



كلية الطب
والصيدلة - مراكش
FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE - MARRAKECH

Année 2022

Thèse N°048

Testing moléculaire EGFR, PDL1 et ALK dans les carcinomes broncho-pulmonaires au CHU Mohammed VI de Marrakech : Etude prospective de 2 ans.

THESE

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 25/02/2022

PAR

Mme. Hajar BAHRI

Née le 28 Novembre 1992 à El Kelaâ Des Sraghna

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

MOTS-CLES :

Cancer broncho-pulmonaire- Immunohistochimie - Biologie moléculaire
EGFR-ALK-PDL-1

JURY

Mme. L.AMRO

Professeur de Pneumo-phtisiologie.

PRESIDENT

Mme. H.RAIS

Professeur d'Anatomie pathologique.

RAPPORTEUR

Mme. M.KHOUCHANI

Professeur de Radiothérapie.

JUGE

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَعَلَيْكَ يَا كَرِيمُ

وَكَأَن فَضِيلَ اللَّهِ عَلَيْكَ عَظِيمًا



Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.

Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.

Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.

Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.

Les médecins seront mes frères.

Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale, ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.

Je maintiendrai strictement le respect de la vie humaine dès sa conception.

Même sous la menace, je n'userai pas mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.

Je m'y engage librement et sur mon honneur.

Déclaration Genève, 1948



LISTE DES PROFESSEURS



UNIVERSITE CADI AYYAD
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
MARRAKECH

Doyens Honoraires : Pr. Badie Azzaman MEHADJI
: Pr. Abdelhaq ALAOUI YAZIDI

ADMINISTRATION

Doyen : Pr. Mohammed BOUSKRAOUI
Vice doyen à la Recherche et la Coopération : Pr. Mohamed AMINE
Vice doyen aux Affaires Pédagogiques : Pr. Redouane EL FEZZAZI
Secrétaire Générale : Mr. Azzeddine ELHOUDAIGUI

Professeurs de l'enseignement supérieur

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABKARI Imad	Traumato- orthopédie	ESSAADOUNI Lamiaa	Médecine interne
ABOU EL HASSAN Taoufik	Anesthésie- réanimation	FADILI Wafaa	Néphrologie
ABOUCHADI Abdeljalil	Stomatologie et chir maxillo faciale	FAKHIR Bouchra	Gynécologie- obstétrique
ABOULFALAH Abderrahim	Gynécologie- obstétrique	FOURAJI Karima	Chirurgie pédiatrique
ABOUSSAIR Nisrine	Génétique	GHANNANE Houssine	Neurochirurgie
ADALI Imane	Psychiatrie	GHOUNDALE Omar	Urologie
ADMOU Brahim	Immunologie	HACHIMI Abdelhamid	Réanimation médicale
AGHOUTANE EI Mouhtadi	Chirurgie pédiatrique	HAJJI Ibtissam	Ophtalmologie
AISSAOUI Younes	Anesthésie -	HAROU Karam	Gynécologie-

	réanimation		obstétrique
AIT AMEUR Mustapha	Hématologie Biologique	HOCAR Ouafa	Dermatologie
AIT BENALI Said	Neurochirurgie	JALAL Hicham	Radiologie
AIT BENKADDOUR Yassir	Gynécologie- obstétrique	KAMILI El Ouafi El Aouni	Chirurgie pédiatrique
AIT-SAB Imane	Pédiatrie	KHALLOUKI Mohammed	Anesthésie- réanimation
ALJ Soumaya	Radiologie	KHATOURI Ali	Cardiologie
AMAL Said	Dermatologie	KHOUCHANI Mouna	Radiothérapie
AMINE Mohamed	Epidémiologie- clinique	KISSANI Najib	Neurologie
AMMAR Haddou	Oto-rhino-laryngologie	KRATI Khadija	Gastro- entérologie
AMRO Lamyae	Pneumo- phtisiologie	KRIET Mohamed	Ophtalmologie
ANIBA Khalid	Neurochirurgie	LAGHMARI Mehdi	Neurochirurgie
ARSALANE Lamiae	Microbiologie -Virologie	LAKMICHI Mohamed Amine	Urologie
ASMOUKI Hamid	Gynécologie- obstétrique	LAOUAD Inass	Néphrologie
ATMANE El Mehdi	Radiologie	LOUHAB Nisrine	Neurologie
BAIZRI Hicham	Endocrinologie et maladies métaboliques	LOUZI Abdelouahed	Chirurgie - générale
BASRAOUI Dounia	Radiologie	MADHAR Si Mohamed	Traumato- orthopédie
BASSIR Ahlam	Gynécologie- obstétrique	MANOUDI Fatiha	Psychiatrie
BELBARAKA Rhizlane	Oncologie médicale	MANSOURI Nadia	Stomatologie et chiru maxillo faciale
BELKHOU Ahlam	Rhumatologie	MAOULAININE Fadl mrabih rabou	Pédiatrie (Neonatalogie)
BEN DRISS Laila	Cardiologie	MATRANE Aboubakr	Médecine nucléaire
BENALI Abdeslam	Psychiatrie	MOUAFFAK Youssef	Anesthésie - réanimation
BENCHAMKHA Yassine	Chirurgie réparatrice et plastique	MOUDOUNI Said Mohammed	Urologie
BENELKHAIAT BENOMAR Ridouan	Chirurgie - générale	MOUFID Kamal	Urologie

BENHIMA Mohamed Amine	Traumatologie – orthopédie	MOUATAJ Redouane	Parasitologie
BENJILALI Laila	Médecine interne	MOUATAOUAKIL Abdeljalil	Ophthalmologie
BENZAROUEL Dounia	Cardiologie	MSOUGGAR Yassine	Chirurgie thoracique
BOUCHENTOUF Rachid	Pneumo- phtisiologie	NAJEB Youssef	Traumato- orthopédie
BOUKHANNI Lahcen	Gynécologie- obstétrique	NARJISS Youssef	Chirurgie générale
BOUKHIRA Abderrahman	Biochimie – chimie	NEJMI Hicham	Anesthésie- réanimation
BOUMZEBRA Drissi	Chirurgie Cardio- Vasculaire	NIAMANE Radouane	Rhumatologie
BOURRAHOUEAT Aicha	Pédiatrie	OUALI IDRISSE Mariem	Radiologie
BOURROUS Monir	Pédiatrie	OUBAHA Sofia	Physiologie
BOUSKRAOUI Mohammed	Pédiatrie	OULAD SAIAD Mohamed	Chirurgie pédiatrique
CHAFIK Rachid	Traumato- orthopédie	QACIF Hassan	Médecine interne
CHAKOUR Mohamed	Hématologie Biologique	QAMOUSS Youssef	Anesthésie- réanimation
CHELLAK Saliha	Biochimie- chimie	RABBANI Khalid	Chirurgie générale
CHERIF IDRISSE EL GANOUNI Najat	Radiologie	RADA Noureddine	Pédiatrie
CHOULLI Mohamed Khaled	Neuro pharmacologie	RAIS Hanane	Anatomie pathologique
DAHAMI Zakaria	Urologie	RAJI Abdelaziz	Oto-rhino- laryngologie
DRAISS Ghizlane	Pédiatrie	ROCHDI Youssef	Oto-rhino- laryngologie
EL ADIB Ahmed Rhassane	Anesthésie- réanimation	SAMKAOUI Mohamed Abdenasser	Anesthésie- réanimation
EL AMRANI MoulayDriss	Anatomie	SAMLANI Zouhour	Gastro- entérologie
EL ANSARI Nawal	Endocrinologie et maladies métaboliques	SARF Ismail	Urologie
EL BARNI Rachid	Chirurgie- générale	SORAA Nabila	Microbiologie – Virologie

EL BOUCHTI Imane	Rhumatologie	SOUMMANI Abderraouf	Gynécologie-obstétrique
EL BOUIHI Mohamed	Stomatologie et chir maxillo faciale	TASSI Noura	Maladies infectieuses
ELFEZZAZI Redouane	Chirurgie pédiatrique	TAZI Mohamed Illias	Hématologie-clinique
EL HAOURY Hanane	Traumato- orthopédie	YOUNOUS Said	Anesthésie-réanimation
EL HATTAOUI Mustapha	Cardiologie	ZAHLANE Kawtar	Microbiologie - virologie
EL HOUDZI Jamila	Pédiatrie	ZAHLANE Mouna	Médecine interne
EL IDRISSE SLITINE Nadia	Pédiatrie	ZAOUI Sanaa	Pharmacologie
EL KARIMI Saloua	Cardiologie	ZIADI Amra	Anesthésie - réanimation
EL KHAYARI Mina	Réanimation médicale	ZOUHAIR Said	Microbiologie
EL MGHARI TABIB Ghizlane	Endocrinologie et maladies métaboliques	ZYANI Mohammed	Médecine interne
ELFIKRI Abdelghani	Radiologie		

Professeurs Agrégés

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABIR Badreddine	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale	GHAZI Mirieme	Rhumatologie
ADARMOUCH Latifa	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)	HAZMIRI Fatima Ezzahra	Histologie-embryologie cytogénétique
AIT BATAHAR Salma	Pneumo- phtisiologie	IHBIBANE fatima	Maladies Infectieuses
ARABI Hafid	Médecine physique et réadaptation fonctionnelle	KADDOURI Said	Médecine interne
ARSALANE Adil	Chirurgie Thoracique	LAHKIM Mohammed	Chirurgie générale

BELBACHIR Anass	Anatomie- pathologique	LAKOUICHMI Mohammed	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale
BELHADJ Ayoub	Anesthésie -Réanimation	MARGAD Omar	Traumatologie - orthopédie
BENJELLOUN HARZIMI Amine	Pneumo- phtisiologie	MLIHA TOUATI Mohammed	Oto-Rhino - Laryngologie
BOUZERDA Abdelmajid	Cardiologie	MOUHSINE Abdelilah	Radiologie
BSISS Mohamed Aziz	Biophysique	NADER Youssef	Traumatologie - orthopédie
CHRAA Mohamed	Physiologie	SALAMA Tarik	Chirurgie pédiatrique
DAROUASSI Youssef	Oto-Rhino - Laryngologie	SEDDIKI Rachid	Anesthésie - Réanimation
EL HAOUATI Rachid	Chirurgie Cardio- vasculaire	SERGHINI Issam	Anesthésie - Réanimation
EL KAMOUNI Youssef	Microbiologie Virologie	TOURABI Khalid	Chirurgie réparatrice et plastique
EL KHADER Ahmed	Chirurgie générale	ZARROUKI Youssef	Anesthésie - Réanimation
EL MEZOUARI EI Moustafa	Parasitologie Mycologie	ZEMRAOUI Nadir	Néphrologie
EL OMRANI Abdelhamid	Radiothérapie	ZIDANE Moulay Abdelfettah	Chirurgie thoracique
FAKHRI Anass	Histologie- embyologie cytogénétique		

Professeurs Assistants

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
AABBASSI Bouchra	Pédopsychiatrie	ESSADI Ismail	Oncologie Médicale
ABALLA Najoua	Chirurgie pédiatrique	FASSI FIHRI Mohamed jawad	Chirurgie générale
ABDELFETTAH Youness	Rééducation et Réhabilitation Fonctionnelle	FDIL Naima	Chimie de Coordination Bio- organique

ABDOU Abdessamad	Chiru Cardio vasculaire	FENNANE Hicham	Chirurgie Thoracique
ABOULMAKARIM Siham	Biochimie	HAJHOUI Farouk	Neurochirurgie
ACHKOUN Abdessalam	Anatomie	HAJJI Fouad	Urologie
AIT ERRAM IAdil	Gastro-entérologie	HAMMI Salah Eddine	Médecine interne
AKKA Rachid	Gastro - entérologie	Hammoune Nabil	Radiologie
ALAOUI Hassan	Anesthésie - Réanimation	HAMRI Asma	Chirurgie Générale
ALJALIL Abdelfattah	Oto-rhino-laryngologie	HAZIME Raja	Immunologie
AMINE Abdellah	Cardiologie	JALLAL Hamid	Cardiologie
ARROB Adil	Chirurgie réparatrice et plastique	JANAH Hicham	Pneumo- phtisiologie
ASSERRAJI Mohammed	Néphrologie	LAFFINTI Mahmoud Amine	Psychiatrie
AZAMI Mohamed Amine	Anatomie pathologique	LAHLIMI Fatima Ezzahra	Hématologie clinique
AZIZ Zakaria	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	LAHMINE Widad	Pédiatrie
BAALLAL Hassan	Neurochirurgie	LALYA Issam	Radiothérapie
BABA Hicham	Chirurgie générale	LAMRANI HANCH Asmae	Microbiologie-virologie
BELARBI Marouane	Néphrologie	LOQMAN Souad	Microbiologie et toxicologie environnementale
BELFQUIH Hatim	Neurochirurgie	MAOUJOURD Omar	Néphrologie
BELGHMAIDI Sarah	Ophtalmologie	MEFTAH Azzelarab	Endocrinologie et maladies métaboliques
BELLASRI Salah	Radiologie	MESSAOUDI Redouane	Ophtalmologie
BENANTAR Lamia	Neurochirurgie	MILOUDI Mohcine	Microbiologie - Virologie
BENCHAFAI Ilias	Oto-rhino-laryngologie	MOUGUI Ahmed	Rhumatologie
BENNAOUI Fatiha	Pédiatrie	NASSIH Houda	Pédiatrie
BENZALIM Meriam	Radiologie	NASSIM SABAH Taoufik	Chirurgie Réparatrice et Plastique

BOUTAKIOUTE Badr	Radiologie	OUEIAGLI NABIH Fadoua	Psychiatrie
CHAHBI Zakaria	Maladies infectieuses	OUMERZOUK Jawad	Neurologie
CHEGGOUR Mouna	Biochimie	RAGGABI Amine	Neurologie
CHETOUI Abdelkhalek	Cardiologie	RAISSI Abderrahim	Hématologie clinique
CHETTAT IMariam	Néphrologie	REBAHI Houssam	Anesthésie – Réanimation
DAMI Abdallah	Médecine Légale	RHARRASSI Isam	Anatomie–patologique
DARFAOUI Mouna	Radiothérapie	RHEZALI Manal	Anesthésie–réanimation
DOUIREK Fouzia	Anesthésie– réanimation	ROUKHSI Redouane	Radiologie
EL- AKHIRI Mohammed	Oto- rhino- laryngologie	SAHRAOUI Houssam Eddine	Anesthésie–réanimation
EL AMIRI My Ahmed	Chimie de Coordination bio–organnique	SALLAHI Hicham	Traumatologie– orthopédie
EL FADLI Mohammed	Oncologie médicale	SAYAGH Sanae	Hématologie
EL FAKIRI Karima	Pédiatrie	SBAAI Mohammed	Parasitologie–mycologie
EL GAMRANI Younes	Gastro–entérologie	SBAI Asma	Informatique
EL HAKKOUNI Awatif	Parasitologie mycologie	SEBBANI Majda	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)
EL JADI Hamza	Endocrinologie et maladies métaboliques	SIRBOU Rachid	Médecine d’urgence et de catastrophe
EL KHASSOUI Amine	Chirurgie pédiatrique	SLIOUI Badr	Radiologie
ELATIQUI Oumkeltoum	Chirurgie réparatrice et plastique	WARDA Karima	Microbiologie
ELBAZ Meriem	Pédiatrie	YAHYAOUI Hicham	Hématologie
ELJAMILI Mohammed	Cardiologie	ZBITOU Mohamed Anas	Cardiologie
ELOUARDI Youssef	Anesthésie réanimation	ZOUITA Btissam	Radiologie
EL-QADIRY Rabiyy	Pédiatrie	ZOUIZRA Zahira	Chirurgie Cardio– vasculaire

LISTE ARRÉTÉE LE 23/06/2021



DEDICACES



*A la mémoire de mes grands-parents paternels que Dieu ait
leurs âmes :*

Cher grand-père, chère grand-mère, je sais que vous n'êtes pas présents avec moi en ce jour assez précieux, mais je suis sûre que là où vous êtes, vous m'écoutez bien et je voudrais juste vous dire que je suis très fière d'appartenir à cette famille que vous avez construit avec tout l'amour et le respect qui peuvent être donnés.

A la belle, chère maman :

Dieu seul sait combien je t'aime et je te respecte. Que le tout Puissant vous bénisse et reconnaisse tout l'effort et la bravoure que vous avez éprouvés dans l'éducation de mes frères, sœur et moi.

Au sage, cher papa :

Papa, grâce à vous et à ma mère, j'ai reconnu c'est quoi le sacrifice, l'amour de la vie et l'estime de soi. Sans vous, certainement, je ne serais pas la personne que je suis aujourd'hui.

*Mes très chers frères Ayoub et Hamza et ma petite sœur
Oumayma :*

Vous résidez là au coin le plus profond de mon cœur, avec toute la douceur des moments qui nous a réunis sous un seul toit.

Mon neveu Yahya et ma nièce Chaïmae :

Mes petits choux d'amour, votre venue au monde a vraiment embelli mes jours et sans vous, je ne serais jamais la chère tante de la famille.

A toute la famille BAHRI, BADRE-EDDINE, AIT ALLAL et BELGHITI :

Que Dieu bénisse cette grande famille qui me coûte très cher au cœur. Merci pour votre présence avec moi aujourd'hui et en tous les beaux et mauvais moments.

A tous mes amis, à toute l'audience : un grand merci !



REMERCIEMENTS



A notre maître et Président de thèse :

Mme. Lamya AMRO.

Professeur de Pneumo-phthisiologie.

Pour le très grand honneur que vous nous faites en acceptant de juger et de présider notre thèse.

Nous vous prions de trouver, ici, le témoignage de notre profond respect et de notre haute estime.

A notre maître et Rapporteur :

Mme. Hanane RAIS.

Professeur d'Anatomie pathologique.

Vous m'avez guidé et conseillé tout au long de l'élaboration de ce travail avec la compétence, la rigueur scientifique et l'extrême gentillesse qui vous caractérisent.

Que ce travail, si modeste qu'il soit, puisse être message de mes sentiments les plus respectueux et de toute ma reconnaissance.

A mon maître et juge de thèse :

Mme. M.KHOUCANI.

Professeur de Radiothérapie.

*Nous tenions à vous exprimer nos plus sincères remerciements
pour avoir accepté de siéger auprès de ce noble jury.*

Votre présence nous honore.

