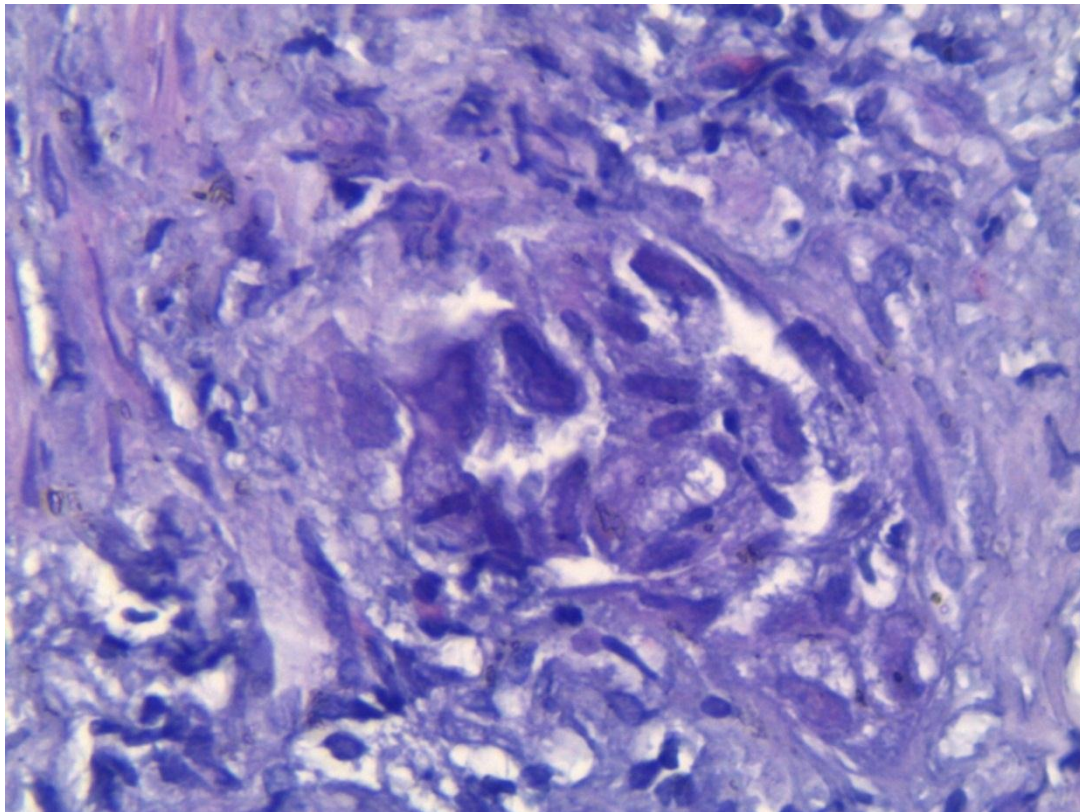


Figure 28 : Carcinome épidermoïde. Immunomarquage négatif de P63. Gr. : x400.

Morphologiquement, le SCC est reconnu par la kératinisation, les perles de kératine et les ponts intercellulaires. Cependant, sa distinction peut être difficile, en particulier dans les tumeurs peu différenciées. Dans de tels cas, des marqueurs immunohistochimiques sont recommandées pour un sous-typage histologique précis (Zheng 2016 ; Suarez et al. 2017).

À ce jour, le WHO recommande que les cas soient classés en NSCLC, en faveur d'un adénocarcinome lorsqu'ils sont positifs pour un marqueur d'ADC (TTF1 ou mucine) avec un marqueur squameux négatif (P63 ou P40). Inversement, les cas présentant une coloration diffuse au moins modérée pour un marqueur épidermoïde et un marqueur d'adénocarcinome négatif doivent être classés comme NSCLC, favorisant le carcinome épidermoïde (Travis et al. 2015).

Bien que la plupart des tumeurs pulmonaires puissent être classées avec précision par le co-marquage de TTF1 et P63, un petit pourcentage de cas présentent des schémas de coloration chevauchant (TTF1 + / P63 +) ou des résultats non déterminants (TTF1 - / P63 + faible), entraînant ainsi, une mauvaise interprétation et un diagnostic incorrect. La réactivité fréquente de P63, en particulier dans les adénocarcinomes et les lymphomes, est un défi important dans

le diagnostic de cancer du poumon (**Vidarsdottir et al. 2018 ; Del et al. 2018 ; Wan et al. 2019**).

Dans les études menées sur des biopsies, un immunomarquage négatif de P63 a été noté chez 4/51 cas soit 7.27 %. De plus, ce même résultat a caractérisé 36/569 des cas soit 6 %, selon l'étude de **Riegsmann et al. (2019)**. D'autres travaux ont démontré un immunomarquage négatif de P63 chez 5/35 des cas (14.2 %). Sur la base des données de la littérature, le P40 a démontré une positivité chez 15/15 cas soit 100 % des patients, démontrant ainsi, sa fiabilité pour le diagnostic du carcinome épidermoïde (**Affandi et al. 2018 ; Jing et al. 2020**).

Notre étude a été menée pour explorer l'expression immunohistochimique de P40 et P63 dans des biopsies de carcinomes épidermoïdes pulmonaires. Les résultats de notre étude étaient conformes aux rapports précédents qui ont soulignées que le P40 était plus spécifique que l'anticorps P63 standard pour le diagnostic de carcinome épidermoïde du poumon.

Cependant, les résultats de notre étude sont contradictoires à ceux obtenus par **Mawas et al. (2018)** qui ont noté un marquage positif de la P63 chez 100 % des patients (56/56 cas) et un pourcentage de 98.2 % (55/56) pour la P40.

Par ailleurs, l'étude de **Alexander et al. (2017)** et de **Siddiqui (2017)** sont montrés un marquage positif équivalent pour les deux marqueurs à 100 % et 92 % des cas (31 cas et 33/36 cas) respectivement. Alors que, **Kadota et al. (2015)** ont reclassé 31 cas (6,5%) de tumeurs pulmonaires initialement diagnostiquées comme carcinomes épidermoïdes dans d'autres sous-types histologiques sur la base d'une coloration P40 négatif. Parmi 04 biopsies de SCC, **Nakajima et al. (2019)** ont trouvé 03 échantillons négatifs pour le P40.

En ce qui concerne la co-expression de TTF1 et P40, des travaux ont décrit 03 cas inhabituels de NSCLC avec co-expression de TTF1 et P40 dans les mêmes cellules. Ce qui en effet, augmente l'incertitude vers la fiabilité de le P40 pour la distinction des SCC, suggérant ainsi une nouvelle entité potentielle à considérer (**Giuseppe et al. 2015 ; Takuo et al. 2018 ; Spinelli et al. 2019**).

En raison de l'hétérogénéité histologique des cancers pulmonaires, d'autres travaux sur un échantillon représentatif des cas mal différenciés sont fortement recommandés afin de déterminer la sensibilité et la spécificité des marqueurs P63 et P40 dans la définition des sous-types de NSCLC. Une approche en trois volets via l'utilisation de P63, P40 et TTF1 dans les

cas de carcinome avec une différenciation tumorale complexe va aider certainement à atteindre un diagnostic spécifique (**Travis et al. 2013**).

Mis à part, la taille de l'échantillon, les différences dans les variables pré analytiques et analytiques, y compris le type d'anticorps, peuvent influencer les résultats obtenus. En effet, nos résultats diffèrent de ceux obtenus par **Mawas et al. (2018)** qui ont utilisé des anticorps monoclonaux de type BC28 pour le P40 et DAK-p63 pour le P63. Toutefois, nos résultats sont similaires à ceux trouvés par **Alexander et al. (2017)** qui ont utilisé des anticorps polyclonaux de P40 de type EMD Millipore et un anticorps monoclonal de P63 de type 4A4 similaires à celui utilisés dans notre étude.



CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le travail mené nous a permis de démontrer l'importance de P40 et P63 dans la caractérisation histologique des carcinomes épidermoïdes pulmonaires.

A travers notre étude portant sur 135 cas de carcinomes épidermoïdes pulmonaires, on a pu mettre en évidence les informations suivantes :

- L'augmentation de l'incidence de carcinome épidermoïdes aux cours de ces dernières années.
- Une prédominance masculine chez toutes les catégories d'âges.
- Une prédominance des patients asymptomatiques (37 %).
- Une prédominance de la toux chez 30.3 % des cas, comme principale manifestation clinique.
- Une prédominance de la localisation tumorale dans le poumon droit (57 %) par rapport au poumon gauche (43 %).
- Une prédominance des SCC moyennement différenciés (37 %) par rapport à la forme peu différenciée (35.6 %) et bien différenciée (25.9 %).
- Une prédominance des SCC kératinisants (37 %) par rapport au non kératinisants (31.9 %) et *in situ* (0.7 %).
- Une prédominance des patients fumeurs (37 %) par rapport aux ex fumeurs (8.1 %) et non-fumeurs (5.2 %).

L'application du marquage immunohistochimique de P40 et P63 sur 10 cas a montré que tous les 10 cas de SCC étaient P40 positifs (100 %) tandis que, le marquage de P63 a été positif chez (80 %) des cas. Ces résultats révèlent fiabilité de P40 dans la distinction de SCC pulmonaire par rapport au P63 et son implication dans le processus oncogénique du SCC.

L'une des limites de notre étude était la taille très réduite de notre échantillon ainsi que l'insuffisance des données cliniques et épidémiologiques sur les patients. Sur ce, s'il y aura une continuité à ce travail, il serait très intéressant d'élargir notre étude aux autres CHU et de travailler sur un échantillon plus important, pour une bonne évaluation de l'efficacité diagnostique de ces deux marqueurs vis-à-vis des cancers pulmonaires. De plus, il serait

souhaitable, d'investiguer l'expression de marqueurs plus récents et de comparer leur spécificité et fiabilité par rapport aux P63 et P40.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbar, Baptiste et al. 2020.** “HIV and Cancer: Update 2020.” *Bulletin du Cancer* 107(1): 21–29. <https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2020.01.001>.
- Affandi, Khairunisa Ahmad, Nur Maya Sabrina Tizen, Muaatamarulain Mustangin, and Reena Rahayu Md Zin. 2018.** “P40 Immunohistochemistry Is an Excellent Marker in Primary Lung Squamous Cell Carcinoma.” *Journal of Pathology and Translational Medicine* 52(5): 283–89.
- Akhtar, Nahid, and Jeena Gupta Bansal. 2017.** “Risk Factors of Lung Cancer in Nonsmoker.” *Current Problems in Cancer* 41(5): 328–39. <http://dx.doi.org/10.1016/j.currprobcancer.2017.07.002>.
- Albasri, Abdulkader M. 2019.** “A Histopathological Analysis of Lung Cancers. An 11-Year Retrospective Study from Al-Madinah Al-Munawwarah, Saudi Arabia.” *Saudi Medical Journal* 40(5): 503–6.
- Alexander, Melissa et al. 2017.** “Can P40 (Polyclonal) Replace P63 (Clone 4A4) in the Cytologic Diagnosis of Pulmonary Non – Small Cell Carcinoma ?” 40: 580–88.
- Amelio, Ivano, and Gerry Melino. 2018.** “Similar Domains for Different Regulations of P53 Family.” *Structure* 26(8): 1047–49. <https://doi.org/10.1016/j.str.2018.07.003>.
- Antoine, M. et al. 2018.** “Histomolecular Classification of Lung Tumors.” *Revue des Maladies Respiratoires Actualites* 10(3): 236–47. [https://doi.org/10.1016/S1877-1203\(18\)30016-8](https://doi.org/10.1016/S1877-1203(18)30016-8).
- Armstrong, Stephen R et al. 2016.** “The Regulation of Tumor Suppressor P63 by the Ubiquitin-Proteasome System.”
- Athey, Victoria L., Stephen J. Walters, and Trevor K. Rogers. 2018.** “Symptoms at Lung Cancer Diagnosis Are Associated with Major Differences in Prognosis.” *Thorax* 73(12): 1177–81.
- Balmes, John R. 2019.** “Household Air Pollution from Domestic Combustion of Solid Fuels and Health.” *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 143(6): 1979–87. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2019.04.016>.
- Belchamber, Kylie B.R., and Louise E. Donnelly. 2020.** “Targeting Defective Pulmonary