*Veillez trouver ici, professeur, l'expression de notre profond
respect.*

*A tout le personnel du service d'anatomie pathologique au
CHU Mohammed VI, plus spécialement à Dr. Ayman ISMAIL.*

*A Dr. A. ELHAKMAOUI, responsable de l'unité de bio-
pathologie au centre de recherche clinique au CHU
Mohammed VI.*

*Au personnel du service d'épidémiologie et biostatistiques, plus
spécialement à Dr. Ouassim MANSOURY.*



ABBREVIATIONS



Liste des abréviations

ADK	:	Adé nocarcinome
ALK	:	Anaplastic Lymphoma Kinase
CBP	:	Cancer bronchique pulmonaire
CBNPC	:	Cancer bronchique non à petites cellules
CBPC	:	Cancer bronchique à petites cellules
CE	:	Carcinome épidermoïde
DNA	:	Deoxyribonucleic acid
EGFR	:	Epidermal Growth Factor Receptor
FISH	:	Fluorescence in situ hybridization
GLOBOCAN	:	Global Cancer Observatory
IHC	:	Immunohistochimie
HE	:	Hématéine éosine
ITK	:	Inhibiteur de Tyrosine Kinase
OMS	:	Organisation Mondiale de la Santé
PCR	:	Polymerase Chain Reaction
PD-1	:	Récepteur de mort cellulaire programmé-1
PD-L1	:	Ligand de mort cellulaire programmée-1
TPS	:	Score de la proportion tumorale
WHO	:	world healthorganization



PLAN



INTRODUCTION	1
MATERIEL ET METHODES	4
I. Type de l'étude et patients	5
1. Type et durée de l'étude	5
2. Patients étudiés	5
2. 1. Critères d'inclusion	5
2. 2. Critères d'exclusion	5
II. Méthodes d'étude	6
1. Circuit du prélèvement tissulaire destiné à l'étude ALK et PDL-1	6
1.1. Schéma général	6
1.2. Etude Immunohistochimique utilisant l'anticorps anti-PD-L1 et anticorps anti-ALK	7
1.3. Etapes techniques de l'étude immunohistochimique	11
2. Protocole d'IHC pour la révélation de l'expression de PDL1	14
3. Détermination de l'expression de l'anticorps anti PDL1	15
3.1. Les témoins interne et externe	15
3.2. L'expression de l'anticorps anti PDL-1	15
4. Protocole pour la révélation du statut ALK (Anaplastic lymphoma kinase)	17
4.1 Détermination du statut ALK par immunohistochimie	17
4.2 Détermination du statut ALK par FISH	18
5. Biologie moléculaire: Recherche de mutations EGFR	21
5.1. Low density micro array based platform : « Genomica »	21
5.2. Full-automated real-time PCR based molecular testing system : « Idylla »	23
6. Le compte-rendu anatomopathologique	23
RESULTATS	28
I. Caractéristiques clinico-pathologiques des carcinomes broncho-pulmonaires	29
1. Sexe	29
2. Age	29
3. Provenance des prélèvements tissulaires	30
4. Type de prélèvement	31
5. Le type histologique	31
II. Etude du statut immunohistochimique et moléculaire	33

1. Expression immunohistochimique de l'anticorps anti-ALK	33
1.1. Détection du réarrangement ALK par FISH	33
2. Etude du biomarqueur PDL1	35
2.1. Expression de l'Ac anti protéine PDL1 dans notre série	35
2.2. Les différents pourcentages de l'expression de l'anticorps anti-PD-L1 dans Notre série	37
3. Étude moléculaire de l'EGFR	40
DISCUSSION	42
I. Généralités sur le cancer du poumon	43
1. Généralités	43
2. Etude histologique	44
II. Stratégie de testing moléculaire des carcinomes pulmonaires	46
1. Patients éligibles au typage moléculaire	47
2. Types de prélèvements permettant la réalisation des tests à visée théranostique	48
3. Techniques de testing moléculaire	48
III. Réarrangement ALK	50
IV. Immunothérapie anti-PD1 / PD-L1	52
1. L'axe PD1-PDL1 dans la réponse immunitaire	52
2. PD-L1	54
V. Mutation EGFR	57
1. Le récepteur au facteur de croissance épidermique (EGFR)	57
1.1. Rôle de l'EGFR	58
1.2. Mécanisme d'activation	58
1.3. Les différentes mutations de L'EGFR	59
2. Thérapies ciblées anti-EFGR dans le cancer du poumon	60
VI. Biomarqueurs émergents	62
1. Les mutations de KRAS	62
2. Les réarrangements de ROS1	62
3. Les mutations de BRAF	63
4. Les anomalies de HER2	63
5. Les réarrangements de RET	63
6. Les anomalies de MET	63
7. Les mutations de PIK3CA	64

VII. Aspects épidémiologiques	64
1. Place du cancer broncho-pulmonaire	64
2. Âge	64
3. Sexe	65
VIII. Données anatomopathologiques et moléculaires	67
1. Type histologique	67
2. Le profil de l'expression de l'anticorps anti-PD-L1 et l'anticorps anti-ALK	67
2.1. Statut d'expression de l'Ac anti PD-L1	68
2.2. L'expression de l'anticorps anti ALK	70
3. Mutation EGFR	71
3.1. Fréquence mutation EGFR	71
CONCLUSION	75
RECOMMANDATIONS	78
ANNEXES	81
RESUMES	85
BIBLIOGRAPHIE	89



INTRODUCTION



Les cancers broncho-pulmonaires (CBP) sont définis comme l'ensemble des proliférations tumorales malignes primitives ou secondaires développées au dépend du poumon. Les CBP primitifs sont scindés en carcinomes à petites cellules (CPC) et en carcinomes bronchiques non à petites cellules (CBNPC). Ces derniers sont les plus fréquents, être présentent environ 85% de tous les cancers broncho-pulmonaires [1].

Le diagnostic des CBNPC se fait le plus souvent à un stade tardif, localement avancé ou métastatique, ce qui explique que le matériel d'étude reçu au service d'anatomie-pathologique est souvent sous forme de biopsies.

Le diagnostic anatomopathologique du CBP repose sur l'étude morphologique, complétée par une étude immunohistochimique pour étayer le diagnostic et fournir les éléments à but pronostique et théranostique par la mise en évidence de l'expression des anticorps anti-PD-L1 et anti-ALK ainsi que par une étude moléculaire basé notamment sur la recherche de mutations EGFR [2].

Le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) est un récepteur membranaire à activité tyrosine kinase. Il devient un oncogène par acquisition d'une mutation activatrice, située essentiellement dans les exons 19 ou 21 du gène. Il joue un rôle clé dans l'apparition et le développement des adénocarcinomes pulmonaires mutés pour l'EGFR. Cette altération moléculaire agit comme un driver oncogénique et confère une sensibilité à des traitements ciblés [3].

Le gène ALK (Anaplastic Lymphoma Kinase) est situé sur le bras court du chromosome 2 et code pour un récepteur membranaire à activité tyrosine kinase. Le réarrangement du gène ALK dans les CBNPC est le plus souvent un réarrangement intrachromosomique avec un autre gène, le plus fréquemment EML4 (Echinoderm Microtubule Associated Protein Like 4). Cette anomalie moléculaire est observée dans environ 5 % des adénocarcinomes pulmonaires primitifs. Le crizotinib, inhibiteur de la tyrosine kinase ALK, a montré une activité clinique significative dans le traitement des CBNPC avec réarrangement ALK et est actuellement entré en routine

clinique. Les méthodes de détection du réarrangement ALK sont immunohistochimiques et/ou moléculaires par technique d'hybridation in-situ fluorescente (FISH) [4].

Ces dernières années, l'immunothérapie a modifié les normes de traitement des patients atteints de CBNPC à un stade avancé. Les inhibiteurs de points de contrôles immunitaires (check-points), en particulier (PD-L1), sont apparus comme de nouvelles stratégies prometteuses de traitement du CBNPC, démontrant ainsi de meilleurs résultats par rapport à la chimiothérapie en terme d'efficacité [5].

Objectifs de ce travail :

Le but de notre étude est de dresser le profil mutationnel EGFR, du réarrangement ALK et immunohistochimique PDL1 des carcinomes broncho-pulmonaires, diagnostiqués au service d'anatomie pathologique du CHU Mohamed VI Marrakech. Cette approche nous permettra de :

- ✚ Donner un aperçu sur le profil moléculaire des cancers broncho-pulmonaires au niveau de la région de Marrakech.
- ✚ Comparer nos résultats avec les autres structures hospitalières nationales et internationales d'anatomie pathologique dans le domaine des carcinomes broncho-pulmonaires.
- ✚ Affiner les indications thérapeutiques et la prise en charge des carcinomes broncho-pulmonaires.
- ✚ Etablir des valeurs pronostiques et prédictives des cancers du poumon étudiés dans notre service.
- ✚ Proposer un exemple de compte rendu standardisé du profil moléculaire du cancer du poumon.



MATERIEL ET METHODES



I. Type de l'étude et patients:

1. Type et durée de l'étude :

C'est une étude descriptive étalée sur une période de 24 mois « à partir du 1^{er} Janvier 2018 jusqu'au 01 Janvier 2020 » portant sur 128 cas de patients atteints d'un carcinome broncho-pulmonaire non à petites cellules.

2. Patients étudiés :

Le matériel d'étude a consisté en des **prélèvements tissulaires** parvenus au laboratoire à l'état frais ou fixé au Formol (biopsie tumeur primitive ou le site métastatique ou récidive ou pièce opératoire de lobectomie et de pneumectomie) et en des **blocs tissulaires enrobés en paraffine** émanant du secteur libéral ou du secteur public.

2.1. Critères d'inclusion :

- Patients présentant un CBNPC confirmé à l'étude anatomo-pathologique.
- Prélèvements tissulaires internes au CHU de Mohammed VI de Marrakech et externes reçus de laboratoire d'anatomie-pathologique du secteur public et du secteur libéral.

2.2. Critères d'exclusion :

- Tumeurs pulmonaires autres que les CBNPC.
- Altérations tissulaires : retard de fixation du matériel tumoral, congélation.
- Epuisement du matériel tumoral.
- Nécrose tumorale extensive sans cellules tumorales viables.

II. Méthodes d'étude :

1. Circuit du prélèvement tissulaire destiné à l'étude ALK et PDL-1 :

1.1. Schéma général :

Un circuit standard est traversé par les prélèvements tissulaires reçus au sein du service d'anatomie-pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech pour l'obtention d'un résultat histologique, immun histochimique ou moléculaire des cancers broncho-pulmonaire non à petites cellules.



Figure 1: Processus et circuit de réalisation du diagnostic d'un cancer broncho-pulmonaire non à petites cellules au sein du service d'anatomie pathologique, CHU Med VI Marrakech

1.2. Etude Immunohistochimique utilisant l'anticorps anti-PD-L1 et anticorps anti-ALK :

a. Les impératifs de la technique immunohistochimique :

a.1. La fixation :

La phase pré-analytique conditionne la qualité de la technique immunohistochimique et donc la détection des protéines par IHC. C'est pour cela que ces étapes doivent être contrôlées et maîtrisées, en particulier par le personnel en charge de la fixation.

Il est recommandé de réduire le plus possible la durée d'ischémie froide des prélèvements tissulaires. L'ischémie froide est définie comme le temps écoulé entre le moment où le prélèvement tissulaire est extrait du corps humain et sa mise au contact du fixateur. Généralement pour les pièces opératoires un retard de fixation supérieur à 1 heure diminue de manière significative la détection de marqueurs immunohistochimiques. Pour les biopsies, il faut fixer le prélèvement immédiatement dans le fixateur (délai de quelques minutes).

Le meilleur fixateur recommandé est le formol tamponné à 4%.

Les prélèvements doivent être fixés durant 6heures pour les biopsies et jusqu'à 48h pour les pièces opératoires, en utilisant un volume de fixateur suffisant.



Figure 2 : Formol tamponné à 4%

Un autre paramètre important à prendre en considération est l'inclusion en paraffine. L'utilisation d'une paraffine à point de fusion bas (inférieur à 60°C) est recommandée.

a.2. La gestion du matériel tumoral :

L'évaluation de la qualité de la préservation du tissu et de sa fixation et de la quantité de cellules tumorales viables sur la coloration standard à l'Hématéine éosine (HE) est une étape préalable indispensable à toute interprétation. La sélection tumorale par le pathologiste vise à fournir un nombre suffisant de cellules tumorales sur le fragment sélectionné afin d'éliminer les zones non tumorales qui peuvent augmenter le bruit de fond ou masquer des mutations. L'utilisation rationnelle du prélèvement tissulaire biopsique est fondamentale pour éviter l'épuisement tumoral. Cette gestion du matériel biopsique débute par l'inclusion des fragments dans plusieurs cassettes. Un second moyen consiste à réaliser d'emblée plusieurs lames blanches (coupes de paraffine de 3 µm à 5 µm) pour ne pas avoir à dégrossir à nouveau le bloc et épuiser le matériel tissulaire. Il faut prévoir un nombre suffisant de lames blanches pour réaliser les techniques complémentaires : immunohistochimie et éventuellement biologie moléculaire.



Figure 3 : Essuyage du microtome et de la pince par DNA lytique, décontamination

Au Service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech

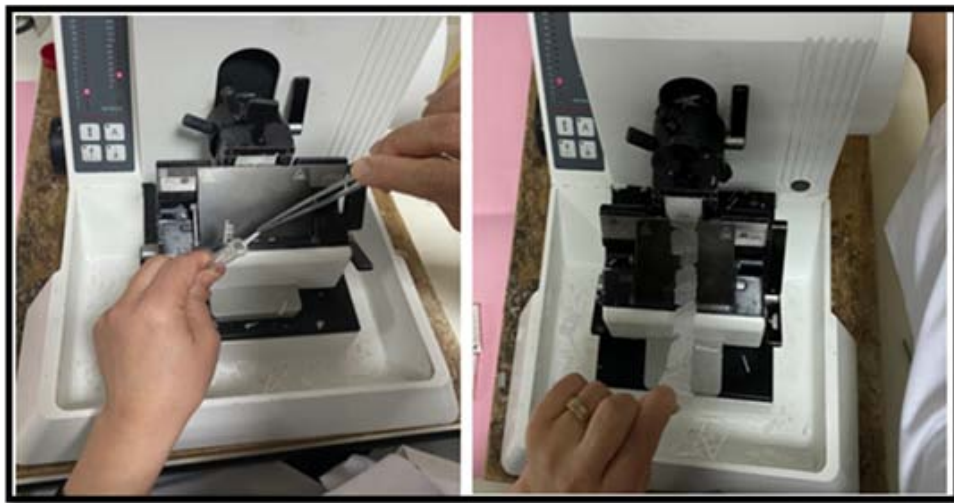


Figure 4 : Réalisation de coupes et rubans des prélèvements à étudier.

Service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech



Figure 5 : Étalement des coupes réalisées posées sur lames puis sur plaque chauffante

Service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech

Il faut prévoir 8 lames blanches :

- Une lame d'un niveau (HE) pour sélection tumorale : permet de réaliser la sélection tumorale (% des cellules tumorales infiltrantes viables)
- Deux lames d'un niveau (Panel P40, TTF1) plus au moins CK7 et CK20 : panels immunohistochimiques afin de confirmer l'origine histologique et le type histologique si doute.
- Une lame de 3 niveaux pour EGFR : recherche de mutation EGFR (étude moléculaire).
- Une lame d'un seul niveau PDL1 : afin de mettre en évidence l'expression de l'anticorps anti PD-L1.
- Deux lames d'un niveau ALK : afin de mettre en évidence l'expression de l'anticorps anti-ALK et pour compléter par une technique FISH si nécessaire.

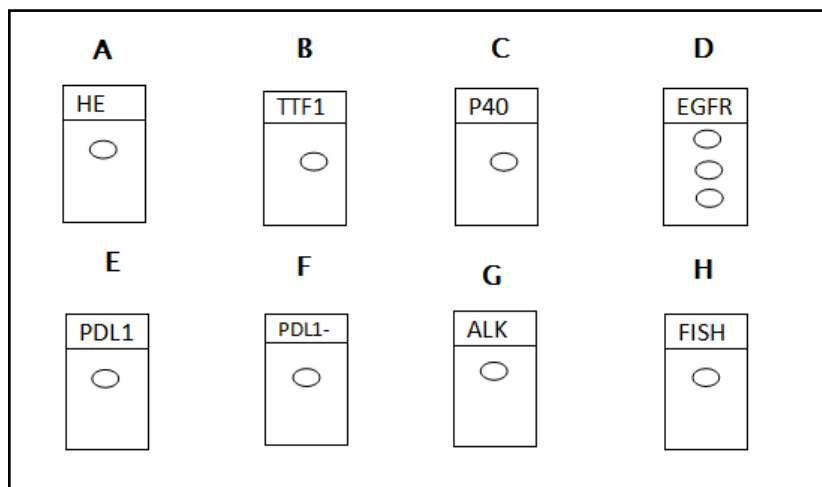


Figure 6 : Les différentes lames blanches

A : Une lame d'un niveau (HE) pour sélection tumorale

B.C : Deux lames d'un niveau (Panel P40, TTF1) pour étayer le type histologique

D : Une lame de 3 niveaux pour étude EGFR par biologie moléculaire

E.F : Deux lames d'un niveau pour l'anticorps anti-PDL1

G.H : Deux lames d'un niveau pour étude ALK par immunohistochimie ou par FISH si résultat équivoque en immunohistochimie.

1.3. Étapes techniques de l'étude immunohistochimique

- **Incubation** : les lames ont été incubées toute une nuit dans l'étuve à 37°C.
- **Déparaffinage et démasquage** : les lames ont été prétraitées par ébullition pendant 20 min dans un Bain marie automatique (PT Link) dans un tampon de démasquage (pH 6, Dako) à une température de 98°C. Cette opération va nous permettre de débarrasser le tissu de la paraffine, de le réhydrater et enfin de démasquer les antigènes.

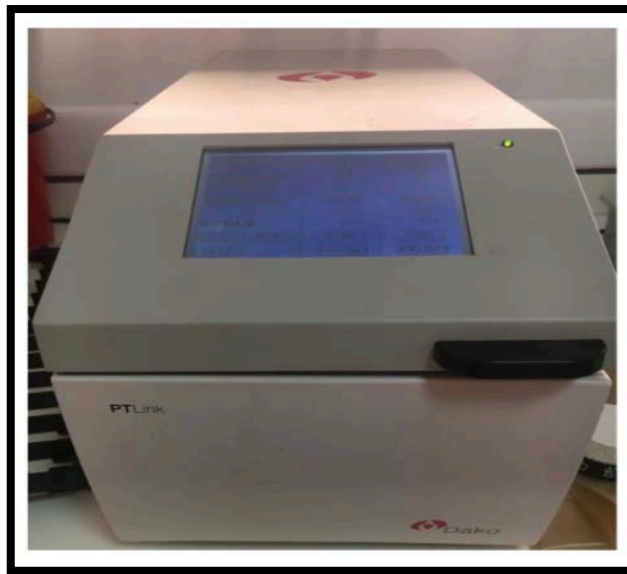


Figure 7: Appareil de prétraitement PT Link, service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech

- **Méthode d'immunopéroxydase** : utilisée pour visualiser les anticorps fixés, avec comme chromogène le 3,3'- Diaminobenzidine (DAB) de Dako.
- **Les lames ont été disposées dans l'automate Autostainer :**
 - Dépôt et incubation avec l'anticorps anti-PD-L1 ou avec l'anticorps anti-ALK.
 - Dépôt et incubation avec l'anticorps secondaire (HRP).
 - Dépôt et incubation avec le chromogène DAB brun.

- Dépôt d'un produit « Enhancer » pour intensifier le marquage immunohistochimique si présent.



Figure 8 : Appareil d'immunohistochimie AutostainerLink48 de Dako, service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech.



Figure 9: Logiciel de traçabilité de la technique immunohistochimique, service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech

➤ Contre-coloration et montage :

- Dépôt de l'Hématéine de Mayer pour contre colorer en bleu les noyaux.
- Hors de l'automate, on réalise une déshydratation et montage entre lame et lamelle.

L'appareil Autostainer Linker (Dako) a permis d'effectuer la technique immunohistochimique (IHC) automatisée. Ceci pour évaluer l'expression membranaire des cellules tumorales infiltrantes de l'anticorps anti PDL-1 et de l'anticorps anti ALK. L'automatisation de la technique permet d'optimiser au maximum et d'avoir une paillasse de qualité.

Cette technique immunohistochimique est soumise au contrôle qualité de l'UK NEQAS (Service national externe d'évaluation de la qualité du Royaume-Uni)



Figure 10: Blocs et coupes de tissus fixés et inclus en paraffine :cas du cancer broncho-pulmonaire non à petites cellules.

Tableau I : Marqueurs utilisés en technique immunohistochimique

Marqueurs	Fabriquant	Clone	Expression
PDL1	Dako	22C3	Membranaire
ALK	SA4	Abcan	Cytoplasmique

2. Protocole d'IHC pour la révélation de l'expression de PDL1 :

Pour la recherche de l'expression de l'AC anti PD-L1 dans le cancer du Poumon, nous avons utilisé un Kit validé, commercialisé par Dako(Kit PD-L1 IHC 22C3 PharmaDx anticorps monoclonal anti PD-L1 clone 22C3 avec système de visualisation En Vision FLEX). Ce Kit contient tous les réactifs (prêt à l'emploi) nécessaires pour la technique classique d'immunohistochimie. Le kit contient aussi des lames témoins comprenant des lignées cellulaires positives à l'anticorps anti PDL-1 et des lignées cellulaires négatives a l'anticorps anti PDL-1.