- Innate Immunity – A New Therapeutic Option?” *Pharmacology and Therapeutics* 209: 107500. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2020.107500>.
- Bhopal, Anand, Michael D. Peake, David Gilligan, and Paul Cosford. 2019.** “Lung Cancer in Never-Smokers: A Hidden Disease.” *Journal of the Royal Society of Medicine* 112(7): 269–71.
- Bonifazi, Martina et al. 2015.** “Sarcoidosis and Cancer Risk: Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies.” *Chest* 147(3): 778–91. <http://dx.doi.org/10.1378/chest.14-1475>.
- Bui, Ngoc. 2018,** "DECIPHERING THE ROLES OF ΔNP63 IN REGULATING EPITHELIAL TO MESENCHYMAL TRANSITION, CANCER PROGRESSION AND METASTASIS". UT GSBS Dissertations and Theses (Open Access). 839. https://digitalcommons.library.tmc.edu/utgsbs_dissertations/839
- Bray, Freddie et al. 2018.** “Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries.” *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 68(6): 394–424.
- Burks, A. Cole, and Jason Akulian. 2020.** “Bronchoscopic Diagnostic Procedures Available to the Pulmonologist.” *Clinics in Chest Medicine* 41(1): 129–44. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2019.11.002>.
- Cabibi, Daniela et al. 2020.** “TTF-1/P63-Positive Poorly Differentiated NSCLC: A Histogenetic Hypothesis from the Basal Reserve Cell of the Terminal Respiratory Unit.” *Diagnostics* 10(1): 25. <https://www.mdpi.com/2075-4418/10/1/25>.
- Cai, Bi He et al. 2019.** “Roles of P53 Family Structure and Function in Non-Canonical Response Element Binding and Activation.” *International Journal of Molecular Sciences* 20(15).
- Campbell, Joshua D. et al. 2018.** “Genomic, Pathway Network, and Immunologic Features Distinguishing Squamous Carcinomas.” *Cell Reports* 23(1): 194-212.e6.
- Chen, Jiawei, Isabella W.Y. Cheuk, Vivian Yvonne Shin, and Ava Kwong. 2019.** “Acetylcholine Receptors: Key Players in Cancer Development.” *Surgical Oncology* 31(January): 46–53.
- Chen, Yonglong et al. 2018.** “A Double Dealing Tale of P63: An Oncogene or a Tumor

Suppressor.” *Cellular and Molecular Life Sciences* 75(6): 965–73.

Cheng, Ting Yuan David et al. 2016. “The International Epidemiology of Lung Cancer: Latest Trends, Disparities, and Tumor Characteristics.” *Journal of Thoracic Oncology* 11(10): 1653–71. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtho.2016.05.021>.

Cheng, Wan Li et al. 2020. “Nicotinic-NAChR Signaling Mediates Drug Resistance in Lung Cancer.” *Journal of Cancer* 11(5): 1125–40.

Chillemi, Giovanni et al. 2017. “Structural Evolution and Dynamics of the P53 Proteins.” *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 7(4): 1–16.

Choi, Jung Ran et al. 2016. “Gene Mutation Discovery Research of Non-Smoking Lung Cancer Patients Due to Indoor Radon Exposure.” *Annals of Occupational and Environmental Medicine* 28(1): 1–6. <http://dx.doi.org/10.1186/s40557-016-0095-2>.

Del, Fabiola et al. 2018. “Lung Cancer Biopsy: Can Diagnosis Be Changed after Immunohistochemistry When the H & E-Based Morphology Corresponds to a Specific Tumor Subtype?” : 1–5.

Dhungana, Ashesh, Devendra Bhattarai, Prajowl Shrestha, and Niranjana Acharya. 2020. “Lung Cancer in a Tertiary Hospital in Nepal: Clinical-Radiological Profile and Histological Subtypes.” *Journal of Nepal Health Research Council* 17(4): 463–67.

Evans, Kelly V, and Joo-hyeon Lee. 2020. “Alveolar Wars : The Rise of in Vitro Models to Understand Human Lung Alveolar Maintenance , Regeneration , and Disease.” (December 2019): 1–15.

Feng, Selena Hsin, and Su Tso Yang. 2019. “The New 8th Tnm Staging System of Lung Cancer and Its Potential Imaging Interpretation Pitfalls and Limitations with Ct Image Demonstrations.” *Diagnostic and Interventional Radiology* 25(4): 270–79.

Fidler-Benaoudia, Miranda M. et al. 2020. “Lung Cancer Incidence in Young Women vs. Young Men: A Systematic Analysis in 40 Countries.” *International Journal of Cancer* 00.

Franceschini, Juliana Pereira, Sérgio Jamnik, and Ilka Lopes Santoro. 2017. “Survival in a Cohort of Patients with Lung Cancer: The Role of Age and Gender in Prognosis.” *Jornal Brasileiro de Pneumologia* 43(6): 431–36.

Galoczova, Michaela, Philip Coates, and Borivoj Vojtesek. 2018. “STAT3, Stem Cells,

Cancer Stem Cells and P63.” *Cellular and Molecular Biology Letters* 23(1): 1–20.

Gatti, Veronica, Claudia Fierro, Angelo Peschiaroli, and Margherita Annicchiarico-petruzzelli. 2019. “D Np63 in Squamous Cell Carcinoma: Defining the Oncogenic Routes Affecting Epigenetic Landscape and Tumour Microenvironment.” 13: 981–1001.

Geneva: World Health Organization. 2018. *Who Global Report on Trends in Prevalence of Tobacco Smoking 2000-2025, Second Edition.*

Giuseppe Pelosi, MIAC, Alessandra Fabbri, MD, Elena Tamborini, DSc, and MD Federica Perrone, DSc, Adele M. Testi, DSc, Giulio Settanni, DSc, Adele Busico, DSc, Giovanni Centonze, LabTech, Paola Braidotti, DSc, Gaetano Bulfamante, MD, Filippo De Braud, MD, Marina Garassino, MD and Ugo Pastorino. 2015. “Challenging Lung Carcinoma with Coexistent Δ Np63 / P40.” *Journal of Thoracic Oncology* 10(10): 1500–1502. <http://dx.doi.org/10.1097/JTO.0000000000000553>.

Gonfloni, Stefania, Valerio Caputo, and Valentina Iannizzotto. 2015. “P63 in Health and Cancer.” *International Journal of Developmental Biology* 59(1–3): 87–93.

González, Ileana, Paulina Araya, and Armando Roj. 2018. “Helicobacter Pylori Infection and Lung Cancer: New Insights and Future Challenges.” *Chinese Journal of Lung Cancer* 21(9): 658–62.

Hajiasgharzadeh, Khalil et al. 2019. “Alpha7 Nicotinic Acetylcholine Receptors in Lung Inflammation and Carcinogenesis: Friends or Foes?” *Journal of Cellular Physiology* 234(9): 14666–79.