Tableau II : Protocole d'immunohistochimie pour la révélation de l'expression de l'anticorps anti PDL1.

Anticorps primaire	Prétraitement	Dilution De l'anticorps	Temps d'incubation de l'anticorps anti PDL1	Réactif de visualisation de l'anticorps anti PDL1	Temps d'incubation HRP	Révélant du complexe AG-AC
Anti-PDL-1	Tampon concentré (x50) PH6 Couleur rose	Prêt à l'emploi Dako	30 min	Polymère HRP conjugué Dako	20 min	Dab (kit Dako)

3. Détermination de l'expression de l'anticorps anti PDL1:

3.1. Les témoins interne et externe

L'interprétation du marquage de l'anticorps anti-PDL1 nécessite des témoins internes et externes avant toute analyse. Les témoins positifs externes permettent de contrôler que le protocole d'immunohistochimie offre la sensibilité requise, on utilise généralement le tissu amygdalien ou placentaire. Si le témoin positif externe n'est pas ou insuffisamment marqué, la lame ne doit pas être interprétée. Les témoins internes exprimant PD-L1 sont les cellules dendritiques et macrophages ainsi que certains sous-types de lymphocytes T et B. Le témoin externe négatif permet de s'assurer qu'il n'y a pas de marquage non spécifique de type bruit de fond ou marquage cytoplasmique. On utilise généralement le tissu tumoral du patient.

3.2. L'expression de l'anticorps anti PDL-1 :

Un marquage membranaire linéaire, complet ou non et quelle qu'en soit l'intensité, doit être pris en compte pour déterminer le pourcentage de cellules tumorales exprimant PD-L1. Différentes techniques sont proposées pour aider à résoudre le problème de l'hétérogénéité tumorale, surtout sur des pièces opératoires. Il est possible :

-Soit d'évaluer le pourcentage de zones fortement marquées (3+ d'intensité) visibles dès le faible grossissement, de zones moyennement marquées (2+) et de zones faiblement marquées (1+) visibles seulement à fort grossissement, et les additionner pour obtenir un pourcentage total de cellules marquées.

- Soit d'évaluer les zones de pourcentages de positivité identique et les additionner.

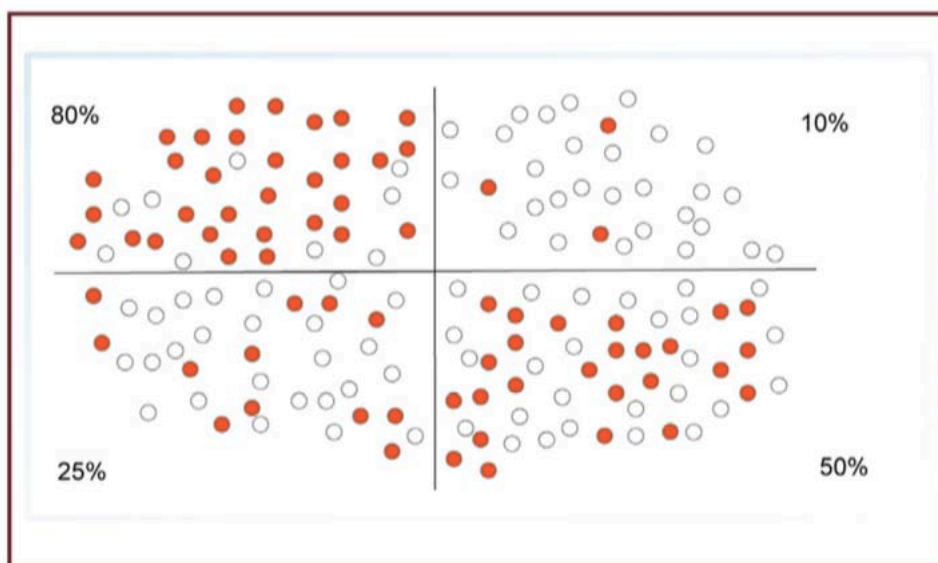


Figure 11: Exemple de méthode permettant de quantifier l'expression de l'anticorps anti PD-L1.

On peut ainsi déterminer à faible grossissement des zones équivalentes mais présentant des pourcentages de positivité différents et faire ensuite la moyenne de ces pourcentages. Dans l'exemple ci-contre, le % de cellules tumorales marquées est $(80 + 10 + 25 + 50) : 4 \sim 40 \%$.

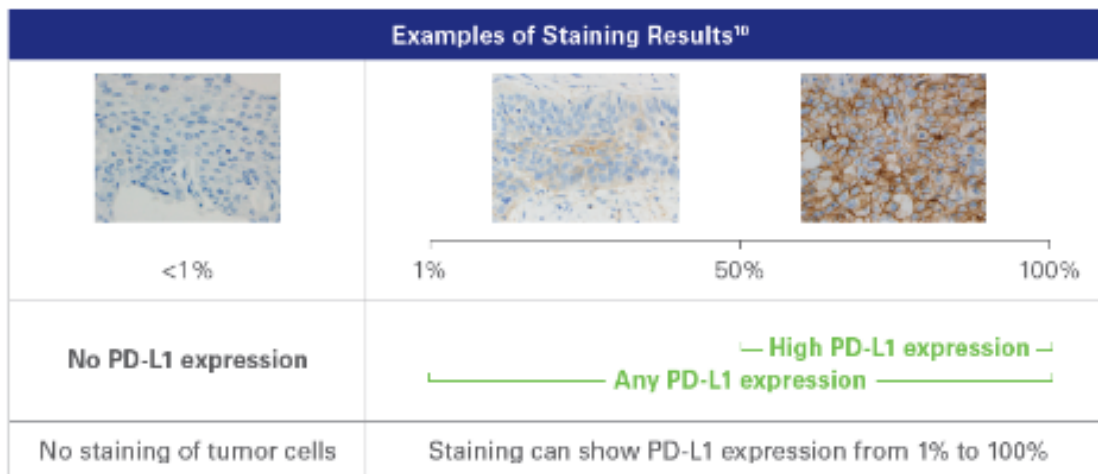
L'expression de la protéine PD-L1 est déterminée à l'aide du score de la proportion de tumeurs (TPS), qui correspond au pourcentage de cellules tumorales présentant un marquage partiel ou complet membranaire.

L'interprétation est scorée selon le tableau suivant :

Tableau III: Interprétation de l'immunohistochimie de PD-L1

	Score de la Proportion de Tumeurs (TPS)		
Niveau d'expression du PD-L1	TPS < 1%	TPS = 1-49%	TPS ≥ 50%
Etat d'expression du PD-L1	Absence d'expression de PD-L1	Expression de PD-L1	Expression élevée de PD-L1

PD-L1 expression level is measured using the tumor proportion score (TPS), the percentage of tumor cells staining for PD-L1 (0% to 100%)^{9,10}



Stains are at 40x magnification. Reproduced with permission of Dako Denmark A/S, a subsidiary of Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, California, USA. All rights reserved.

Figure 12 : Différents niveaux d'expression PD-L1

Ces états d'expression conditionnent la prise en charge thérapeutique.

4. Protocol pour la révélation du statut ALK (Anaplastic lymphoma kinase):

4.1. Détermination du statut ALK par immunohistochimie :

La détermination du statut ALK repose sur la mise en évidence de l'expression de l'anticorps anti-ALK par technique immunohistochimique en premier lieu. Cette technique détecte l'expression de la protéine sous forme d'un marquage cytoplasmique granuleux. Il existe plusieurs anticorps anti-ALK. Tous ne sont pas adaptés au screening des cancers du poumon. Les clones 5A4 et D5F3 sont validés dans la littérature et sont utilisables sur toutes les plateformes.

L'utilisation du clone D5F3 avec le kit de détection Optiview® et le kit d'amplification Optiview® (kit Ventana® IVD) donne accès à un test entièrement automatisé. Il est réservé aux structures équipées d'une plateforme Ventana®. Ce test très sensible, classé IVD (in vitro diagnostic), permet une évaluation binaire reproductible de la coloration (statut positif ou

négatif). Dans les cas positifs, avec les clones D5F3 et 5A4, le marquage est habituellement observé dans la grande majorité ou la totalité des cellules tumorales.

Le résultat est donné sous forme de score, schématiquement :

- Un test ALK de score 3+ (intensité forte) : suffit pour indiquer une thérapie ciblée.
- Un test de score 2+ ou 1+ : nécessite de rechercher un réarrangement d'ALK par technique FISH avant la mise en route d'un traitement.
- Un test négatif en IHC : ne nécessite pas de contrôle FISH et il n'y a pas d'indication de traitement ciblé.

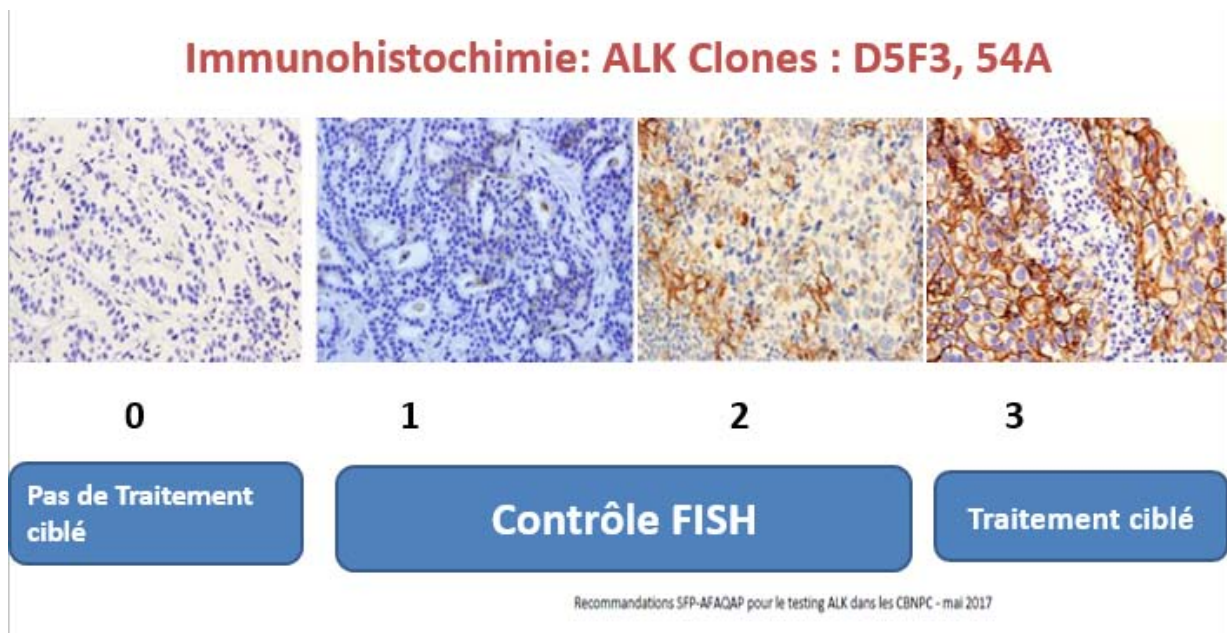


Figure 13 : Les différents stades d'expression d'ALK positifs par technique immunohistochimie

4.2. Détermination du statut ALK par FISH :

La technique FISH est utilisée pour la validation des tests IHC positifs et plusieurs études ont démontrés la bonne concordance entre ces deux tests. La technique de FISH utilise habituellement des sondes de break-apart ou split qui permettent de certifier la présence d'un réarrangement mais sans identifier le gène partenaire.

Le principe de la FISH Break Apart est l'utilisation de sondes fluorescentes de couleurs différentes encadrant la région 2p23 contenant ALK : une sonde verte et une sonde rouge qui s'hybrident de part et d'autre du point de cassure situé dans l'exon 20 du domaine kinase d'ALK. En l'absence de réarrangement : les deux sondes apparaissent comme étant accolées l'une à l'autre. En cas de réarrangement, les sondes apparaissent comme étant séparées l'une de l'autre quel que soit le partenaire d'ALK. Le risque de faux-positif est d'environ 5 %. La technique de FISH ne peut être interprétée que sur un prélèvement comportant un nombre suffisant de cellules tumorales (100 noyaux intacts). Le seuil de positivité préconisé est de 15% de cellules réarrangées.

Les étapes de la technique FISH:

- a. Récupérer la lame blanche préalablement réalisée et destinée à l'étude
- b. Déparaffinage : sous hotte, 4 bains de xylène
- c. Digestion enzymatique à la pepsine : pour favoriser l'accès de la sonde au noyau, +/- 10mn à 37°C puis arrêt par lavages
- d. Dénaturation : pour rompre les liaisons covalentes des deux brins d'ADN, Bain-Marie ou au micro-ondes (température de 100°C) puis lavages 2 à 3mn à température ambiante
- e. Déshydratation : éviter la dilution de la sonde, bains d'alcool croissants, séchage 20 minutes à l'air
- f. Application de la sonde : déposer 10 μ l par lame, poser une lamelle, sceller à la colle autour de la lamelle
- g. Hybridation : 15 à 20h à 37° ou 45°C sur plaque chauffante, étuve ou Hybridizer
- h. Interprétation des résultats au microscope à fluorescence.



Figure 14 : Application de la sonde Break Apart, service d'anatomie-pathologique CHU Mohammed VI Marrakech



Figure 15 : Hybridation de la sonde sur Hybridizer, service d'anatomie-pathologique CHU Mohammed VI Marrakech

5. Biologie moléculaire:Recherche de mutations EGFR :

5.1. Low density micro array based platform : « Genomica »

C'est une plateforme de micropuces à faible densité à usage clinique qui permet la détection de cibles multiples en un seul test. Le traitement des échantillons est simple. L'analyse et l'interprétation des résultats sont effectuées automatiquement par un lecteur (CAR ou clinical array reader) Figure ci-dessous utilisant un logiciel sur mesure. Sa simplicité rend cette technologie adaptée à tous les laboratoires de diagnostic moléculaire.

La technique débute par une macrodissection de la zone la plus riche en cellules tumorales (>50% si possible). La macrodissection est suivie par une extraction de l'ADN tumorale. Il s'agit d'une étape essentielle automatisée utilisant l'appareil Maxwell 16 System. Après extraction de l'ADN tumoral, on réalise une amplification de l'ADN par PCR grâce à l'automate Genomica.



Figure 16 : Clinical array reader « Appareil GENOMICA », centre de recherche clinique CHU Mohammed VI Marrakech

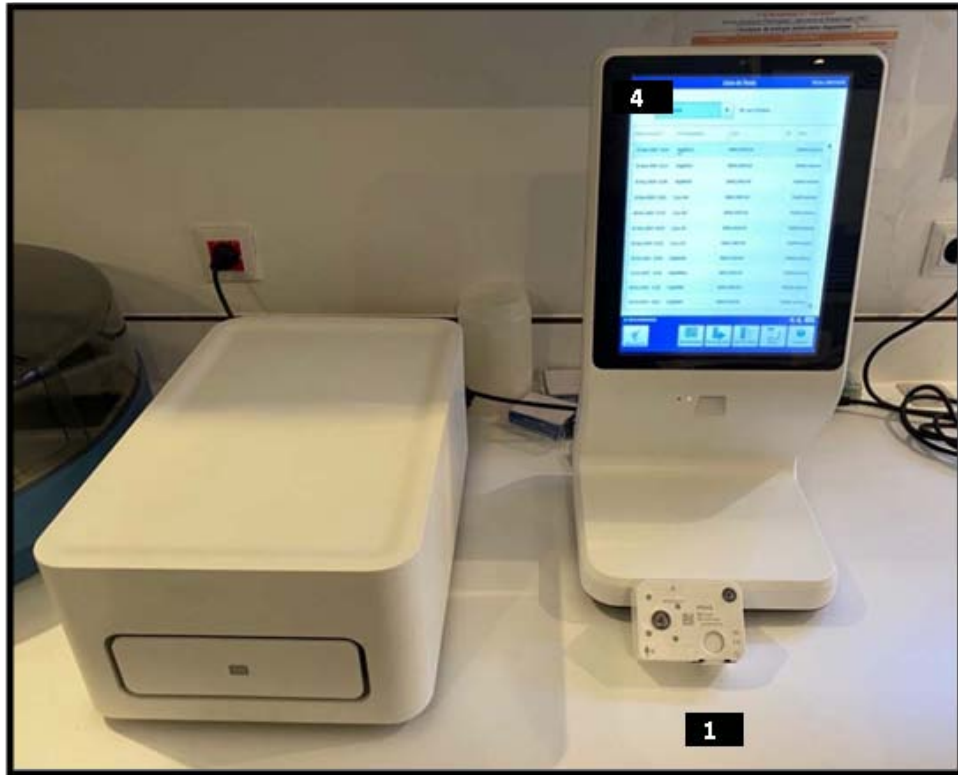
Testing moléculaire EGFR, PDL1 et ALK dans les carcinomes broncho-pulmonaires au CHU Mohammed VI de Marrakech : Etude prospective de 2 ans.



Figure 17 : Étapes de sélection tumorales et extraction d'ADN(riche en cellules tumorales de 60% marquée par le pathologiste), service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI

5.2. Full-automated real-time PCR based molecular testing system : «Idylla »

L'appareil Idylla est un système de test moléculaire révolutionnaire, entièrement automatisé, basé sur la PCR en temps réel conçu pour offrir des résultats en un minimum de temps. Il rend les tests moléculaires rapides, pratiques et adaptés à n'importe quel laboratoire certifié.



**Figure 18 : Appareil Idylla automatisé de recherche de mutations, centre de recherche clinique
CHU Mohammed VI Marrakech**

6. Le compte-rendu anatomopathologique:

Pour harmoniser les comptes rendus d'anatomie-pathologiques et afin d'améliorer la communication entre cliniciens, chirurgiens, anatomo-pathologistes et thérapeutes, des comptes rendus types standards ont été élaborés, incluant tous les paramètres nécessaires à la prise en charge du patient.

IMMUNOHISTOCHEMIE

Renseignements cliniques :

COMPTE RENDU PD-L1

Immunohistochimie préalable :

Anticorps	Anti-CK7	Anti-CK20	TTF1 / Napsine	P40/P63
Expression				

Technique immunohistochimique automatisée : par autostainer Link 48 Dako

Test utilisé : Kit PD-L1 IHC 22C3 pharmaDx anticorps monoclonal anti PD-L1 clone 22C3 avec système de visualisation EnVision FLEX

Score de la Proportion de Tumeurs (TPS)			
Niveau d'expression de la PD-L1	TPS < 1%	TPS = 1-49%	TPS ≥ 50%
Etat d'expression de la PD-L	Absence d'expression de PD-L1	Expression de PD-L1	Expression élevée de PD-L1

RESULTAT

Lame de contrôle PD-L1 IHC 22C3 pharmaDx :

Lignée NCI-H226 exprimant la protéine PD-L1	Positive
Lignée MCF-7 n'exprimant pas la protéine PD-L1	Négative

Nombre de cellules tumorales étudiées :

Lame de contrôle négatif :

Tissu tumoral traité par anticorps monoclonal de souris (igG) de contrôle dans une solution tampon, contenant une protéine stabilisante et 0.015mol/L d'Azide de Sodium	Négatif
---	---------

Lame du tissu tumoral à tester :

Niveau d'expression de la PD-L1	TPS :
Etat d'expression de la PD-L	

Figure 19:Compte-rendu type PDL-1, service d'anatomie-pathologique CHU Mohammed VI

Marrakech



Examen n° [REDACTED]

MR : [REDACTED]
Age : [REDACTED]
Destinataire : [REDACTED]
Service : LES [REDACTED]

IP : [REDACTED]
Sexe : M
Reçu le : [REDACTED]
Répondu le : [REDACTED]

IMMUNOHISTOCHEMIE

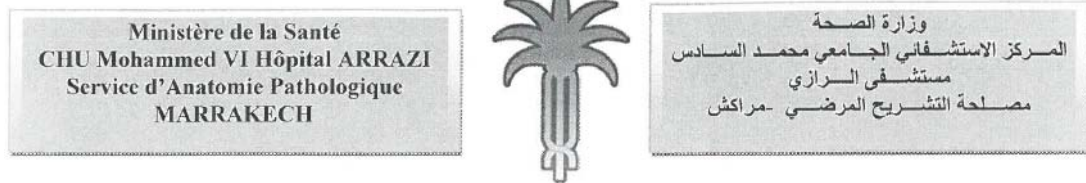
-L'étude immunohistochimique par immunoperoxydase (Technique automatisée: Dako Autost 48) après restauration antigénique au bain marie montre :

- Une expression cytoplasmique forte et diffuse des cellules tumorales de l'anticorps anti-ALK 5A4. Thermo).