Hall, Callum, and Patricia A.J. Muller. 2019. “The Diverse Functions of Mutant 53, Its Family Members and Isoforms in Cancer.” *International Journal of Molecular Sciences* 20(24).

Halliday, Patrick R, Collin M Blakely, and Trever G Bivona. 2019. “LUNG CANCER (H BORGHAEI, SECTION EDITOR) Emerging Targeted Therapies for the Treatment of Non-Small Cell Lung Cancer.”

Harle, Amélie S.M. et al. 2019. “Cough in Patients With Lung Cancer: A Longitudinal Observational Study of Characterization and Clinical Associations.” *Chest* 155(1): 103–13. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2018.10.003>.

Hsia, C. C., Hyde, D. M., & Weibel, E. R. (2011). Lung structure and the intrinsic challenges

of gas exchange. *Comprehensive physiology*, 6(2), 827-895.

Hu, Linshan et al. 2017. “ $\Delta np63\alpha$ Is a Common Inhibitory Target in Oncogenic PI3K/Ras/Her2-Induced Cell Motility and Tumor Metastasis.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 114(20): E3964–73.

Hu, Wan Ming et al. 2019. “Expression of P63 and Its Correlation with Prognosis in Diffuse Large B-Cell Lymphoma: A Single Center Experience.” *Diagnostic Pathology* 14(1): 1–8.

Huang, Chih Yang et al. 2017. “A Review on the Effects of Current Chemotherapy Drugs and Natural Agents in Treating Non-Small Cell Lung Cancer.” *BioMedicine (France)* 7(4): 12–23.

Jemal, Ahmedin et al. 2018. “Higher Lung Cancer Incidence in Young Women than Young Men in the United States.” *New England Journal of Medicine* 378(21): 1999–2009.

Kadota, Kyuichi et al. 2015. “Reevaluation and Reclassification of Resected Lung Carcinomas Originally Diagnosed as Squamous Cell Carcinoma Using Immunohistochemical Analysis.” *The American Journal of Surgical Pathology* 39(9): 1170–80. <http://journals.lww.com/00000478-201509000-00002>.

Kastner, Julia, Rydhwana Hossain, and Charles S. White. 2020. “Epidemiology of Lung Cancer.” *Seminars in Roentgenology* 55(1): 23–40. <https://doi.org/10.1053/j.ro.2019.10.003>.

Kim, So Woon, Jin Roh, and Chan Sik Park. 2016. “Immunohistochemistry for Pathologists: Protocols, Pitfalls, and Tips.” *Journal of Pathology and Translational Medicine* 50(6): 411–18.

King, Kathryn E. et al. 2019. “Intersection of the P63 and NF-KB Pathways in Epithelial Homeostasis and Disease.” *Molecular Carcinogenesis* 58(9): 1571–80. <http://dx.doi.org/10.1002/mc.23081>.

Knudsen, Lars, and Matthias Ochs. 2018. “The Micromechanics of Lung Alveoli: Structure and Function of Surfactant and Tissue Components.” *Histochemistry and Cell Biology* 150(6): 661–76. <http://dx.doi.org/10.1007/s00418-018-1747-9>.

Kozielski, Jerzy et al. 2012. “Lung Cancer in Patients under the Age of 40 Years.” *Wspolczesna Onkologia* 16(5): 413–15.

- Kutob, Leila, and Frank Schneider. 2019.** “Lung Cancer Staging.” *Surgical Pathology*.
<https://doi.org/10.1016/j.path.2019.10.003>.
- Lamichhane, Dirga Kumar et al. 2017.** “Lung Cancer Risk and Residential Exposure to Air Pollution: A Korean Population-Based Case-Control Study.” *Yonsei Medical Journal* 58(6): 1111–18.
- Lantuejoul, Sylvie. 2016.** “Pourquoi Une Nouvelle Classification Histomoléculaire Des Tumeurs Pulmonaires En 2015?” *Annales de Pathologie* 36(1): 1–4.
- Lawrence, Michael S. et al. 2015.** “Comprehensive Genomic Characterization of Head and Neck Squamous Cell Carcinomas.” *Nature* 517(7536): 576–82.
- Lim, Sun Min et al. 2019.** “Indoor Radon Exposure Increases Tumor Mutation Burden in Never-Smoker Patients with Lung Adenocarcinoma.” *Lung Cancer* 131(April): 139–46.
<https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2019.04.002>.
- Liu, Mina et al. 2015.** “Clinical Significance of Age at Diagnosis among Young Non-Small Cell Lung Cancer Patients under 40 Years Old: A Population-Based Study.” *Oncotarget* 6(42): 44963–70.
- MacRosty, Christina R., and M. Patricia Rivera. 2020.** “Lung Cancer in Women: A Modern Epidemic.” *Clinics in Chest Medicine* 41(1): 53–65.
<https://doi.org/10.1016/j.ccm.2019.10.005>.
- Magder, Sheldon. 2018.** “Heart-Lung Interaction in Spontaneous Breathing Subjects: The Basics.” *Annals of Translational Medicine* 6(18): 348–348.
- Malinovsky, Georgy, Ilia Yarmoshenko, and Michael Zhukovsky. 2018.** “Radon, Smoking and HPV as Lung Cancer Risk Factors in Ecological Studies.” *International Journal of Radiation Biology* 94(1): 62–69. <http://dx.doi.org/10.1080/09553002.2018.1399225>.
- Manzella, Livia et al. 2017.** “New Insights in Thyroid Cancer and P53 Family Proteins.” *International Journal of Molecular Sciences* 18(6).
- Marino, Federica Zito et al. 2019.** “Molecular Heterogeneity in Lung Cancer: From Mechanisms of Origin to Clinical Implications.” *International Journal of Medical Sciences* 16(7): 981–89.
- Mattiuzzi, Camilla, and Giuseppe Lippi. 2019.** “Current Cancer Epidemiology.” *Journal of*

epidemiology and global health 9(4): 217–22.

- Mawas, Amany Sayed et al. 2018.** “MUC4 Immunohistochemistry Is Useful in Distinguishing Epithelioid Mesothelioma from Adenocarcinoma and Squamous Cell Carcinoma of the Lung.” *Scientific Reports* 8(1): 2–9. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-18545-x>.
- Micke, Patrick et al. 2016.** “The Impact of the Fourth Edition of the WHO Classification of Lung Tumours on Histological Classification of Resected Pulmonary NSCCs.” *Journal of Thoracic Oncology* 11(6): 862–72. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtho.2016.01.020>.
- Mikolaskova, B. et al. 2018.** “Maintenance of Genome Stability: The Unifying Role of Interconnections between the DNA Damage Response and RNA-Processing Pathways.” *Current Genetics* 64(5): 971–83. <http://dx.doi.org/10.1007/s00294-018-0819-7>.
- Molina-Romero, Camilo, Oscar Arrieta, and Rogelio Hernández-Pando. 2019.** “Tuberculosis and Lung Cancer.” *Salud Publica de Mexico* 61(3): 286–91.
- Moses, Michael A et al. 2019.** “Molecular Mechanisms of P63-Mediated Squamous Cancer Pathogenesis.” (Figure 1): 1–21.
- Nakajima, Naoki et al. 2019.** “P40 Expression in Small Cell Lung Cancer : The Presence of P40-Positive Cells Does Not Always Indicate Squamous Differentiation.” 10(January 2005): 1188–92.
- Nasim, Faria, Bruce F. Sabath, and George A. Eapen. 2019.** “Lung Cancer.” *Medical Clinics of North America* 103(3): 463–73. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2018.12.006>.
- Del Negro, Christopher A., Gregory D. Funk, and Jack L. Feldman. 2018.** “Breathing Matters.” *Nature Reviews Neuroscience* 19(6): 351–67. <http://dx.doi.org/10.1038/s41583-018-0003-6>.
- Ochs, Matthias et al. 2016.** “Using Electron Microscopes to Look into the Lung.” *Histochemistry and Cell Biology* 146(6): 695–707.
- Olmeda, Bárbara, Marta Martínez-Calle, and Jesus Pérez-Gil. 2017.** “Pulmonary Surfactant Metabolism in the Alveolar Airspace: Biogenesis, Extracellular Conversions, Recycling.” *Annals of Anatomy* 209(June): 78–92. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aanat.2016.09.008>.
- Osmani, Lais, Frederic Askin, Edward Gabrielson, and Qing Kay Li. 2018.** “Current WHO

- Guidelines and the Critical Role of Immunohistochemical Markers in the Subclassification of Non-Small Cell Lung Carcinoma (NSCLC): Moving from Targeted Therapy to Immunotherapy.” *Seminars in Cancer Biology* 52: 103–9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.11.019>.
- Otsmane, Amina et al. 2018.** “Clinico-Epidemiological Profile and Redox Imbalance of Lung Cancer Patients in Algeria.” *Journal of medicine and life* 11(3): 210–17.
- Park, Hye Jung et al. 2017.** “Keratinization of Lung Squamous Cell Carcinoma Is Associated with Poor Clinical Outcome.” *Tuberculosis and Respiratory Diseases* 80(2): 179–86.
- Park, Hye Jung, Sang Hoon Lee, and Yoon Soo Chang. 2020.** “Recent Advances in Diagnostic Technologies in Lung Cancer.” *Korean Journal of Internal Medicine* 35(2): 257–68.
- Patel, Nisha et al. 2020.** “Confirming the Recessive Inheritance of PERP-Related Erythrokeratoderma.” *Clinical Genetics* 97(4): 661–65.
- Patil, Pradnya D., Brian Hobbs, and Nathan A. Pennell. 2019.** “The Promise and Challenges of Deep Learning Models for Automated Histopathologic Classification and Mutation Prediction in Lung Cancer.” *Journal of Thoracic Disease* 11(2): 369–72.
- Peate, Ian. 2018.** “Anatomy and Physiology, 10. The Respiratory System.” *British Journal of Healthcare Assistants* 12(4): 178–81. <http://www.magonlinelibrary.com/doi/10.12968/bjha.2018.12.4.178>.
- Peiffer, G., M. Underner, and J. Perriot. 2018.** “The Respiratory Effects of Smoking.” *Revue de Pneumologie Clinique* 74(3): 133–44. <https://doi.org/10.1016/j.pneumo.2018.04.009>.
- Pelosi, Giuseppe, Aldo Scarpa, Fabien Forest, and Angelica Sonzogni. 2016.** “The Impact of Immunohistochemistry on the Classification of Lung Tumors.” *Expert Review of Respiratory Medicine* 10(10): 1105–21.
- Penault-Llorca, Frédérique, Lucie Tixier, Loïc Perrot, and Anne Cayre. 2016.** “Stratégie de Testing Moléculaire Des Carcinomes Pulmonaires.” *Annales de Pathologie* 36(1): 73–79. <http://dx.doi.org/10.1016/j.annpat.2015.11.005>.
- Plusquin, Michelle et al. 2017.** “DNA Methylation and Exposure to Ambient Air Pollution in Two Prospective Cohorts.” *Environment International* 108(January): 127–36.

- Poirier, John T. et al. 2020.** “New Approaches to SCLC Therapy: From the Laboratory to the Clinic.” *Journal of Thoracic Oncology* 15(4): 520–40. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2020.01.016>.
- Qu, Jieqiong et al. 2018.** “Mutant P63 Affects Epidermal Cell Identity through Rewiring the Enhancer Landscape.” *Cell Reports* 25(12): 3490-3503.e4. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.11.039>.
- Qu, Yan Liang et al. 2017.** “Asthma and the Risk of Lung Cancer: A Meta-Analysis.” *Oncotarget* 8(7): 11614–20.
- Reck, Martin, and Klaus F. Rabe. 2017.** “Precision Diagnosis and Treatment for Advanced Non–Small-Cell Lung Cancer.” *New England Journal of Medicine* 377(9): 849–61.
- Riegsmann, K Atharina K et al. 2019.** “A N A T O M I C A L P A T H O L O G Y Agreement of CK5 / 6 , P40 , and P63 Immunoreactivity in Non-Small Cell Lung Cancer.” (xxx): 6–11.
- Rivera, G. A., & Wakelee, H. (2016).** Lung cancer in never smokers. In *Lung Cancer and Personalized Medicine* (pp. 43-57). Springer, Cham.
- Robinson, N. Edward. 2009.** “The Respiratory System.” *Equine Anesthesia*: 11–36.
- Rodriguez-Canales, Jaime, Edwin Parra-Cuentas, and Ignacio I. Wistuba. 2016.** “Diagnosis and Molecular Classification of Lung Cancer.” In *Nursing*, , 25–46. http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-40389-2_2.
- Rodríguez-Castillo, José Alberto et al. 2018.** “Understanding Alveolarization to Induce Lung Regeneration.” *Respiratory Research* 19(1): 1–11.
- Ryan, Ciara, and Louise Burke. 2017.** “Pathology of Lung Tumours.” *Surgery (United Kingdom)* 35(5): 234–42. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mpsur.2017.02.002>.
- Sakhri, L., and M. Bertocchi. 2019.** “Bronchial Carcinoma and Tobacco: An Update.” *Revue des Maladies Respiratoires*.
- Salehi-Rad, Ramin et al. 2020.** “The Biology of Lung Cancer: Development of More Effective Methods for Prevention, Diagnosis, and Treatment.” *Clinics in Chest Medicine* 41(1): 25–38. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2019.10.003>.
- Sarlak, Saharnaz, Claude Lalou, Nivea Dias Amoedo, and Rodrigue Rossignol. 2020.**