Conclusion :

Aspect morphologique et immunohistochimique d'une prolifération carcinomateuse peu différenciée et infiltrante exprimant l'anticorps anti-ALK (Clone 5A4. Thermo).

Figure 20 :Compte-rendu type ALK, service d'anatomie-pathologique CHU Mohammed VI



Examen n°

FISH ALK

Renseignements cliniques :

Réf :

TECHNIQUE : HYBRIDATION IN SITU EN FLUORESCENCE FISH).

SONDE UTILISEE: ALK BREAK APART PROBE (2p23.1-p23.2). REF Z-2124-200.ZYTOVISION

INTERPRETATION: GENE ALK TRANSLOQUE : PLUS DE 15% DES CELLULES TUMORALES REARANGEES.

RESULTAT : 0 % DES CELLULES TUMORALES REARANGEES ALK.

Figure 21: Compte rendu type FISH ALK, service d'anatomie-pathologique CHU Mohammed VI.



RESULTATS



I. Caractéristiques clinico-pathologiques des carcinomes broncho-pulmonaires :

Nous avons recueilli 128 cas de carcinome broncho-pulmonaires. L'étude de la mutation EGFR, du statut ALK et de l'expression de PDL1 a été demandée.

1. Sexe :

Dans notre série, le sexe masculin représente 77% soit 98 patients alors que le sexe féminin représente 23% soit 30 femmes.

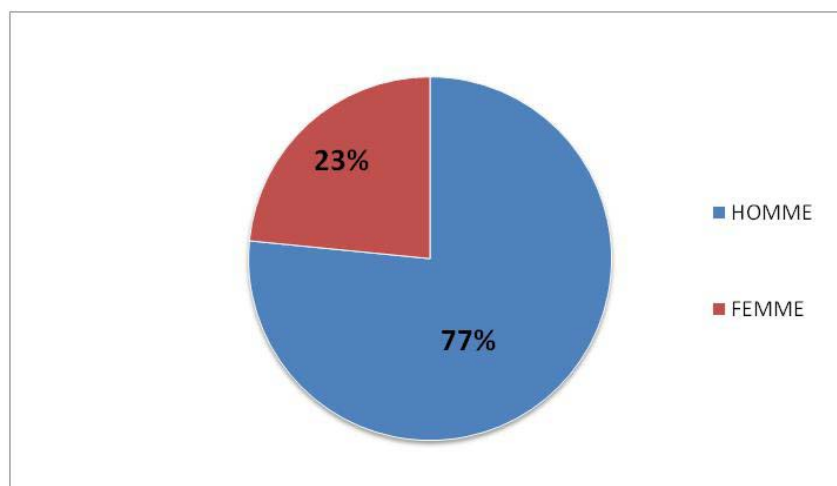


Figure 23 :Répartition de la population étudiée selon le sexe

2. Age :

La moyenne d'âge chez la population est de 61,83 ans tout sexe confondu avec des extrêmes d'âge allant de 34 à 88 ans.

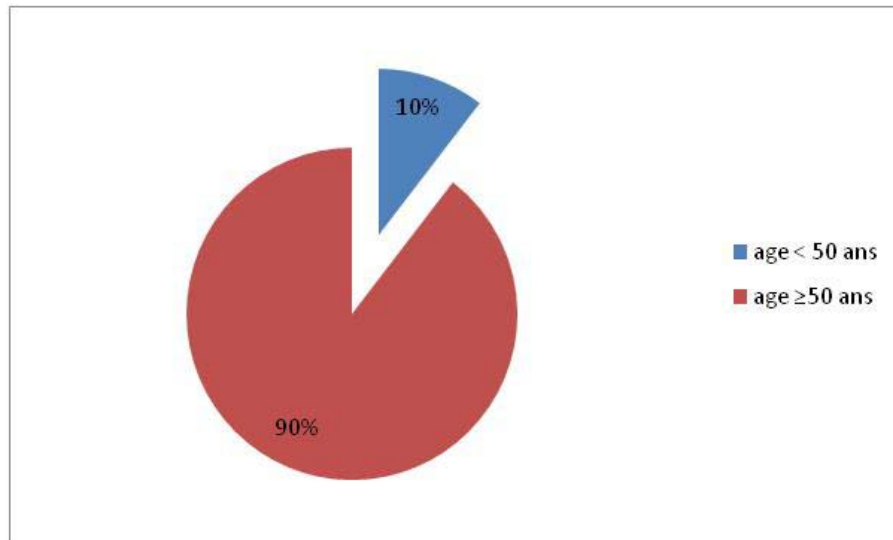


Figure 24 : Répartition des patients en fonction de l'âge exprimé en pourcentage

3. Provenance des prélèvements tissulaires :

La majorité des prélèvements étudiés sont des blocs communiqués avec un pourcentage de 73.80% (82 cas). Pour le reste des prélèvements 26.20% (29 cas), l'étude histopathologique a été réalisée au sein de notre structure (Etude interne).

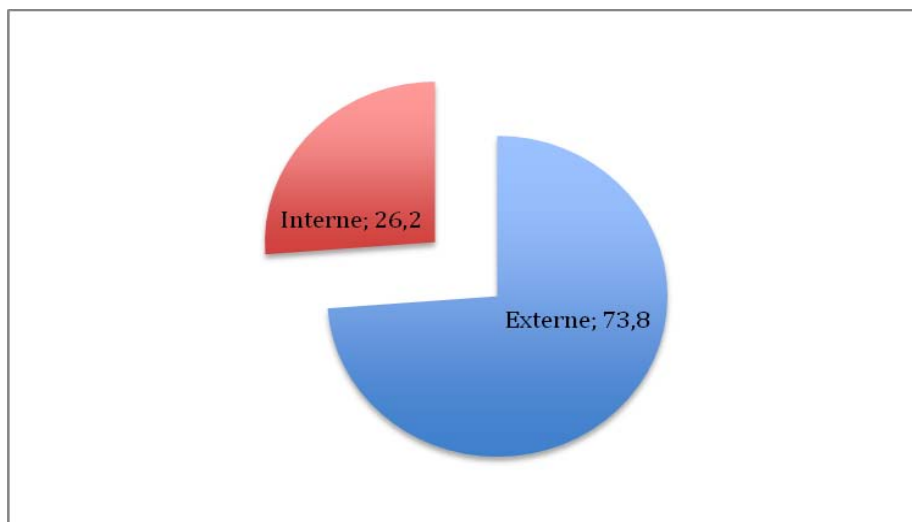


Figure 25: La répartition des cancers broncho-pulmonaires selon le lieu de l'étude histopathologique

4. Type de prélèvement :

Dans notre étude, 88% des prélèvements étaient des biopsies (n=113). Les pièces opératoires représentaient 3,9% (n=5). Le type de prélèvement n'a pas été précisé dans 8,1% des cas (n=10). Il s'agit de prélèvements externes ou seul les blocs tissulaires ont été communiqués.

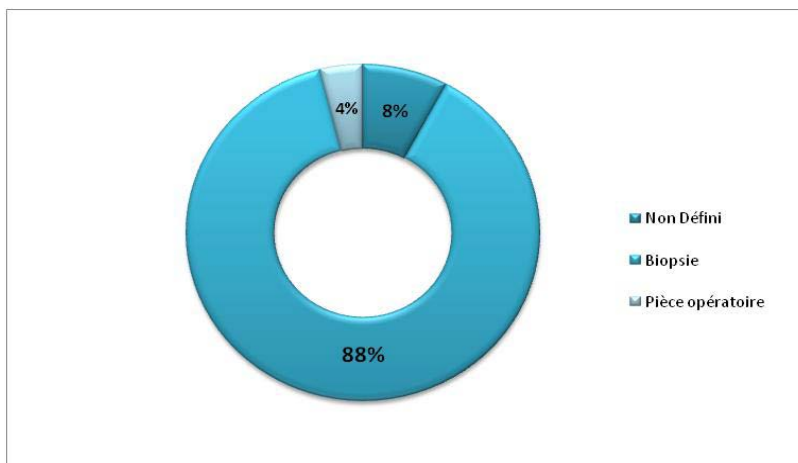


Figure 26 :Type de prélèvements tissulaires.

5. Le type histologique :

La majorité des prélèvements étudiés étaient des adénocarcinomes et représentait 76% des cas (n=98), suivi du CBNPC NOS dans 7% des cas (n=9). Le carcinome épidermoïde représentait 5% des cas (n=6). Et dans 12% des cas (n=15) il s'agit de présentations secondaires ou métastatiques.

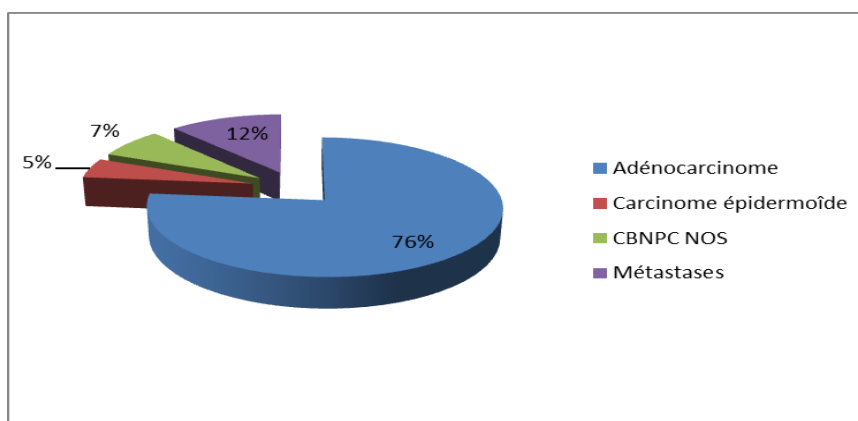


Figure 27 :Type histologique des différents cas de la population.

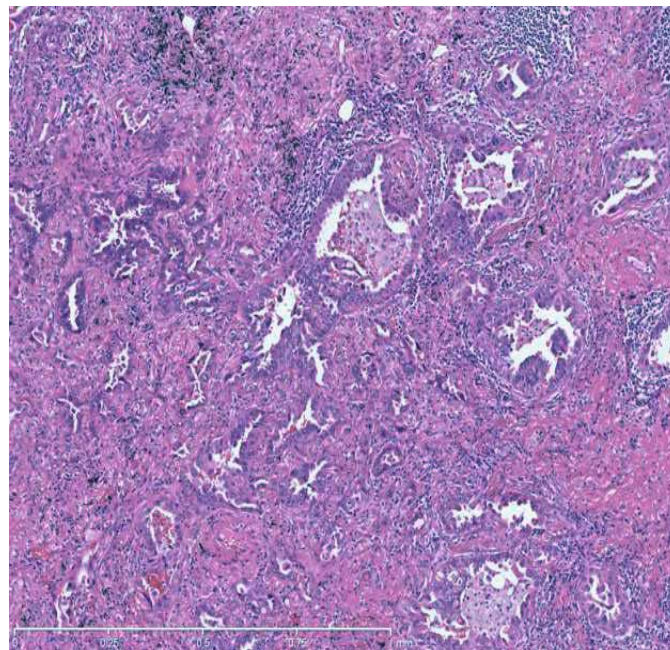


Figure 28:Photo de lame colorée selon le protocole standard d'hématoxyline Eosine d'un adénocarcinome moyennement différencié et infiltrant, service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech

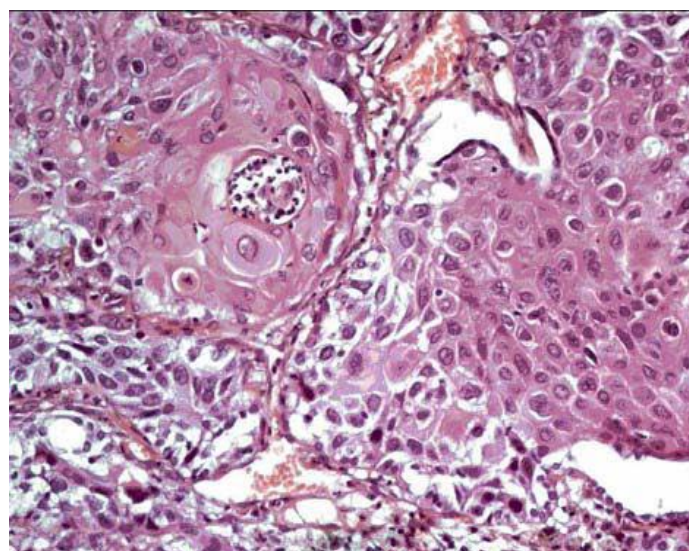


Figure 29:Photo de lame histopathologique colorée selon le protocole standard d'Hématoxyline Eosine d'un carcinome épidermoïde moyennement différencié et infiltrant, Service d'anatomie-pathologique CHU Mohammed VI Marrakech

II. Etude du statut immunohistochimique et moléculaire :

1. Expression immunohistochimique de l'anticorps anti-ALK :

L'expression immunohistochimique de l'anticorps anti-ALK a été évaluée chez les patients présentant un adénocarcinome bronchique. Elle était positive dans 3 cas, soit 2,9% de la totalité des patients testés.

Tableau IV: La fréquence d'expression de l'anticorps anti-ALK dans notre série

	Score	Fréquence	Pourcentage
ALK négatif	0	98	97,1%
ALK positif	1	0	0
ALK positif	2	2	1,93%
ALK positif	3	1	0,96%

1.1. Détection du réarrangement ALK par FISH :

Sur les 3 cas de notre série présentant une expression de l'anticorps anti-ALK :

- Le score était de 2+chez deux patients chez qui la technique FISH a objectivé une translocation chromosomique du gène ALK chez un patient
- Le score était de 3+ dans un cas

Tableau V : Répartition des cas de cancer broncho-pulmonaire a ALK positif selon les résultats de l'immunohistochimie et de l'hybridation in situ

Score ALK	Pourcentage	Effectif	FISH
2+	1,93	2	Translocation chromosomique du gène ALK chez 1 patient
3+	0,96	1	

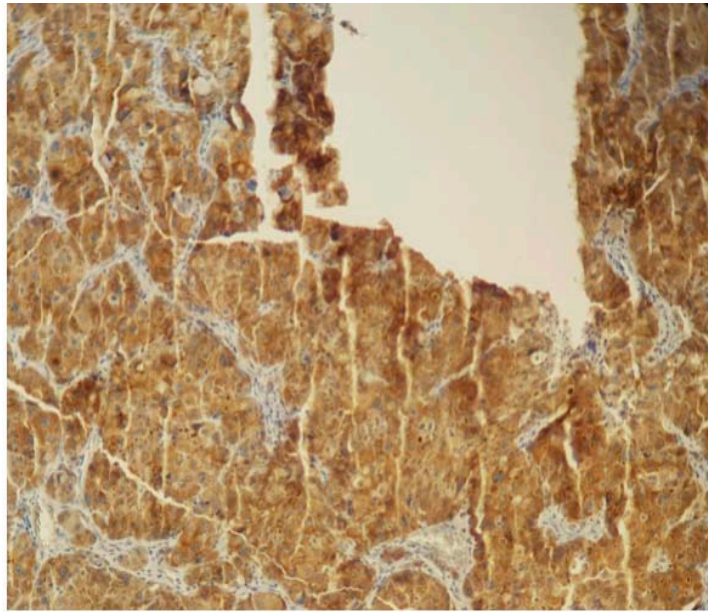


Figure 30: Expression cytoplasmique granulaire intense des cellules carcinomateuses infiltrantes de l'anticorps anti -ALK (score 3+), Service d'anatomie-pathologie CHU Mohammed VI

Marrakech

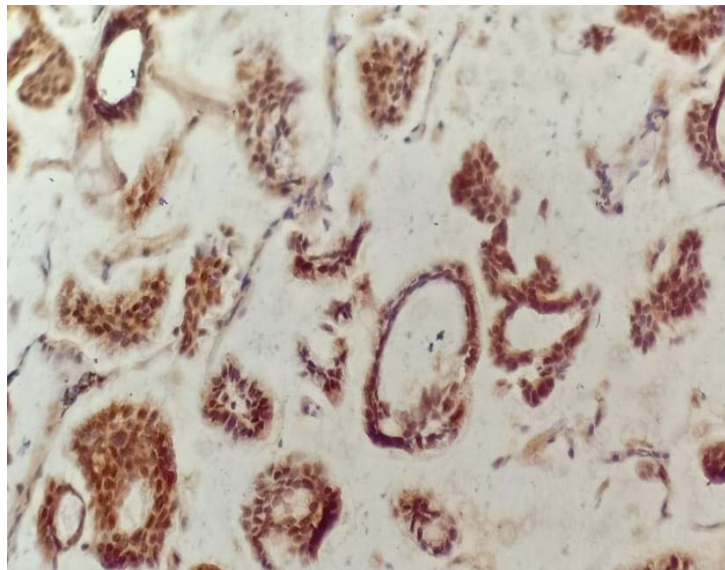


Figure 31 : Expression cytoplasmique granulaire intense des cellules carcinomateuses infiltrantes de l'anticorps anti-ALK (score 2+), Service d'anatomie-pathologique CHU

Mohammed VI Marrakech

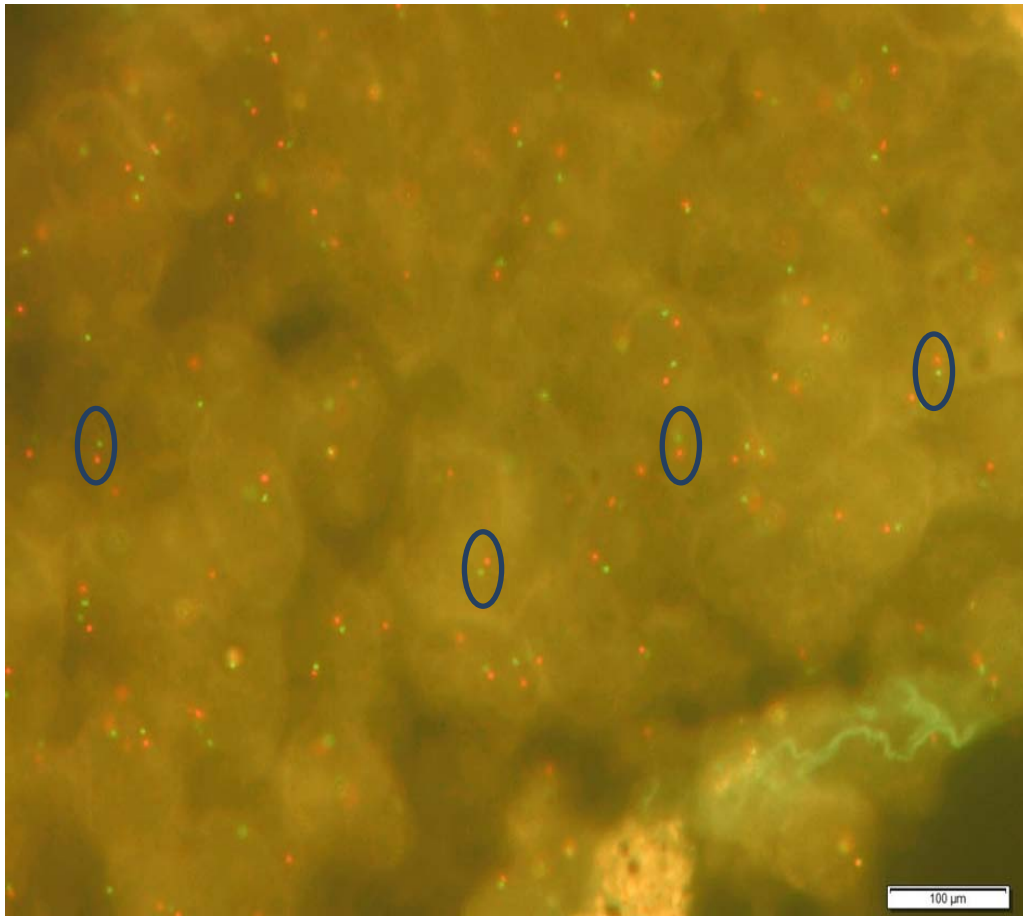


Figure 32: Fiche ALK (sonde break-apart) montrant une séparation (ou split) des deux spots marquées en rouge et en vert (situées de part et d'autre du point de cassure localisé dans l'exon 20 du domaine kinase d'ALK) et témoignant un réarrangement du gène ALK , Service d'anatomie pathologique. CHU Mohammed VI Marrakech

2. Etude du biomarqueur PDL1 :

2.1. :Expression de l'Ac anti protéine PDL1 dans notre série :

L'expression de la protéine PD-L1 est déterminée à l'aide du score de la proportion de tumeurs (TPS), qui correspond au pourcentage de cellules tumorales présentant un marquage partiel ou complet de la membrane. Elle est dite positive si elle est supérieure à 1%.

a. La fréquence de l'expression de l'anticorps anti PD-L1 :

L'expression de l'anticorps anti PD-L1 était positive dans 63 cas, soit 49% de la totalité.