- “Metabolic Reprogramming by Tobacco-Specific Nitrosamines (TSNAs) in Cancer.” *Seminars in Cell and Developmental Biology* 98(April 2019): 154–66. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2019.09.001>.
- Seijo, Luis M. et al. 2019.** “Biomarkers in Lung Cancer Screening: Achievements, Promises, and Challenges.” *Journal of Thoracic Oncology* 14(3): 343–57. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2018.11.023>.
- Sethi, Isha et al. 2015.** “A Global Analysis of the Complex Landscape of Isoforms and Regulatory Networks of P63 in Human Cells and Tissues.” *BMC Genomics* 16(1): 1–15. <http://dx.doi.org/10.1186/s12864-015-1793-9>.
- Shankar, Abhishek et al. 2019.** “Environmental and Occupational Determinants of Lung Cancer.” *Translational Lung Cancer Research* 8(Suppl 1): S31–49.
- Siddiqui, Momin T. 2017.** “Department of Pathology and Laboratory Medicine SC.” *Journal of the American Society of Cytopathology*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jasc.2017.05.003>.
- Siegel, Rebecca L., Kimberly D. Miller, and Ahmedin Jemal. 2020.** “Cancer Statistics, 2020.” *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 70(1): 7–30.
- Socinski, Mark A. et al. 2018.** “Current and Emergent Therapy Options for Advanced Squamous Cell Lung Cancer.” *Journal of Thoracic Oncology* 13(2): 165–83. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2017.11.111>.
- Spinelli, M., J. Khorshad, and P. Viola. 2019.** “When Tumor Doesn’t Read Textbook. Third Case of TTF1 and P40 Co-Expression in the Same Tumour Cells in a Non-Small Cell Carcinoma. A Potential New Entity to Consider?” *Pathologica* 111(2): 58–61.
- Suarez, Eric, and Barbara E.C. Knollmann-Ritschel. 2017.** “Educational Case: Squamous Cell Carcinoma of the Lung.” *Academic Pathology* 4: 1–4.
- Takuo Hayashi, Kazuya Takamochi, Yuka Yanai, Keiko Mitani, Hisashi Tomitab, Kaoru Mogushi, Yoshiyuki Suehara, Fumiyouki Takahashi, Kenji Suzuki, Tsuyoshi Saito, Takashi Yao. 2018.** “Non – Small Cell Lung Carcinoma with Diffuse Coexpression of Thyroid Transcription Factor-1.” : 177–81.
- Teulier, Sylvain. 2020.** “Étude Rétrospective de l’ Incidence Des Effets Indésirables Induits Par l’ Immunothérapie et de Leurs Conséquences Sur La Survie Des Patients Atteints d’ Un Cancer Bronchique Ou d’ Un Mésotéliome Sylvain Teulier To Cite This Version :

HAL Id : Dumas-.”

- Travis, William D. et al. 2015.** “Introduction to the 2015 World Health Organization Classification of Tumors of the Lung, Pleura, Thymus, and Heart.” *Journal of Thoracic Oncology* 10(9): 1240–42. <http://dx.doi.org/10.1097/JTO.0000000000000663>.
- . **2020.** “Lung Cancer Pathology: Current Concepts.” *Clinics in Chest Medicine* 41(1): 67–85. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2019.11.001>.
- Uspenska, Kateryna et al. 2018.** “Positive Allosteric Modulators of A7* or B2* Nicotinic Acetylcholine Receptors Trigger Different Kinase Pathways in Mitochondria.” *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 99(February): 226–35. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2018.04.018>.
- Vargas, Ashley J, and Curtis C Harris. 2019.** “Cancer As a Case Study.” 16(8): 525–37.
- Vidarsdottir, Halla et al. 2018.** “Department of Genetics and Pathology.” *Human Pathology: #pagerange#*. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2018.10.009>.
- Vignaud, Jean Michel. 2016.** “Carcinomes Épidermoïde, Basaloïde et Adénosquameux Pulmonaires.” *Annales de Pathologie* 36(1): 15–23. <http://dx.doi.org/10.1016/j.annpat.2015.11.011>.
- Villalobos, Pamela, and Ignacio I. Wistuba. 2017.** “Lung Cancer Biomarkers.” *Hematology/Oncology Clinics of North America* 31(1): 13–29. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889858816301204>.
- Wang, Bing Yen et al. 2020.** “The Comparison between Adenocarcinoma and Squamous Cell Carcinoma in Lung Cancer Patients.” *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 146(1): 43–52. <https://doi.org/10.1007/s00432-019-03079-8>.
- Wang, Jing-yuan et al. 2020.** “NapsinA , CD56 , Syn and CgA in Biopsy Specimen of Squamous Cell Carcinoma , Adenocarcinoma and Small Cell Lung Carcinoma.” *Int. J. Morphol.* 38(2): 247–51.
- Wang, Shengchao, and Yue Hu. 2018.** “A7 Nicotinic Acetylcholine Receptors in Lung Cancer (Review).” *Oncology Letters* 16(2): 1375–82.
- Weibel, Ewald R. 2017.** “Lung Morphometry: The Link between Structure and Function.” *Cell and Tissue Research* 367(3): 413–26. <http://dx.doi.org/10.1007/s00441-016-2541-4>.