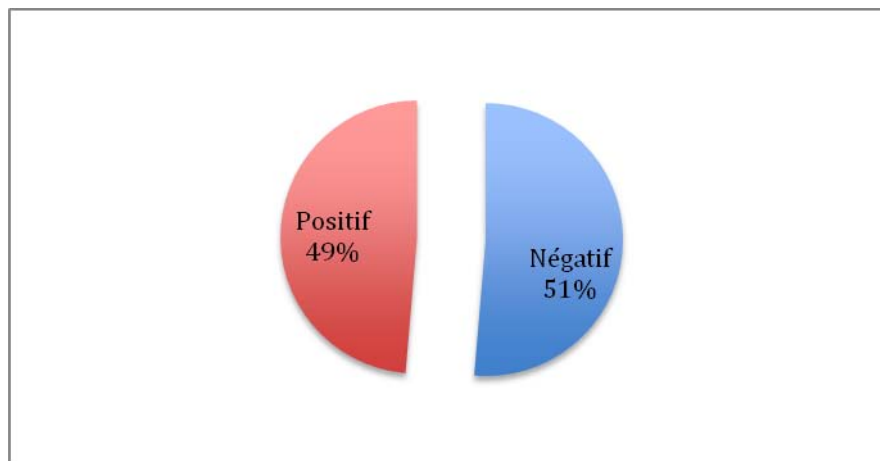


Figure 33 : Etude de l'expression de l'anticorps anti-PD-L1 dans notre série.

b. Scoring du PD-L1:

Parmi les 106 cas de cancers broncho-pulmonaires infiltrant exprimant l'anticorps anti PD-L1, la majorité avait un score inférieur à 1%.

Tableau VI: Répartitions des patients en fonction de l'expression du profil PD-L1

Score de la proportion de la tumeur (TPS)	Le nombre	Pourcentage
Inférieure à 1 %	57	51,4%
Compris entre 1% et 49%	27	25,8%
Supérieure à ou égale 50%	24	22,9%

Dans notre étude la majorité des cas 57cas soit 51,4% présentaient une absence d'expression à l'anticorps anti PD-L1 représentait par TPS<1%. Pour le reste des cas jugés positifs, 27 cas soit 25,8 % présentaient une expression modérée de anticorps anti PD-L 1

Testing moléculaire EGFR, PDL1 et ALK dans les carcinomes broncho-pulmonaires au CHU Mohammed VI de Marrakech : Etude prospective de 2 ans.

définie par une valeur de TPS= 1-49%, tant dis que le reste de nos patients positifs 24cas soit 22,9% présentaient une forte expression de PD-L1 identifié avec valeur de TPS \geq 50%.

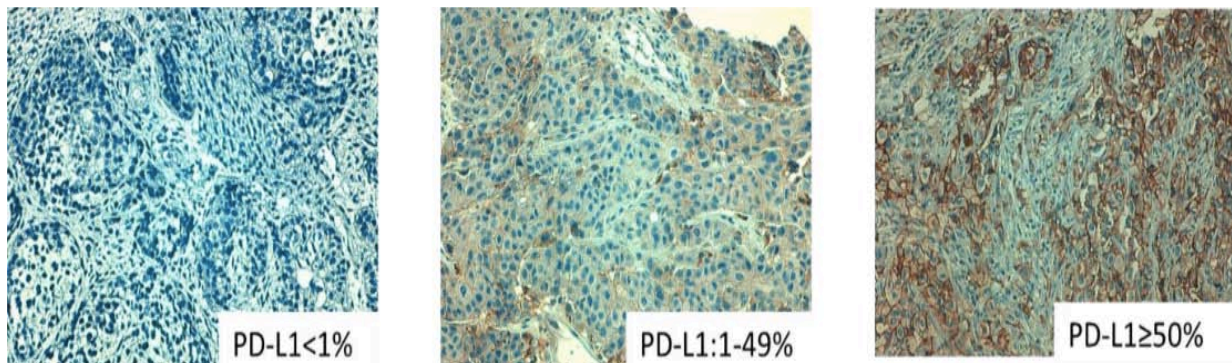


Figure 34 : Profils de l'expression immunohistochimique selon le niveau d'expression du PD-L1 service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech

2.2. Les différents pourcentages de l'expression de l'anticorps anti-PD-L1 dans notre série :

Le pourcentage de l'expression de l'anticorps anti PD-L1 dans les cancers broncho-pulmonaires était réparti de la manière suivante :

Tableau VII : La répartition des différents scores de la proportion de tumeurs TPS dans notre série

Le % de l'expression cellulaire	Fréquence
0%	3
Inférieur a1%	54
2%	2
3%	3
5%	2
10%	3
15%	2
20%	3
25%	2
30%	3
45%	3
50%	4
60%	3
65%	3
70%	2
75%	5
80%	4
85%	4
TOTAL	128

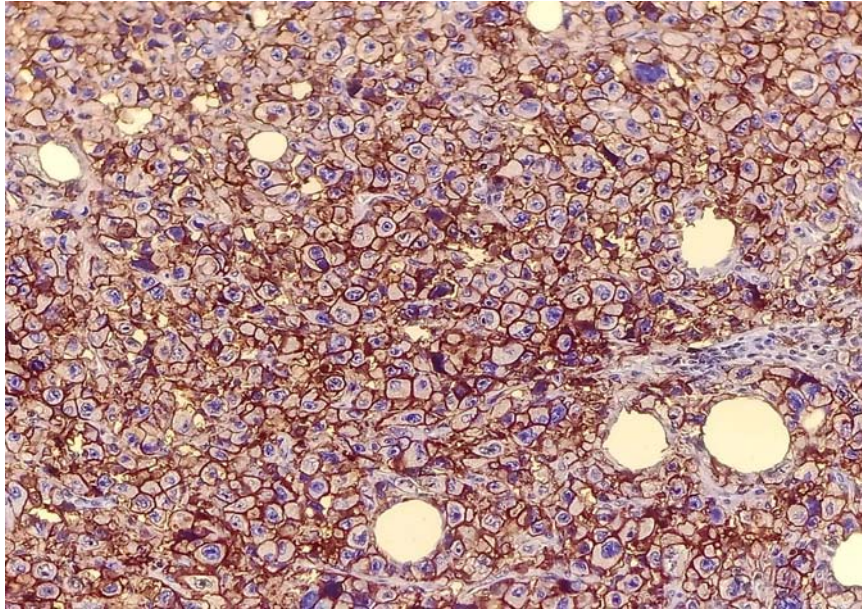


Figure 35:Photo de lame histopathologique montrant une forte expression de l'anticorps anti PD-L1 avec un TPS de 95% service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech

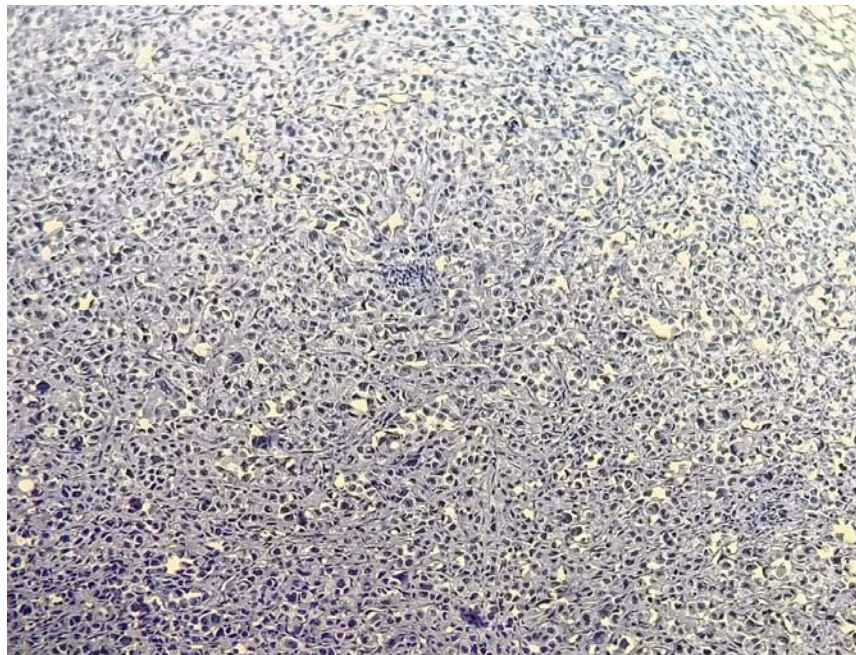


Figure 36 : Photo de lame histopathologique montrant une absence d'expression des cellules tumorales à l'anticorps anti PD-L1, TPS inférieur à 1% service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech

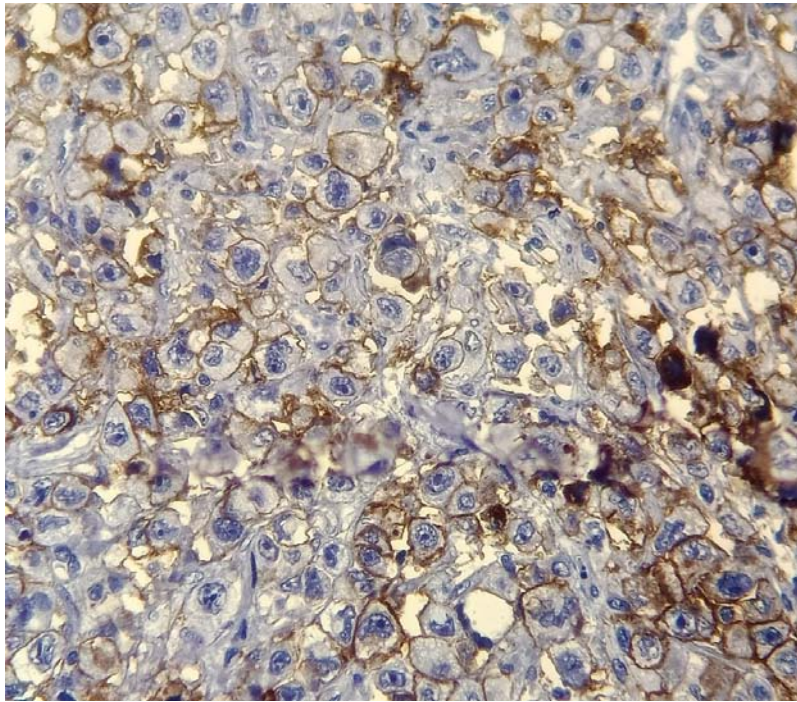


Figure 37 : Photo de lame histopathologique montrant une expression de l'anticorps anti PD-L1 avec un TPS de 35% service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech

3. Étude moléculaire de l'EGFR :

L'étude de la mutation EGFR a concerné les cas d'adénocarcinome bronchique colligés au service d'anatomie pathologique durant la période d'étude (Janvier 2018 - Janvier 2020) et qui étaient au nombre de 98. Parmi les cas étudiés, la recherche de mutation a été faite par la technique « Genomica » (Low density microarray based platform) dans 55 cas et par la technique « Idylla » (Fully-automated real-time PCR based molecular testing system) dans 43 cas. La mutation EGFR a été retrouvée chez 33 patients (33,33%).

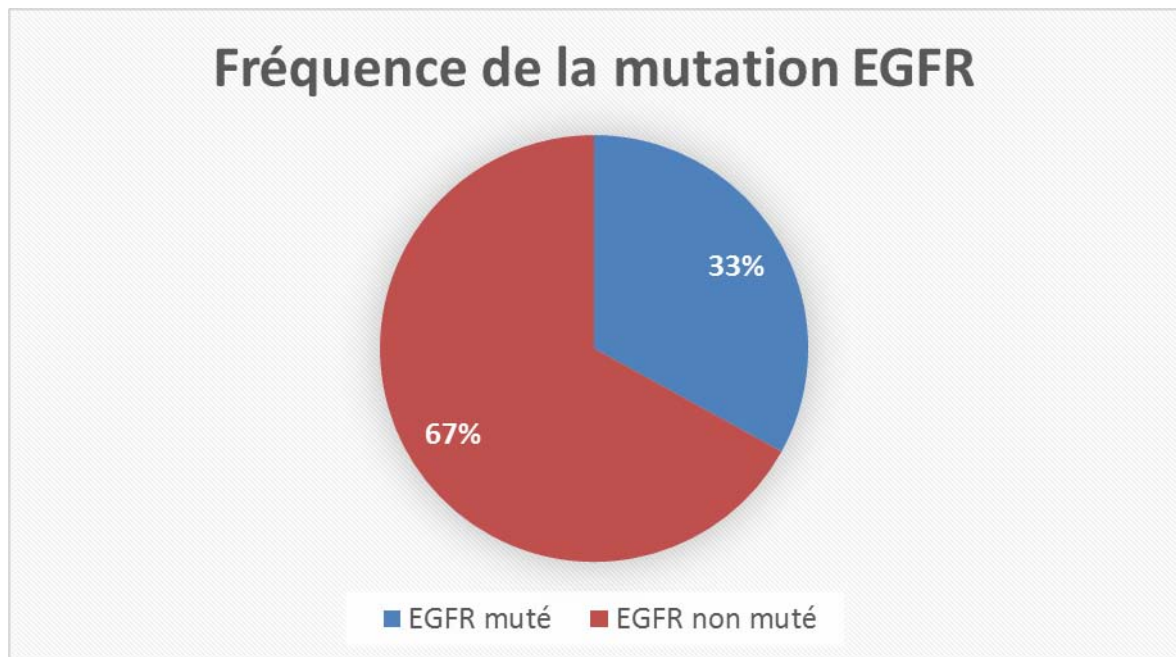


Figure 38 : Fréquence de la mutation EGFR

Dans notre série c'est l'exon 19 du gène EGFR qui était le plus fréquemment muté (72,80%) suivi de l'exon 21 (12,12%) puis de l'exon 20 (9,09%) du même gène. Tandis que l'exon 18 du gène EGFR n'était muté que dans 6,06% des cas.

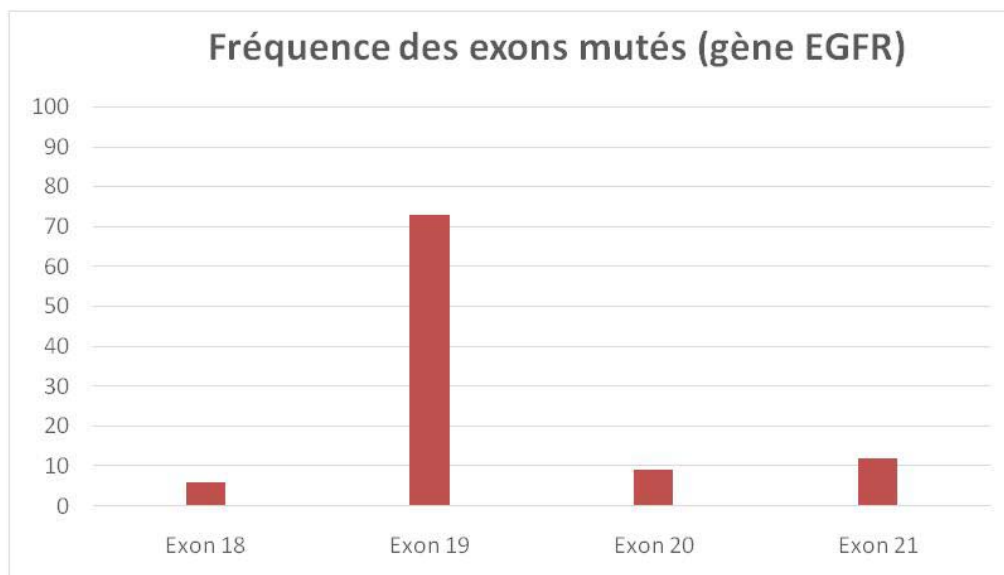


Figure 39 : Fréquence des exons mutés (gène EGFR)



DISCUSSION



I. Généralités sur le cancer du poumon :

1. Généralités :

Le cancer bronchique représente un problème majeur de la santé publique mondiale. Il s'agit du premier cancer par incidence et mortalité [6]. On distingue deux grands types de carcinome bronchique : le carcinome bronchique non à petites cellules (80%) et le carcinome bronchique à petites cellules (20%). Ces deux types de carcinomes se comportent très différemment dans leur progression et dans leur sensibilité aux traitements, d'où l'importance de les distinguer lors du diagnostic [7]. Le principal facteur étiologique dans le CBP est le tabac. Il est incriminé dans plus de 90 % des cas. Le risque augmente avec la dose mais surtout avec la durée d'exposition. Le diagnostic est souvent fait à un stade tardif devant des signes respiratoires peu spécifiques chez un adulte le plus souvent tabagique. Il repose essentiellement sur l'imagerie et la fibroscopie bronchique qui permettent de réaliser des biopsies afin de déterminer le diagnostic histopathologique [6].

Schématiquement, on distingue : les carcinomes pulmonaires non à petites cellules (CNPC) et les carcinomes pulmonaires à petites cellules (CPC). Ces deux entités ayant des caractéristiques cliniques, thérapeutiques et évolutives différentes [8]. En 2011, sur la base de travaux multidisciplinaires sous l'égide de l'IASLC (International Association for the Study of Lung Cancer), de l'ATS (American Thoracic Society) et de l'ERS (European Respiratory Society), une nouvelle classification des adénocarcinomes pulmonaires a été proposée [9]. En 2015, cette classification a été intégrée dans la nouvelle version de l'OMS [8]. L'intégration des données des analyses génétiques et moléculaires, l'utilisation de l'immunohistochimie sur petits prélèvements cytologiques et biopsiques assortie de nouvelles terminologies et recommandations propres aux prélèvements biopsiques sont également préconisée dans la 5^{ème} édition de l'OMS des tumeurs thoraciques parue en 2015 actualisée en 2021 [10,11].

Cette nouvelle édition a également apporté d'autres changements ayant porté sur plusieurs niveaux [11] :

- Changement d'ordre structural : regroupement des entités ayant la même histogenèse (lésion bénigne, lésion pré invasive, lésion maligne invasive)
- Terminologie : certaines terminologies qui étaient considérés comme «synonyme» sont désormais assignés comme « non recommandés »
- Deux nouvelles rubriques dans chaque chapitre : Biologie moléculaire, critères diagnostiques essentiels et souhaitables
- Nouvelles entités : tumeurs de faible incidence
 - Adénome bronchiolaire (tumeur papillaire mononodulaire ciliée)
 - Tumeurs thoraciques indifférenciées SMARCA 4 déficientes : perte d'expression en IHC de SMARCA 4 secondaire à une mutation du gène SMARCA 4
 - Mésothéliome in-situ
- Nouveau système de Grading des Adénocarcinomes

Malgré les avancées thérapeutiques, notamment, la découverte du rôle des mutations activatrices du gène EGFR permettant un traitement personnalisé grâce aux thérapies ciblées, le pronostic vital du cancer du poumon reste sombre avec une survie de 14 % à 5 ans. Seul un diagnostic précoce autorise une chirurgie curative [12].

2. Etude histologique :

Les CBNPC sont généralement subdivisés en deux grandes catégories: adénocarcinome et carcinome épidermoïde. La caractérisation histomorphologique, immunohistochimique et moléculaire précise du CBNPC sont des paramètres importants dans l'évaluation pronostique et donc dans les décisions thérapeutiques [13].

Testing moléculaire EGFR, PDL1 et ALK dans les carcinomes broncho-pulmonaires au CHU Mohammed VI de Marrakech : Etude prospective de 2 ans.

Epithelial tumours	Adenosquamous carcinomas
Papillomas	8560/3 Adenosquamous carcinoma
8052/0 Squamous cell papilloma, NOS	Sarcomatoid carcinomas
8053/0 Squamous cell papilloma, inverted	8022/3 Pleomorphic carcinoma
8260/0 Glandular papilloma	8031/3 Giant cell carcinoma
8560/0 Mixed squamous cell and glandular papilloma	8032/3 Spindle cell carcinoma
Adenomas	8972/3 Pulmonary blastoma
8832/0 Sclerosing pneumocytoma	8980/3 Carcinosarcoma
8251/0 Alveolar adenoma	Other epithelial tumours
8260/0 Papillary adenoma	8023/3 NUT carcinoma
8140/0 Bronchiolar adenoma / ciliated mucronodular papillary tumour†	8044/3 Thoracic SMARCA4-deficient undifferentiated tumour†
8470/0 Mucinous cystadenoma	Salivary gland-type tumours
8480/0 Mucous gland adenoma	8940/0 Pleomorphic adenoma
Precursor glandular lesions	8200/3 Adenoid cystic carcinoma
8250/0 Atypical adenomatous hyperplasia	8562/3 Epithelial-myoepithelial carcinoma
Adenocarcinoma in situ	8430/3 Mucoepidermoid carcinoma
8250/2 Adenocarcinoma in situ, non-mucinous	8310/3 Hyalinizing clear cell carcinoma†
8253/2 Adenocarcinoma in situ, mucinous	8982/0 Myoepithelioma
Adenocarcinomas	8982/3 Myoepithelial carcinoma
Minimally invasive adenocarcinoma	Lung neuroendocrine neoplasms
8256/3 Minimally invasive adenocarcinoma, non-mucinous	Precursor lesion
8257/3 Minimally invasive adenocarcinoma, mucinous	8040/0 Diffuse idiopathic neuroendocrine cell hyperplasia
Invasive non-mucinous adenocarcinoma	Neuroendocrine tumours
8250/3 Lepidic adenocarcinoma	8240/3 Carcinoid tumour, NOS / neuroendocrine tumour, NOS
8551/3 Acinar adenocarcinoma	8240/3 Typical carcinoid / neuroendocrine tumour, grade 1
8260/3 Papillary adenocarcinoma	8249/3 Atypical carcinoid / neuroendocrine tumour, grade 2
8265/3 Micropapillary adenocarcinoma	Neuroendocrine carcinomas
8230/3 Solid adenocarcinoma	8041/3 Small cell carcinoma
8253/3 Invasive mucinous adenocarcinoma	8045/3 Combined small cell carcinoma
8254/3 Mixed invasive mucinous and non-mucinous adenocarcinoma	8013/3 Large cell neuroendocrine carcinoma
8480/3 Colloid adenocarcinoma	8013/3 Combined large cell neuroendocrine carcinoma
8333/3 Fetal adenocarcinoma	Tumours of ectopic tissues
8144/3 Adenocarcinoma, enteric-type	8720/3 Melanoma
8140/3 Adenocarcinoma, NOS	9530/0 Meningioma
Squamous precursor lesions	Mesenchymal tumours specific to the lung
8070/2 Squamous cell carcinoma in situ	8992/0 Pulmonary hamartoma
8077/0 Mild squamous dysplasia	9220/0 Chondroma
8077/2 Moderate squamous dysplasia	9170/3 Diffuse lymphangiomatosis†
8077/2 Severe squamous dysplasia	8973/3 Pleuropulmonary blastoma
Squamous cell carcinomas	9137/3 Intimal sarcoma
8070/3 Squamous cell carcinoma, NOS	8827/1 Congenital peribronchial myofibroblastic tumour
8071/3 Squamous cell carcinoma, keratinizing	8842/3 Pulmonary myxoid sarcoma with EWSR1-CREB1 fusion
8072/3 Squamous cell carcinoma, non-keratinizing	PEComatous tumours
8083/3 Basaloid squamous cell carcinoma	9174/3* Lymphangiomyomatosis
8082/3 Lymphoepithelial carcinoma	8714/0 PEComa, benign
Large cell carcinomas	8714/3 PEComa, malignant
8012/3 Large cell carcinoma	

Figure 40:Classification Histologique des carcinomes pulmonaires selon OMS 2021[10]

II. Stratégie de testing moléculaire des carcinomes pulmonaires[8,14, 15,16]

Avec l'émergence de différents sous-groupes moléculaires et des thérapies ciblées, le typage histopathologique et la recherche de biomarqueurs sont devenus indispensables à la prise en charge des patients atteints de carcinomes broncho-pulmonaires (CBP) au stade métastatique.

L'analyse des marqueurs moléculaires théranostiques est aujourd'hui centrale dans la prise en charge des carcinomes pulmonaires. Ces derniers étant dans deux cas sur trois diagnostiqués à un stade avancé, ces recherches se font aujourd'hui fréquemment sur de « petits prélèvements ». La stratégie déployée commence par une caractérisation histopathologique la plus fine possible, y compris sur les biopsies et les prélèvements cytologiques. Seules les tumeurs non à petites cellules et non malpighiennes peuvent être éligibles à un testing moléculaire.

Les marqueurs moléculaires comme le récepteur au facteur de croissance épidermique (EGFR) et les réarrangements de l'Anaplastic lymphoma kinase (ALK) sont les meilleurs prédicteurs de la réponse à des traitements par inhibiteurs spécifiques de tyrosine kinase qui, ces dernières années, ont révolutionné la prise en charge des CBP présentant ces altérations génétiques. D'autres cibles moléculaires sont aujourd'hui en émergence comme KRAS(Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog), HER2 (Epidermal growth factor receptor 2), ROS1 (c-ros oncogene 1),RET (rearranged during transfection), BRAF (vraf murinesarcoma viral oncogene homolog B1), C-MET (mesenchymal-epithelial transition factor).Comme près de 75 % des patients avec un CBP sont diagnostiqués avec une maladie avancée, non résécable, il est également crucial de mettre en place des stratégies d'optimisation des prélèvements tissulaires pour aboutira un diagnostic histopathologique précis et à la mise en évidence des cibles moléculaires utiles pour la prise en charge des patients. Ainsi, le diagnostic et la recherche

d'anomalies moléculaires ciblables va se faire le plus souvent soit sur des prélèvements biopsiques (parfois peu nombreux et ou nécrosés en partie) ou sur des prélèvements cytologiques et plus rarement sur des pièces de résection pulmonaire. D'ailleurs, les nouvelles classifications distinguent les limites des diagnostics portés sur biopsies par rapport aux pièces opératoires. La stratégie de mise en place des tests moléculaires dépend de plusieurs paramètres : le type de prélèvement et le type tumoral. Cette mise au point reprend les stratégies déployées pour l'acquisition tissulaire, le typage histopathologique et l'analyse moléculaire prédictive dans les CBP non à petites cellules (CBPNPC), non malpighiens avec un focus particulier sur EGFR et ALK.

1. Patients éligibles au typage moléculaire [12,17,18]

L'avènement de nouveaux médicaments efficaces dans les adénocarcinomes comme le pemetrexed et bevacizumab, ainsi que la présence de cibles moléculaires également prédominantes dans les tumeurs non à petites cellules et non malpighiennes confèrent au sous-typage histologique du cancer du poumon un rôle crucial. Le diagnostic positif de ces tumeurs repose sur une stratégie d'utilisation d'un panel limité d'anticorps pour le diagnostic différentiel entre les adénocarcinomes (expression de TTF-1 et/ou la napsine A), les carcinomes malpighiens (p40, et les cytokératines 5/6) après élimination du diagnostic de tumeur neuroendocrine (chromogranine et /ou synaptophysine).

Tout patient présentant un CBPNPC métastatique ou localement avancé, non malpighien doit être testé à la recherche de cibles moléculaires éventuelles. Sont aujourd'hui exclus du typage moléculaire les CBP malpighiens, à petites cellules, les CBPNPC non malpighiens de stade I ou II et selon l'avis du clinicien, certains patients potentiellement éligibles en fonction de la gravité de leur état général. Il n'y a ainsi pas d'exclusion du testing selon le passé tabagique d'un patient, et dans certains rares cas, le statut non-fumeur d'un patient jeune peut même amener à proposer de tester des carcinomes malpighiens ou à petites cellules diagnostiqués sur simple biopsie.

2. Types de prélèvements permettant la réalisation des tests à visée théranostiques [19,20]

Les tests moléculaires peuvent être réalisés sur des prélèvements tissulaires ou cellulaires fixés ou sur des tissus frais.

Les prélèvements biopsiques sont les plus souvent disponibles en raison de la présentation clinique à un stade avancé. Ils peuvent être obtenus par fibroscopie, par ponction transpariétale, transbronchique ou transoesophagienne ; il peut également s'agir de biopsies métastatiques comme des biopsies osseuses ou hépatiques. Afin de permettre le diagnostic histopathologique et moléculaire, les biopsies doivent impérativement être fixées au formol tamponné avant inclusion en bloc de paraffine. Si une décalcification est nécessaire, il faudra privilégier l'EDTA qui permet de conserver un ADN de bonne qualité.

Les prélèvements chirurgicaux ont deux avantages : d'une part, permettre d'apprécier l'hétérogénéité tumorale par la précision et l'exhaustivité de l'analyse histopathologique sur pièce opératoire et ainsi ne pas exclure de patient et d'autre part l'abondance du matériel pour les tests génétiques. Les prélèvements cytologiques (aspirations bronchiques, les brossages, les ponctions pleurales, puis les cytoponctions ganglionnaires ou pulmonaires souvent échoguidées (Endo-Bronchial UltraSound [EBUS]-guided TransBronchial Needle Aspiration [TBNA]) sont très adaptés pour des tests moléculaires, en particulier si des blocs cellulaires peuvent être réalisés. Ils présentent l'avantage d'être assez purs en cellules tumorales. Ils doivent être fixés en alcool. La fixation en phase liquide permet une meilleure morphologie et éventuellement l'inclusion du culot cellulaire en paraffine a fin de permettre une étude cytochimique et/ou moléculaire.

3. Techniques de testing moléculaire [14, 21,22]

Pour la recherche de mutations (EGFR, KRAS, BRAF,HER2, CMET. . .), plusieurs techniques peuvent être utilisées. Le séquençage classique selon la méthode Sanger a une sensibilité de 25-30 %, mais peut détecter tout type de mutation, les techniques basées sur la q-PCR (Quantitative

Testing moléculaire EGFR, PDL1 et ALK dans les carcinomes broncho-pulmonaires au CHU Mohammed VI de Marrakech : Etude prospective de 2 ans.

Polymerase Chain Reaction) peuvent détecter 0,1-1% de cellules tumorales mutées et les techniques de pyroséquençage 5-10 % de cellules mutées. Le pourcentage minimal de cellularité tumorale requise varie selon les tests moléculaires utilisés. Il est important à connaître car il permet de pondérer un résultat négatif de recherche mutationnelle, et de conseiller la poursuite des investigations chez des patients présentant des tests négatifs, mais une faible cellularité tumorale. La cellularité tumorale minimale recommandée pour le séquençage direct est de 50 %, pour le pyroséquençage de 20 à 25 % et pour la q-PCR, on peut aujourd'hui descendre jusqu'à 5-10% de cellules tumorales.

Les translocations (ALK, ROS1, RET) et les amplifications (C-MET, HER2, EGFR) sont en pratique, aujourd'hui, testées par hybridation in situ. Il est recommandé de pouvoir évaluer au moins 50 cellules.

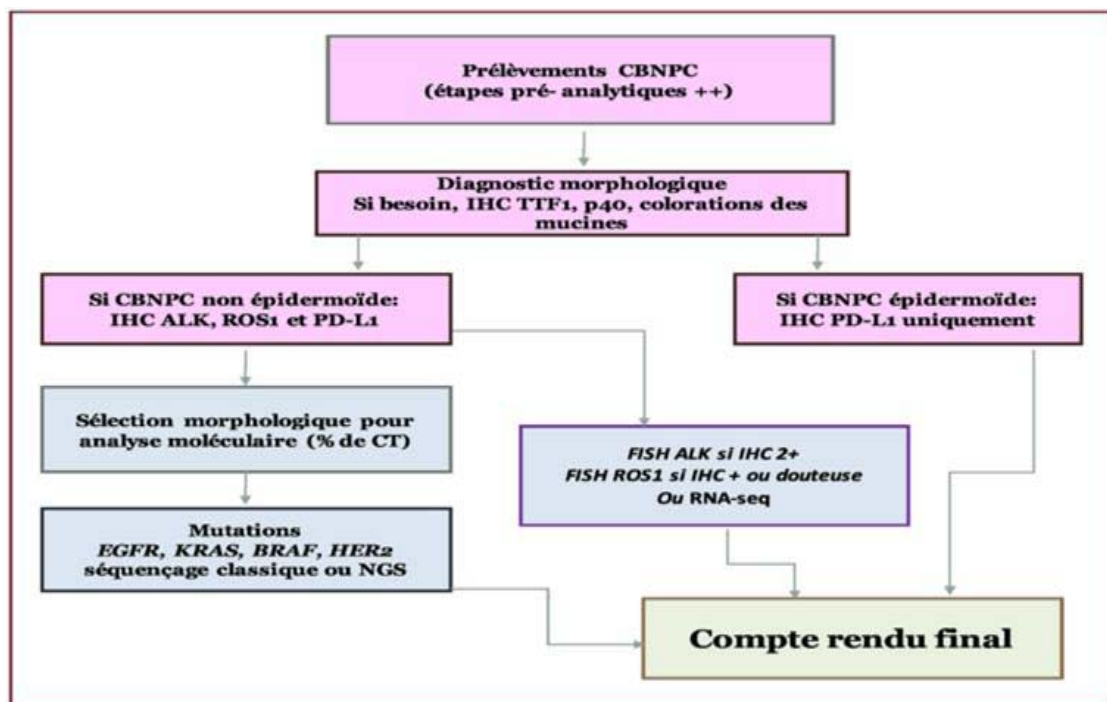


Figure 41: Algorithme des étapes à mettre en œuvre en routine pour la prise en charge des cancers broncho-pulmonaires pour testing moléculaire avec prélèvements cytologiques ou biopsiques [14].

III. Réarrangement ALK [23,24,25,26,27,28,29,30]

En 2007, une autre anomalie génétique concernant le gène codant pour la kinase ALK a été décrite par M. Soda et al. dans les CBNPC ; cette anomalie correspond à une translocation entre 2 gènes le gène ALK (Anaplastic Lymphoma Kinase) en 2p23 et le gène EML4 (Echinoderm Microtubule associated protein Like 4) en 2p21 [23]

Cette altération résulte en fait d'une inversion au niveau du bras court du chromosome 2 et d'une fusion de la région codant pour la tyrosine kinase (TK) ALK avec différentes portions N-terminales du gène EML4. Ces réarrangements sont responsables d'une activité tyrosine kinase permanente via la dimérisation du domaine TK, indépendante de toute fixation à un ligand ; cette activation constante est responsable de la prolifération des cellules tumorales, de changements dans leur cytosquelette, de leur migration et de leur survie [24,25]

Comme pour les mutations d'EGFR, les cellules qui présentent ce réarrangement sont dépendantes de l'activation de la kinase ALK [26]. De multiples variantes ont été décrites (environ 15 actuellement) [27,28]

Ces variantes impliquent l'exon 20 du gène ALK qui code pour le domaine TK intracytoplasmique et la région d'EML4 qui code pour le domaine coiled coil aminoterminal d'EML4 nécessaire à l'activation d'ALK ; les variants EML4-ALK les plus fréquents sont E13;A20 et E6a/b;A20, observés dans 33 et 29 % des cas [29,30].

Il est recommandé aujourd'hui de rechercher les réarrangements du gène ALK par technique d'hybridation in situ avec fluorescence (FISH). Le cas est considéré comme ALK positif si un réarrangement est observé dans au moins 15% des cellules tumorales (avec un minimum de 50 cellules analysables). Un prescreening des patients par technique d'immunohistochimie (IHC) est possible en particulier avec les clones D5F3, et 5A4. Les patients présentant un test IHC positif (2+ ou 3+) seront testés par FISH. En cas de test IHC négatif, mais de tableau clinique évocateur (patient jeune, non-fumeur, etc...), une technique de FISH peut être réalisée afin d'éliminer un éventuel faux négatif de l'IHC.