- Wu, Sarah J. et al. 2019.** “ Δ Np63 Executes an Oncogenic Program Through the Regulation of a Common Landscape of Super-Enhancer Associated Genes in Non-Small Cell Lung Cancer.” *SSRN Electronic Journal*.
- Yang, Jun et al. 2016.** “The Development and Plasticity of Alveolar Type 1 Cells.” *Development (Cambridge)* 143(1): 54–65.
- Yao, Jeng-yuan, and Jan-kan Chen. 2017.** “Over-Expression of Δ Np63 α Facilitates Rat Corneal Wound Healing in Vivo.” *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 8451: 1–6. <http://doi.org/10.1080/09168451.2017.1391684>.
- Yi, Yong et al. 2017.** “Metformin Promotes AMP-Activated Protein Kinase-independent Suppression of Δ np63 α Protein Expression and Inhibits Cancer Cell Viability.” *Journal of Biological Chemistry* 292(13): 5253–61.
- Zachara-Szczakowski, Susanna, Tyler Verdun, and Andrew Churg. 2015.** “Accuracy of Classifying Poorly Differentiated Non-Small Cell Lung Carcinoma Biopsies with Commonly Used Lung Carcinoma Markers.” *Human Pathology* 46(5): 776–82. <http://dx.doi.org/10.1016/j.humpath.2015.02.001>.
- Zappa, Cecilia, and Shaker A. Mousa. 2016.** “Non-Small Cell Lung Cancer: Current Treatment and Future Advances.” *Translational Lung Cancer Research* 5(3): 288–300.
- Zhang, C., & Myers, J. L. (Eds.). (2018).** *Atlas of Lung Pathology*. Springer.
- Zhang, Xiaoxuan et al. 2018.** “Trends in the Incidence Rate of Lung Cancer by Histological Type and Gender in Sichuan, China, 1995–2015: A Single-Center Retrospective Study.” *Thoracic Cancer* 9(5): 532–41.
- Zheng, Min. 2016.** “Classification and Pathology of Lung Cancer.” *Surgical Oncology Clinics of NA* 25(3): 447–68. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soc.2016.02.003>.





ANNEXES

Annexe 1

Réception et enregistrement

A leurs arrivées, les pièces opératoires sont remises au laboratoire d'anatomopathologie, où elles reçoivent un numéro d'enregistrement et une fiche comprenant les informations cliniques des patients.

L'archives du blocs de laboratoire	Des blocs en paraffine
	

Examen macroscopique

L'examen macroscopique, partie essentielle de l'étude, où la pièce opératoire sera examinée, mesurée, pesée, palpée puis disséquée par le pathologiste afin d'étudier les caractéristiques du foyer tumoral (organisation, forme, couleur, présence d'hémorragie) et permet par la suite de sélectionner les zones à prélever pour l'étude microscopique. Les fragments sélectionnés sont ensuite mis dans des cassettes.

Matériel et appareillage

- Chambre humide.
- Cassettes d'inclusion en plastique.
- Micropipettes réglables avec cônes adaptables.
- Porte lames.
- Buvard.
- Minuterie.
- Bacs et paniers à coloration.
- Lames d'étalement en verre/ Lamelles.

Annexe 1

- Lames silanisées (Dako, S2024).
- Graveur (diamantin).
- Stylo délimitant : Dako Pen (S2002).
- Microtome (Leica, Model RM 2125).
- Plaque chauffante (Leica).
- Etuve Sakura Tj.
- Bain marie.
- Eukitt FSC2.
- Microscope photonique Leica RM 2235.
- Logiciels électroniques : SPSS, Excel, Asez, (Leica).

Réactifs utilisés

- Peroxyde d'hydrogène H₂O₂ (réf. S2023).
- Hématoxyline, Eosine En Vision (réf.SM806).
- Solution TRS EnVisiontm FLEX Target Retrieval Solution, High pH (x50) (réf.DM828).
- Tampon de lavage EnVisiontm FLEX TBS-T (tris-buffer saline solution containing tween) (x20) (DM831) (réf. K8007).
- Diagnostic BioSystems P40 Rabbit Polyclonal Antibodie (réf.PDR055).
- Dako FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human P63 Protein (réf.IR662).
- Le réactif de détection Dako EnVisiontm FLEX/HRP (réf.SM802).
- Le système du substrat contenu dans le kit est formé de deux composants : le produit EnVisiontm FLEX DAB + chromogène (réf.DM827).
- Tompon du substrat EnVisiontm FLEX (réf.SM803).

Annexe 1

- Ammoniaque.
- Fixateur formaldéhyde a 10 %.
- Ethanol à 50° ,60° ,70° ,80° ,90 % et 100 %.
- Paraffine liquide.
- Eau distillé et eau du robinet.
- Xylène.

Mode opératoire de la coloration (HE)

Les lames utilisées sont en verre, on y inscrit le matricule du patient ainsi que la coloration utilisée ici est la coloration à l'hématéine éosine, pour cette coloration on suivra les étapes suivantes :

- Disposer les lames sur une plaque chauffante à 60°C et recouvrir leurs surfaces d'eau distillée.
- Déparaffiner les échantillons dans un bain de xylène pendant 10 minutes pour que les colorants puissent y pénétrer.
- La réhydratation se fait par passage dans un bain d'éthanol décroissant 100 %, 90 % ensuite 70 % pendant 10 minutes puis on réhydrate à l'eau du robinet.
- Immerger les coupes dans un bac remplie d'hématéine pendant 10 minutes ce qui va colorer en bleu violacé les structures basophiles (noyau cellulaire).
- Rincer à l'eau courante.
- La deuxième coloration se fait à l'éosine, qui va colorer en rose les structures acidophiles (cytoplasme cellulaire).
- Rincer à l'eau courante.
- L'étape suivante est le montage, qui consiste à fixer une lamelle sur une lame (lame en verre pour la coloration HE) sur les coupes histologiques après coloration Cette étape permet la :
 - Protection mécanique des coupes.

Annexe 1

- Protection chimique des colorants.
- Sécher les lames puis observer au microscope photonique équipé d'un appareil photographique.