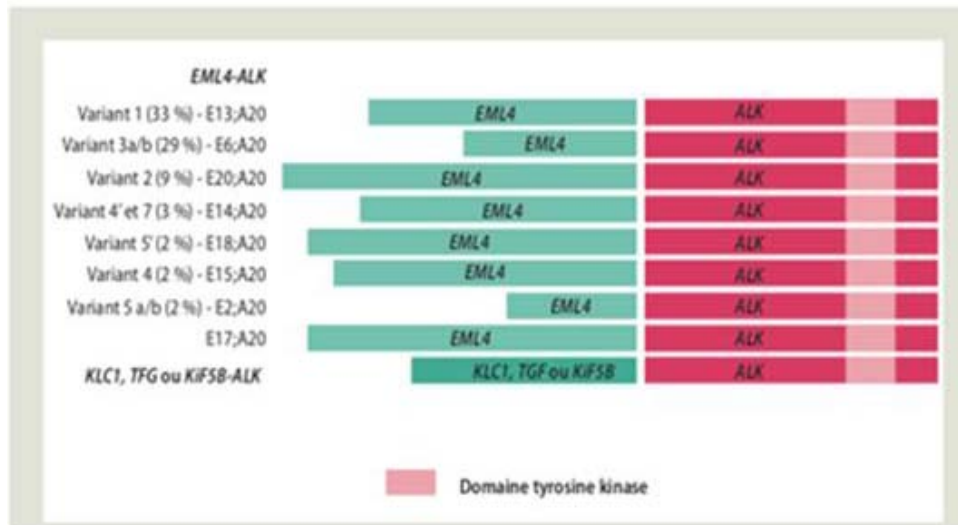


Figure 42 : Différents variants actuellement recensés du réarrangement du gène ALK avec ses différents partenaires[30]

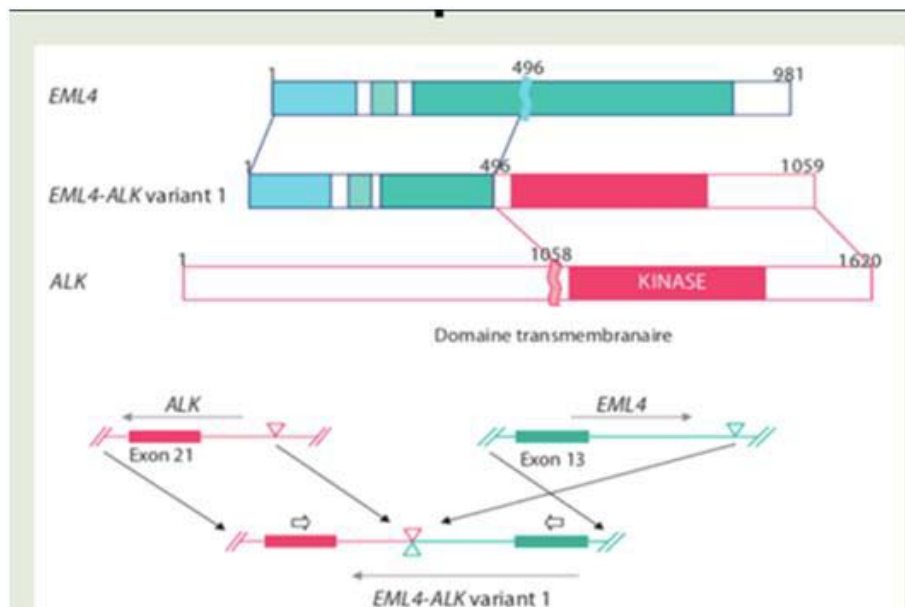


Figure 43 : Translocation EML4-ALK, illustrant inversion de la partie aminotermine d'EML4 et sa fusion avec la partie du gène ALK codant pour le domaine de tyrosine kinase[30]

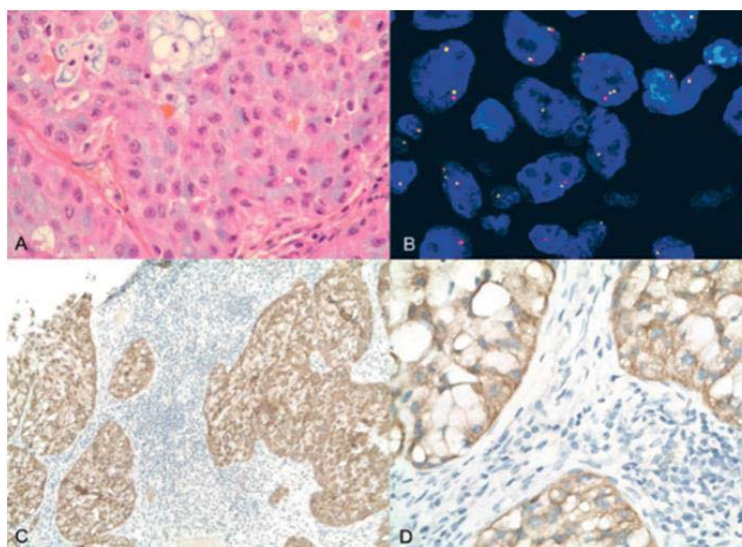


Figure 44 : A. Histologie classique solide et acinaire riche en cellules en bague à chaton des adénocarcinomes ALK réarrangés .B . FISH ALK (sonde break-apart) montrant une séparation des sondes marquées en rouge et en vert et témoignant d'un réarrangement du gène ALK .C et D Immunohistochimie anti -ALK [47]

IV. Immunothérapie anti-PD1 / PD-L1

Le prix Nobel de physiologie ou de médecine 2018 a été rapporté par deux chercheurs en immunothérapie du cancer, James P. Allison, PhD, du MD Anderson Cancer Center de l'Université du Texas, et au Dr Tasuku Honjo de l'Université de Kyoto, au Japon. Allison et Honjo ont été honorés pour leurs travaux visant à découvrir des moyens d'activer le système immunitaire pour lutter contre le cancer, une avancée décisive dans le développement de nouveaux traitements contre le cancer. Allison a étudié la protéine CTLA-4 et Honjo a découvert PD-1, une autre protéine présente à la surface de certains lymphocytes T [31].

1. L'axe PD1-PDL1 dans la réponse immunitaire :

Le récepteur PD-1 est exprimé essentiellement par les lymphocytes activés mais également sur d'autres cellules du système immunitaire (LT régulateur, lymphocytes B, cellules NK, cellules dendritiques et monocytes). Son expression augmente au niveau des LT activés en

cas d'exposition antigénique prolongée afin de limiter l'activation des lymphocytes et d'éviter une réponse immunitaire excessive [32]. Ce récepteur PD1 a deux ligands: PDL1, protéine transmembranaire retrouvée principalement sur les cellules tumorales sous l'effet de l'interféron ou parfois sur quelques cellules immunocompétentes et PDL2 peu exprimé au niveau tumoral mais principalement sur les macrophages et les cellules dendritiques (qui interviendraient notamment dans la tolérance au niveau pulmonaire) [33].

L'interaction PD1/PDL1 conduit à une régulation négative du lymphocyte qui cesse de proliférer et sécréter des cytokines et donc de détruire les cellules tumorales. Il en résulte alors une anergie et une apoptose des lymphocytes T [34,35].

Les cellules tumorales utilisent cette voie pour échapper au système immunitaire à la fois en sur-exprimant le ligand PDL1 à sa surface mais également sur les cellules de son environnement pour freiner l'activité du système immunitaire

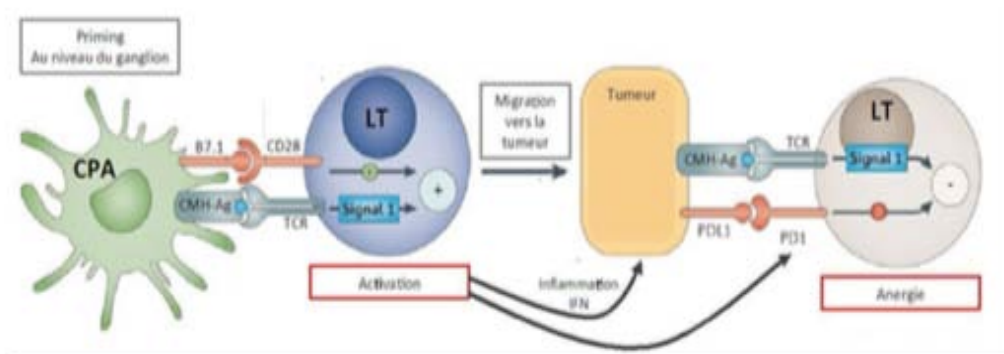


Figure 45 : Mécanismes de l'axe PD1/PDL1 dans la résistance immunitaire [37]

Les inhibiteurs des points de contrôle immunitaire vont bloquer les mécanismes de frein mis en jeu par la cellule tumorale et réactiver le système immunitaire pour lui permettre de lutter plus efficacement contre les cellules tumorales [36].

Parmi ces molécules, nous nous intéressons particulièrement aux anti-PD1 et anti-PDL1 qui sont des immunoglobulines monoclonales humanisées. Les anti-PD1 vont bloquer l'interaction de PD1 avec ses deux récepteurs à savoir le PDL1 et le PDL2, l'avantage des anti-

PD1 serait de pouvoir saturer les récepteurs PD1 des LT circulants avant leur migration au niveau tumoral et donc d'être actif à des concentrations plus faibles. Les anti-PDL1 bloquent la liaison PD1 PDL1 mais également à un autre récepteur B7-1 dont le rôle semble moins important (36) Par contre, les anti-PDL1 respectent l'interaction de PD1 et PDL2 impliquée dans la tolérance périphérique notamment au niveau pulmonaire [38,39].

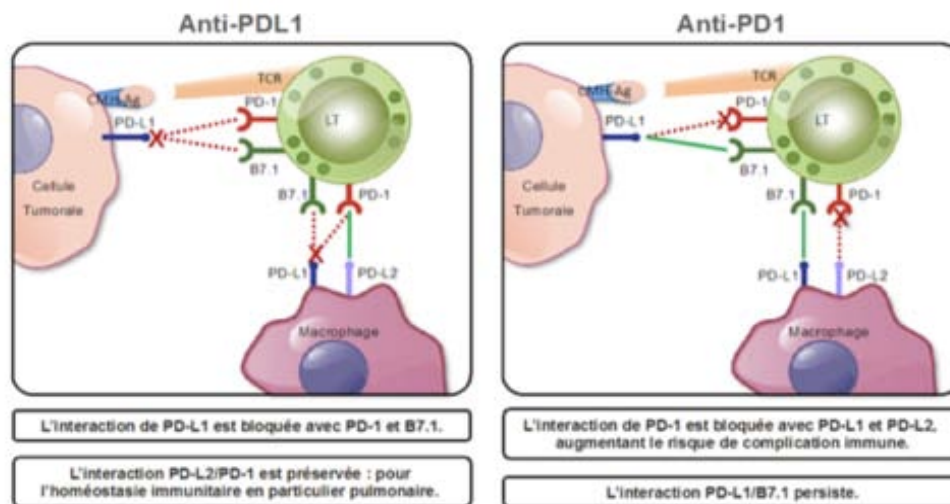


Figure 46: Mécanismes d'action des AC anti PDL/PDL1 [37]

L'immunothérapie est devenue une approche prometteuse dans le traitement des cancers, elle est une avancée majeure et est au cœur de tous les congrès internationaux. Les premières Autorisations de Mise sur le Marché (AMM) se sont développées dans le mélanome puis les indications se sont étendues dans le cancer du poumon et d'autres cancers avec la multiplication de nouveaux essais cliniques. Actuellement, 3 molécules ont l'AMM en deuxième ligne des traitements du cancer du poumon, dans l'ordre chronologique : le Nivolumab (anti PDL1), le Pembrolizumab (anti PDL1) et l'Atézolizumab (anti PD1) [40].

2. PD-L1

PD-L1 (Programmed death-ligand 1) ou CD274, également connu comme B7-H1, est une molécule inhibitrice des LT, qui est impliquée dans la protection des cellules tumorales contre une attaque immunitaire. Il s'agit d'une glycoprotéine de surface connue pour être exprimée sur les cellules dendritiques (DC), les macrophages, les cellules B, les Treg, les cellules épithéliales,

les cellules endothéliales, les sites privilégiés immunitairement telles que la barrière fœto-maternelle [41] et sur une majorité de cellules tumorales [42].

PD-L1 est exprimé sur les cellules myéloïdes, les LT, les LB et les NK et une haute expression de PD-1 est souvent présente sur les TILs (Tumor infiltrating Lymphocytes) [43].

Des cellules du sang périphérique comme les CD4+ et CD8+ chez les patients atteints d'un cancer peuvent également exprimer PD-1, ce qui rend peu probable que les LT PD-1+ représentent exclusivement des LT spécifiques de la tumeur [42]. La signalisation PD-1 dans les cellules NK régule négativement leur fonction et le blocage de PD-1 augmente la production d'IFN- γ par les NK [43, 44].

Les cellules cancéreuses libèrent des cytokines immunosuppressives telles que le TGF- β , l'IL-10 et Fas ligand, qui induisent l'expression de PD-L1 et ainsi aide les cellules tumorales à échapper aux réponses immunitaires [45]. L'expression de PD-L1 a été associée aux facteurs clinico-pathologiques dans divers cancers. La régulation positive de PD-L1 peut permettre aux cancers d'échapper au système immunitaire de l'hôte, via la formation du complexe PD-1 /PD-L1 transmetteur d'un signal d'inhibition qui réduit la prolifération des LT CD8+. PD-L1 est une protéine transmembranaire qui joue aussi un rôle majeur dans la suppression du système immunitaire lors de la grossesse, d'allogreffes de tissus, de maladie auto-immune [45].

Expression de PD-L1

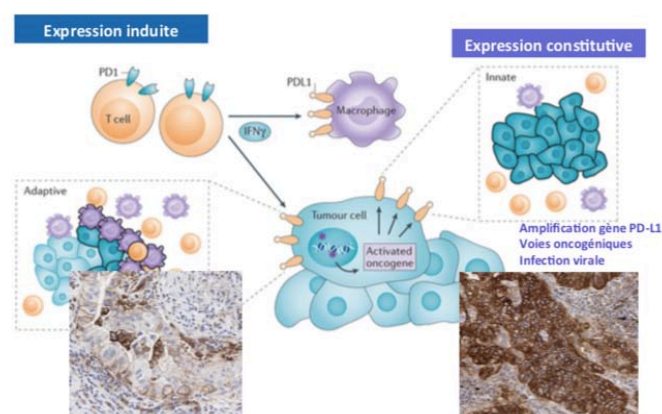


Figure 47: Expression de PD/L1 [37]

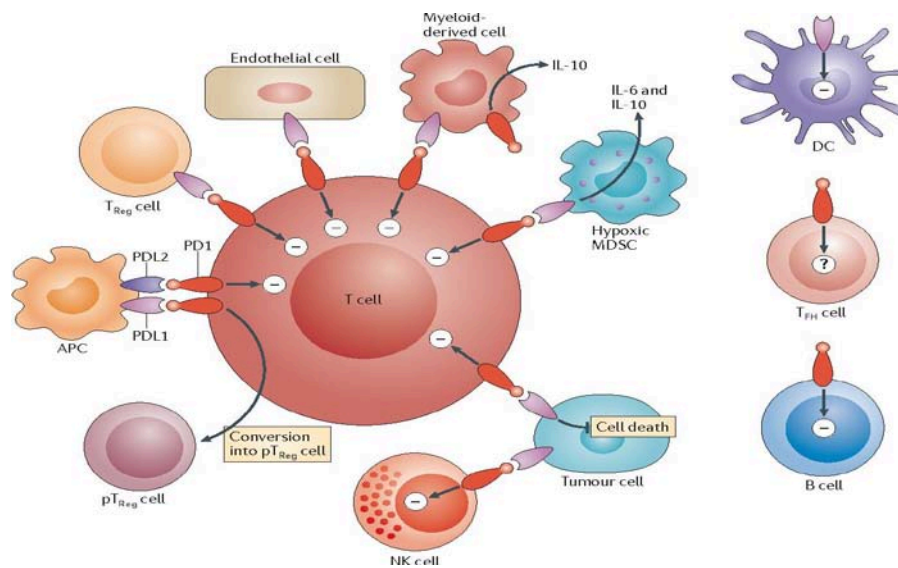


Figure 48: Mécanismes d'action de PD-1, PD-L1 et de PD-L2 [46]

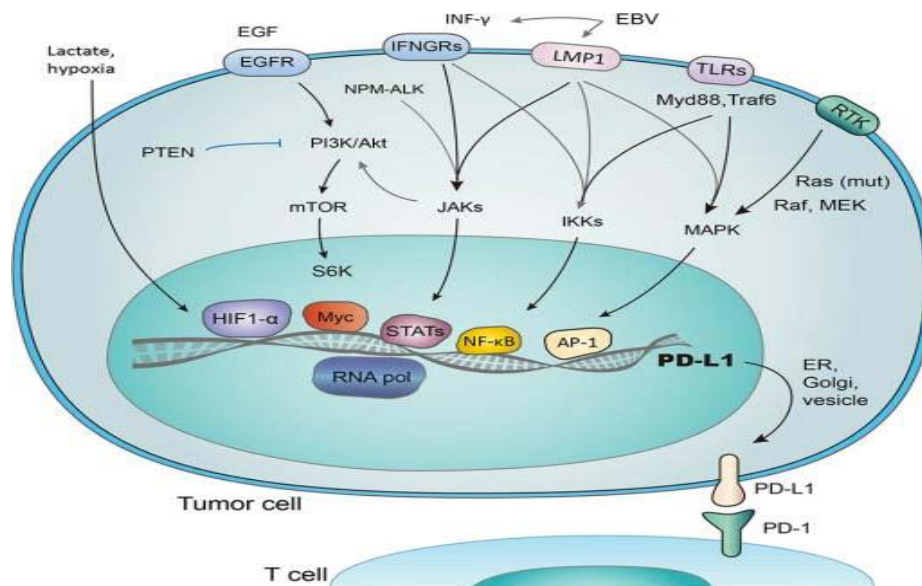


Figure 49 : Régulation de PD-L1 [47]

L'augmentation de l'expression de PD-L1 a été démontrée dans de nombreux types de cancers (par exemple, le mélanome (40%-100%), le CBNPC (35%-95%) ...). De plus, des niveaux élevés de PD-L1 sont liés à un mauvais pronostic dans le cancer du sein, le cancer rénal, le cancer ovarien etc. Il a été aussi montré que l'expression de PD-L1 peut augmenter la résistance des cellules tumorales aux traitements [47].

L'importance de l'expression de PD-L1 sur des tumeurs solides en tant que biomarqueur pronostic a été rapportée dans de nombreuses études, dont beaucoup ont noté l'association entre l'expression de PD-L1 dans les tissus tumoraux et un mauvais pronostic, bien que cette association varie selon le type de la tumeur [39,42].

La détermination des taux de PD-L1 dans les tumeurs peut donc aider les médecins pour identifier les patients les plus susceptibles de bénéficier d'une thérapie anti - PD-1 / PD-L1.

L'expression de PD-L1 évaluée par immunohistochimie est actuellement utilisée comme outil de prise de décision clinique pour soutenir l'utilisation d'inhibiteurs de check-point immunitaire chez les patients avec un CBNPC [39].

V. Mutation EGFR

1. Le récepteur au facteur de croissance épidermique (EGFR)[48,49,50]

L'EGFR est une protéine membranaire dont le gène, situé sur le chromosome 7, contient 190 000 nucléotides et 28 exons. Il appartient à la superfamille des récepteurs à tyrosine kinase (RTK), récepteurs siégeant à la surface cellulaire et servant de médiateur de la signalisation cellulaire via les facteurs de croissance extracellulaires. L'EGFR est présent à la surface de toutes les cellules, qu'elles soient normales ou cancéreuses. Il fait partie de la famille de récepteurs à l'EGF qui est constituée de 4 membres : EGFR ou HER1, HER2, HER3, HER4. Du point de vue structural, ils sont tous constitués d'un domaine extra-membranaire de liaison au ligand, d'un domaine transmembranaire et d'un domaine intracellulaire ayant une activité tyrosine kinase (à l'exception de HER3 qui a la particularité de ne pas posséder de domaine tyrosine kinase). Les récepteurs existent sous forme de monomères inactifs. Après liaison du ligand, par exemple l'EGF, le récepteur subit un changement de conformation pour faciliter l'homo ou l'hétérodimérisation. Celle-ci induit l'autophosphorylation de résidus tyrosines présents dans la boucle d'activation du domaine catalytique tyrosine kinase aboutissant à une cascade d'activation des voies de signalisation d'aval dont deux sont importantes :

- Voies favorisant la survie cellulaire: PI3K6 Akt (Phosphatidyl Inositol-3kinase), STAT3 et STAT5 (Signal Transducer and Activator of Transcription proteins 3 et 5).
- Voies favorisant la prolifération cellulaire: Ras-Raf-MEK Mitogen-Activated and Extracellular-signal regulated kinase)-ERK1 et ERK2(extracellulat-signal-regulate kinase 1 et 2)

1.1. Rôle de l'EGFR [50,52,53] :

Le signal de transduction de l'EGFR est transmis via différentes voies dites de "signalisation" qui aboutissent à des effets favorisant ou limitant la prolifération cellulaire et/ou apoptose selon un équilibre subtil. Dans le cas de la cellule tumorale, cet équilibre est rompu favorisant les effets prolifératifs et antiapoptotiques. Cette signalisation se fait par une voie multidimensionnelle, et l'activation de cette voie aboutit à la survenue d'événements en aval stimulant cinq des six marques du cancer : la croissance indépendante des signaux, l'insensibilité aux signaux inhibiteurs de croissance, la résistance à la mort cellulaire programmée, l'angiogénèse et le processus métastatique. Ceci explique qu'une activation anormale de l'EGFR puisse aboutir à un cancer. L'EGFR a d'abord été découvert comme une protéine impliquée dans la signalisation cellulaire. Par la suite, il a été décrit comme un oncogène qui joue un rôle important dans l'apparition et le développement des cancers. Dans les cellules cancéreuses, l'activité biologique de l'EGFR peut être dérégulée par des mécanismes variés : mutations du gène EGFR, surexpression de la protéine EGFR par augmentation du nombre de copies du gène et/ou régulation transcriptionnelle ou post transcriptionnelle. Cette dérégulation conduit à une survie accrue des cellules tumorales, à leur prolifération et à l'apparition d'un phénotype métastatique. Une surexpression de l'EGFR est observée chez plus de 60 % des patients atteints d'un cancer du poumon non à petites cellules métastatique et est corrélée à un mauvais pronostic.