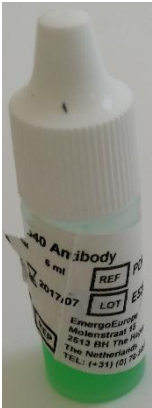

Mode opératoire d'immunohistochimie

Les lames silanisées sont marquées à l'aide d'un crayon du matricule du sujet ainsi que de l'anti corps (P40 ou P63). On suit les étapes suivantes :

- Disposer les lames sur une plaque chauffante et recouvrir leurs surfaces d'eau distillée.
- Réalisation de coupe histologique à partir des blocs de paraffine, de 3µm de d'épaisseur à l'aide du microtome.
- Les prélèvements sont étalés sur des lames silanisées sur une plaque chauffante à 40°C.
- Les lames sont incubées pendant une nuit dans une étuve à 50°C.
- On peut déparaffiner par 3 bain de toluène de 5 minutes ensuite on lave à l'éthanol décroissant 100 %, 95 %, 70 % pendant 5 minutes et on lave sous l'eau de robinet.
- Rincer a l'eau distillé.
- Le démasquage se fait par bain marie 35 à 40 minutes entre 97 à 98° dans une solution de démasquage TRS (Target Retrieval Solution).
- Laisse refroidir 20 minutes puis on lave avec l'eau distillée et on les met dans un bain de tampon TBS-T (tris-buffer saline solution containing tween x20, PH7, 6).
- Déposer les lames sur un plateau et entourer les coupes du Dako Pen.
- Recouvrir d'H₂O₂ pendant 5 minutes (incuber) puis plongées dans 3 bains de tampon TBS-T froid pendant 5 minutes.
- Ajouter l'anti corps primaire (P40 ou P63) à l'aide d'une micropipette
- Incubation à 30–60 minutes à température ambiante.

Annexe 1

- Lavage au BS-T 3 fois pendant 5 minutes.
- Ajouter l'anti corps secondaire (non spécifique) et incuber pendant 30–60 minutes, à température ambiante et laver 3 fois pendant 5 minutes au TBS-T.
- On révèle la technique avec une solution de chromogène DAB (3,3 diaminobenzidine) dont on ajoute 1 goutte dans 1 ml de tampon et lavage à l'eau distillée.
- Contre coloration à l'Hématoxyline pendant 2 à 3 minutes, rincer à l'eau courante.
- Immerger les lames dans un bac d'eau ammoniacuée et laver à l'eau distillée.
- Montage, séchage et observation au microscope photonique.

Réactifs	
Peroxyde d'hydrogène H ₂ O ₂ (réf. S2023).	Hématoxyline, Eosine En Vision (réf.SM806).
	
Diagnostic BioSystems P40 Rabbit Polyclonal Antibodie (réf.PDR055).	Dako FLEX Monoclonal mouse Anti-Human P63 Protein (réf.IR662).
	


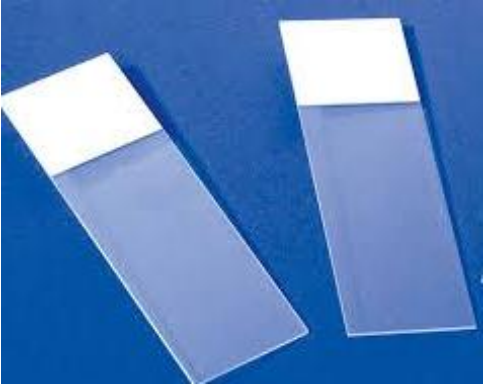
Annexe 1

Fixateur formaldéhyde a 10 %.	Paraffine liquide
	









Kitt d'immunohistochimie.



Les appareils

Chambre humide	Lames silanisées (Dako, S2024).
	

Annexe 1

Lames et lamelles	Stylo délimitant : Dako Pen (S2002).
	
Microtome (Leica, Model RM 2125).	Etuve Sakura Tj
	
Plaque chauffante	Bain marie
	
Automate Leica.	Microscope Leica
	

Annexe 1

Appareil de mis en bloc Leica + blocs



Annexe 2

Tableau 3 : Répartition du nombre des patients selon l'année de recrutement.

		Fréquence	Pourcentage (%)
L'année de recrutement :	2016	21	15,6
	2017	10	7,4
	2018	39	28,9
	2019	65	48,1
	Total	135	100,0
La moyenne		34	

Tableau 4 : Répartition des patients par sexe.

		Fréquence	Pourcentage (%)
Le sexe :	Homme	116	85,9
	Femme	19	14,1
	Total	135	100,0

Tableau 5 : Répartition des patients par tranche d'âge.

		Fréquence	Pourcentage (%)
Tranche d'âge :	[30-39[3	2,2
	[40-49[7	5,2
	[50-59[26	19,3
	[60-69[45	33,3
	[70-79[39	28,9
	[80-89[15	11,1
	Total	135	100,0
La moyenne :	65.68		
La déviation standard :	± 11.81		

Annexe 2

Tableau 6 : Répartition des patients selon l'âge par sexe.

		Sexe		sex-ratio
		Homme	Femme	
Tranche d'âge	[30-39[3	0	
	[40-49[6	1	
	[50-59[20	6	
	[60-69[37	8	
	[70-79[36	3	
	[80-89[14	1	
Total		116	19	6.10
La moyenne		65.04	63.10	
La déviation standard		± 13.52	± 9.79	

Tableau 7 : Répartition des patients selon l'apparition des symptômes.

		Fréquence	Pourcentage (%)
Présentation clinique :	Présence des symptômes	50	37,0
	Non mentionnée	85	63,0
	Total	135	100,0

Tableau 8 : Répartition des patients selon les manifestations cliniques.

Les symptômes	Fréquence	Pourcentage (%)
Toux	33	30,3 %
Douleurs thoraciques	14	12,8 %
Asthénie	8	7,3 %
Dyspnée d'effort	19	17,4 %
Hémoptysie	19	17,4 %
Amaigrissement	10	9,2%
Altération de l'état générale	6	5,5%

Annexe 2

Total		100,0%
-------	--	--------

Tableau 9 : Répartition des patients selon le siège de la tumeur.

		Fréquence	Pourcentage (%)
Le siège :	Poumon gauche	58	43,0
	Poumon droit	77	57,0
	Total	135	100,0

Tableau 10 : Répartirent des patients selon l'état de différenciation cellulaire.

		Fréquence	Pourcentage (%)
Le grade de différenciation :	Peu différencié	48	35,6
	Bien différencié	35	25,9
	Moyennement différencié	50	37,0
	Non mentionnée	2	1,5
	Total	135	100,0

Tableau 11 : Répartition des patients selon le sous type histologique.

		Fréquence	Pourcentage (%)
Le sous type histologique :	<i>in situ</i>	1	0,7
	Kératinisant	47	34,8
	Non kératinisant	43	31,9
	Non mentionnée	44	32,6
	Total	135	100,0

Tableau 12 : Répartition des patients selon le tabagisme.

		Fréquence	Pourcentage (%)
Le tabagisme :	Fumeur	26	19,3
	Non-fumeur	7	5,2
	Ex fumeur	11	8,1
	Non mentionnée	91	67,4

Annexe 2

Total	135	100,0
-------	-----	-------