1.2. Mécanisme d'activation [54,55,56,57,58,59]

L'EGFR induit le cancer par au moins un des trois mécanismes majeurs: la surexpression de l'EGFR et/ou de ses ligands, l'amplification de l'EGFR et les mutations.

1.3. Les différentes mutations de L'EGFR [55,57,58]

Les mutations du gène EGFR dans les cellules tumorales des patients atteints de cancer du poumon non à petites cellules sont trouvées au sein des 4 premiers exons du domaine tyrosine kinase, les exons 18 à 21. Elles impliquent des éléments clefs du site de fixation de l'ATP, qui est aussi celui de certains TKI comme l'erlotinib et le gefitinib.

Les mutations de l'EGFR sont de trois types :

- Délétions dans l'exon 19, les plus fréquentes;
- Mutations ponctuelles faux sens dans les exons 18 à 21 ;
- Duplications et/ou insertions dans l'exon 20

Quelques mutations de l'EGFR sont beaucoup plus fréquentes que d'autres. Les délétions au sein de l'exon 19 et la mutation ponctuelle L858R, située dans l'exon 21, représentent à elles seules 85 % des mutations de l'EGFR et confèrent une grande sensibilité des cellules au gefitinib et à l'erlotinib.

D'autre part, toutes les mutations ne confèrent pas la même sensibilité aux TKI-EGFR, certaines confèrent au contraire une résistance à ces inhibiteurs. En effet, les tumeurs des patients traités par le gefitinib et l'erlotinib acquièrent une résistance secondaire à ces traitements qui peut être liée à l'apparition de la mutation de T790M, située dans l'exon 20. Celle-ci est retrouvée chez environ 50 % des patients ayant acquis une résistance aux TKIEGFR.

Il est probable que cette mutation apparaisse sous l'effet d'une pression de sélection car elle est rarement détectée chez les patients non traités. Une autre mutation de résistance, la mutation D761Y dans l'exon 19, est retrouvée de façon beaucoup plus rare.

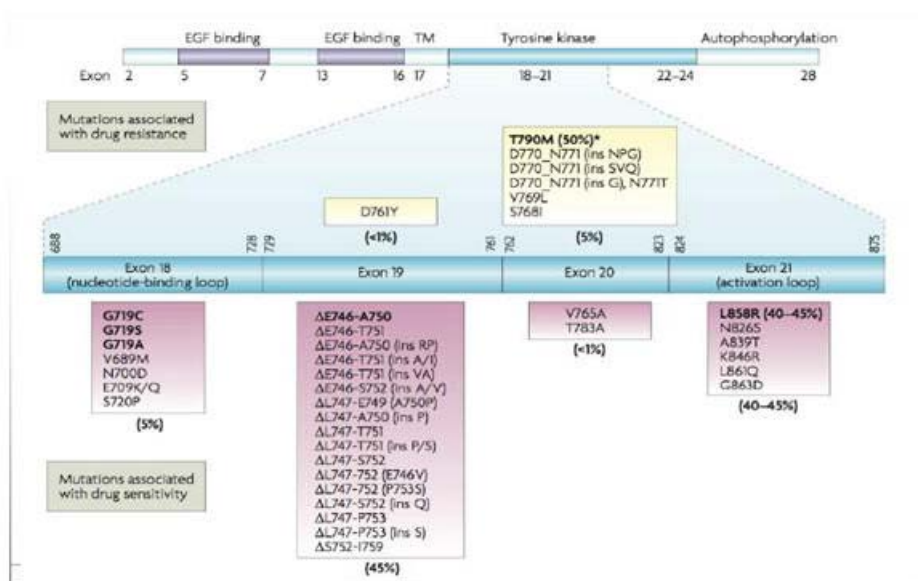


Figure 50 : Différentes mutations activatrices du gène EGFR impliquées dans les cancers broncho-pulmonaires [60]

2. Thérapies ciblées anti-EGFR dans le cancer du poumon [61,62,63] :

Le récepteur au facteur de croissance épidermique (EGFR) est une glycoprotéine transmembranaire constituée d'une seule chaîne polypeptidique. Il appartient à la famille des récepteurs à tyrosine kinases qui jouent un rôle majeur dans la transduction du signal cellulaire. Dans les cellules normales, son activation est déclenchée par la fixation de son ligand, ce qui entraîne une cascade d'évènements intracellulaires aboutissant à la croissance, à la prolifération et autocontrôle de la mort cellulaire.

Les inhibiteurs de tyrosine kinase agissent en se liant à la poche ATP du domaine intracellulaire de l'EGFR, inhibant alors l'activité de phosphorylation.

On distingue des inhibiteurs réversibles et des inhibiteurs irréversibles. La spécificité des inhibiteurs de l'EGFR n'est en pratique pas absolue, près d'une centaine de tyrosine kinases cellulaires pouvant être ciblées sur leur poche ATP.

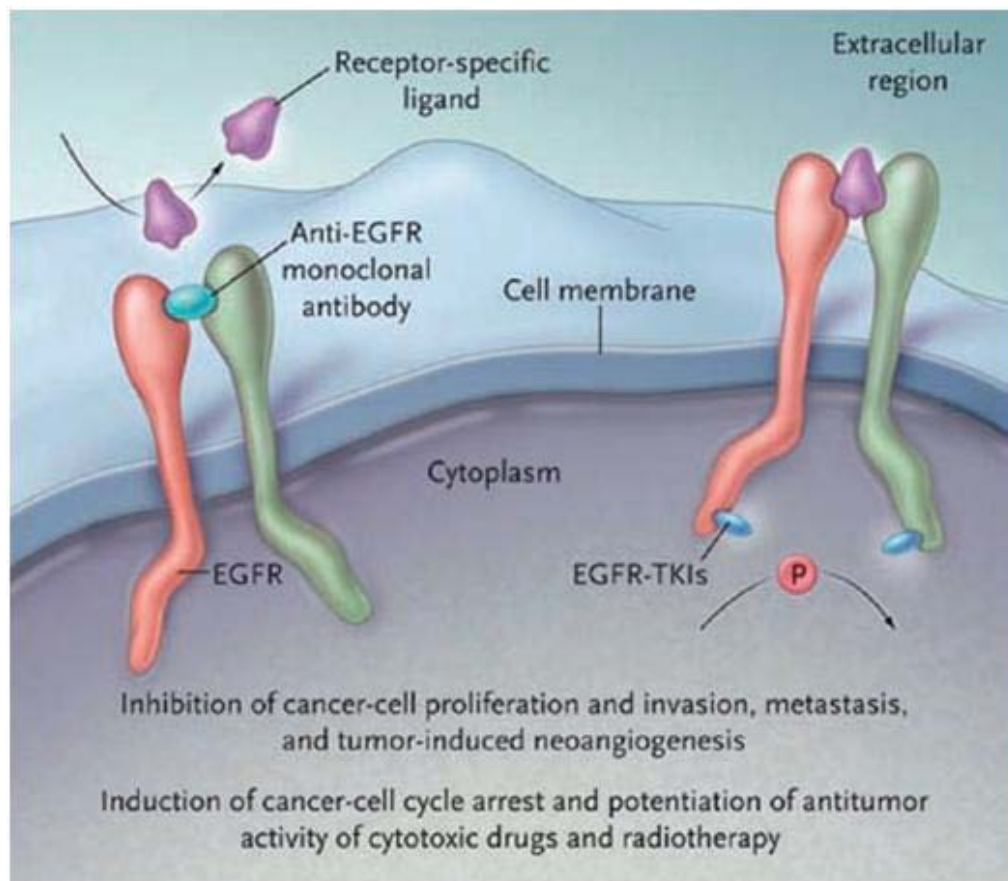


Figure 51 : Mécanisme d'action des inhibiteurs de la Tyrosine Kinase

VI. Biomarqueurs émergents :

1. Les mutations de KRAS [64] :

Les mutations de KRAS sont fréquentes dans les adénocarcinomes bronchiques (35 % environ, souvent liées au tabagisme). La recherche des mutations KRAS sur les exons 12 et 13 est rapide par technique classique, elle est souvent faite en parallèle avec celle d'EGFR. Elle permet d'orienter rapidement un patient vers un traitement de chimiothérapie de première ligne en cas de positivité, car les mutations EGFR et KRAS sont souvent exclusives. Des essais cliniques essentiellement avec des MEK-inhibiteurs sont en cours. Les résultats sont peu encourageants

2. Les réarrangements de ROS1 [65,66] :

La FISH peut être considérée comme le « gold standard » pour la détection des réarrangements de ROS1, sans nécessiter une connaissance a priori de la fusion partenaire. Dans le cancer du poumon, sept gènes partenaires de fusion de ROS1 ont été décrits :

- CD74 ;
- Solute carrier family 34 member 2 (SLC34A2) ;
- Ezrin (EZR) ;
- Leucine-rich repeats and immunoglobulin-like domains 3 (LRIG3) ;
- Syndecan 4 (SDC4) ;
- Tropomyosin 3 (TPM3) ;
- Fused in glioblastoma (FIG)

La protéine de fusion est détectable en IHC (clone D4D6 (Cell Signalling Technology, Danvers, MA, États-Unis). Les transcrits peuvent également être détectés par RT-PCR. Le crizotinib a obtenu aux États-Unis le 21 avril 2015, une autorisation rapide pour le traitement des patients CBPNPC non malpighiens avec altération de ROS1.

3. Les mutations de BRAF [67] :

Les mutations de BRAF, sont rares (4 %), les mutations V600E dans l'exon 15 ne représentent que la moitié des altérations observées (autres mutations dans les exons 15 et 11). Elles peuvent être associées à des mutations de KRAS et d'EGFR. Les essais cliniques ciblés sont à ce jour décevants.

4. Les anomalies de HER2 [68] :

Les anomalies de HER2 dans les adénocarcinomes broncho-pulmonaires correspondent à de petites insertions dans l'exon 20 (2 à 6 %). Une amplification de HER2 peut être observée, en association avec ces mutations de l'exon 20. Ces altérations de HER2 sont exclusives des autres mutations. Plusieurs essais cliniques sont en cours, mais le choix de la substance anti-HER2 optimale et la stratégie thérapeutique restent encore mal définis.

5. Les réarrangements de RET [66,67] :

Les réarrangements de RET (rearranged during transfection) peuvent être détectables par FISH, cinq partenaires de fusion ont été identifiés : KIF5B, CCDC6, NCOA, TRIM, CUX1 et KIAA1468. L'IHC n'est pas validée à ce jour comme méthode de screening. Des résultats prometteurs du ciblage des anomalies activatrices de RET avec le vandetanib ont été publiés.

6. Les anomalies de MET [66,67]

Les anomalies de MET, amplifications, mutations ponctuelles et surexpression par IHC ont été identifiées dans les CNBPC, soit de novo, soit comme facteur de résistance aux TKIs anti-EGFR ou anti-ALK. Les altérations de la voie MET ne sont pas exclusives des autres altérations comme EGFR, KRAS ou ALK. Les méthodes de détections ne sont pas encore clairement définies (IHC, FISH et/ou mutations). Pour le moment, les essais ciblant MET dans les CBPNPC sont négatifs. Il semblerait cependant que les patients avec des amplifications soient plus sensibles aux inhibiteurs de MET comme le crizotinib.

7. Les mutations de PIK3CA [14]

Le programme INCa a interrompu le screening des mutations de PIK3CA (exon 9 et 20) dans les adénocarcinomes, ces altérations étant essentiellement retrouvées dans les carcinomes malpighiens.

VII. Aspects épidémiologiques

1. Place du cancer broncho-pulmonaire :

Le cancer du poumon se situe au 2e rang des cancers tous sexes confondus. Il s'agit de la première cause de mortalité par cancer dans le monde.

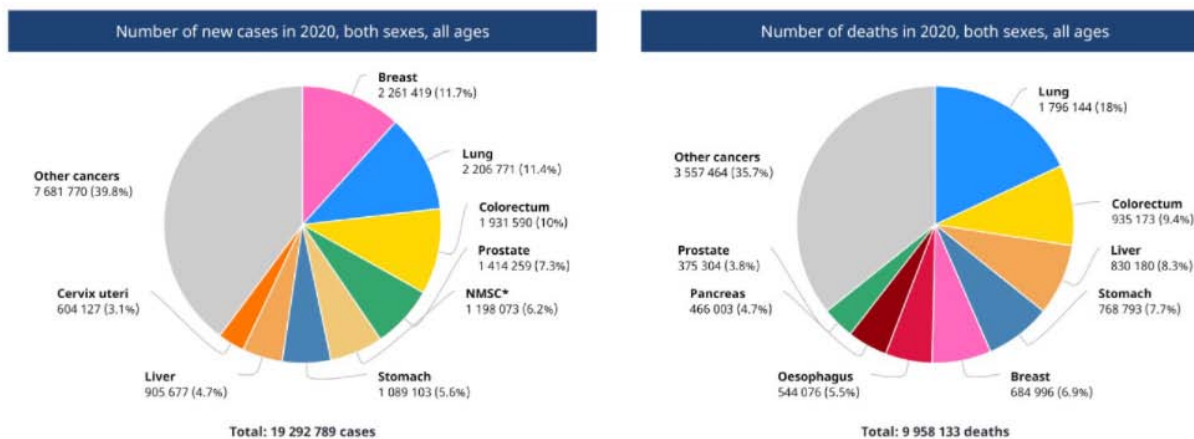


Figure 52 : Estimation de l'incidence des cancers dans le monde en 2020[69]

2. Âge :

Le cancer du poumon prend des décennies à se développer après le début du tabagisme, et est donc rare avant l'âge de 30 ans et atteint un pic chez les personnes âgées. Les taux de cancer du poumon ont tendance à baisser après environ 80 ans, probablement en raison de la mortalité concurrente due à d'autres causes ou de la précision réduite de la classification. Cependant dans notre série la moyenne d'âge est de 61 ans avec des extrêmes d'âge de 34 ans à 88 ans. Nos résultats sont comparables à ceux de la littérature en France la moyenne d'âge est de 67 ans [70].

L'âge moyen de survenue du carcinome pulmonaire est variable d'une série à l'autre, selon le pays, le niveau des soins dans chaque région, les habitudes tabagiques des populations.

Tableau VIII : La moyenne d'âge du cancer broncho-pulmonaire décrites par la littérature internationale

Série	Région	Nombre de cas	Age moyen
M. Inoue et al 2014 [71]	Japon	704	66 ans
K Kadota et al 2014 [72]	New York	1038	69 ans
A Ben AMAR et al 2012 [73]	Tunisie	200	60 ans
Ndiaye et al 2015 [74]	Sénégal	37	54,56 ans
RCRC 2008-2012 [75]	Maroc (Casablanca)	2762	59,5 ans
Notre série	Maroc (Marrakech)	128	61 ans

3. Sexe :

Quel que soit l'âge observé, l'incidence de ce cancer est plus élevée chez l'homme que chez la femme, toutefois l'écart se resserre au détriment de ces dernières dans les pays développés.

En effet, alors que l'incidence du cancer du poumon est globalement stable, voire diminué chez l'homme et que la mortalité est en baisse, ce n'est pas le cas chez la femme. Au contraire, les taux d'incidence comme de mortalités féminine sont en forte progression depuis 1990. Ce phénomène est essentiellement lié à l'augmentation de la consommation tabagique des femmes.

Testing moléculaire EGFR, PDL1 et ALK dans les carcinomes broncho-pulmonaires au CHU Mohammed VI de Marrakech : Etude prospective de 2 ans.

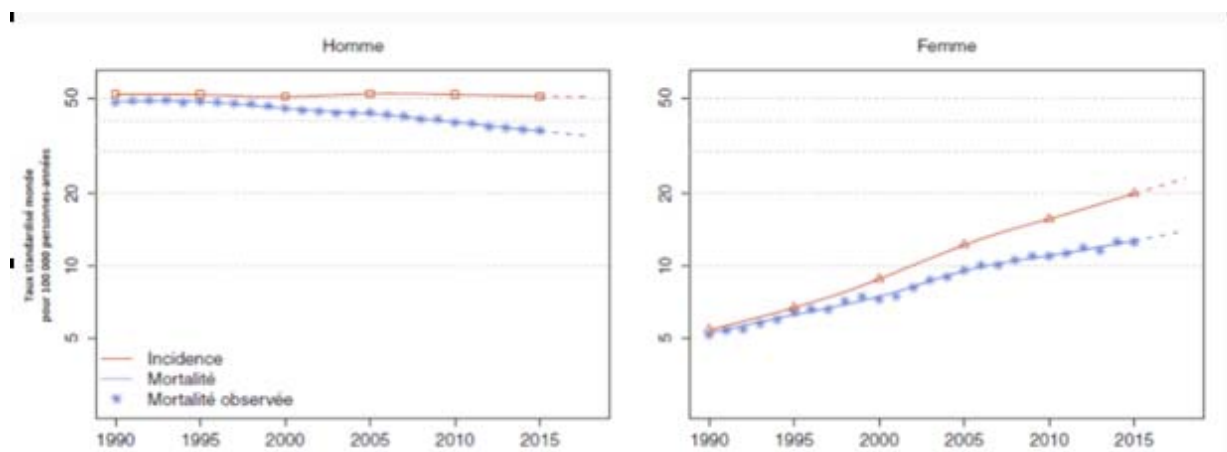


Figure 53: Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer bronchopulmonaire en France métropolitaine entre 1980 et 2018 [49]

Dans notre série, on remarque une nette prédominance masculine, le sexe masculin représente 77% de notre échantillon contre 23% de sexe féminin.

Tableau IX : Le sex ratio du cancer broncho-pulmonaire décrites par la littérature internationale

Série	Région	Hommes	Femmes	Sex ratio
M. Inoue et al 2014 [72]	Japon	53%	47%	1,3
A Ben Amar et al 2012 [73]	Tunisie	91%	9%	10
Ndiaye et al 2015 [74]	Sénégal	86,5%	13,5%	6,4
RCRC 2008-2012 [75]	Maroc (casablanca)	89,6%	10,4%	8,6
Notre série 2018- 2020	Maroc (Marrakech)	77%	23%	4,04

VIII. Données anatomopathologiques et moléculaires :

1. Type histologique :

La répartition des différents types histologiques des carcinomes broncho-pulmonaires s'est modifiée durant ces dernières années, l'adénocarcinome est devenu le type le plus fréquent, que ce soit chez le fumeur ou le non-fumeur, et chez les hommes et les femmes [74]

La répartition histologique dans notre étude est comparable aux données de la littérature avec 76% d'adénocarcinomes suivi par le carcinome épidermoïde dans 5 % des cas.

Nos résultats rejoignent ceux rapportés par Inoue et al [72], A Ben Amar [73], alors que chez Ndiaye et al [71] le carcinome épidermoïde était le type histologique le plus fréquent.

Tableau X : Répartition du type histologique du cancer broncho-pulmonaire décrites par la littérature internationale

Série	Adé nocarcinomes	Carcinomes é pidermoïdes
M. Inoue et al 2014 [72]	78.7%	7.4%
A Ben Amar et al 2012 [73]	47.5%	28.5%
Ndiaye et al 2015 [74]	32.43%	45.94%
Cadelis et al 2009-2010 [58]	43.4%	24.5%
Notre série 2018-2020	76%	5%

2. Le profil de l'expression de l'anticorps anti-PD-L1 et l'anticorps anti-ALK :

Récemment, de nombreux progrès ont été réalisés dans les thérapies ciblées pour le carcinome non à petites cellules du poumon (CPNPC). Par conséquent, un sous typage histologique est devenu obligatoire pour établir un diagnostic histologique précis au sein des carcinomes non à petites cellules

2.1. Statut d'expression de l'Ac anti PD-L1 :

Dans notre étude l'expression de l'anticorps anti PD-L1 était négative dans 51,4% des cas. Les études ont montré un pourcentage de positivité à 30,9% pour l'étude de Yan Jin [59], 46,2% pour l'étude de Sui [60], et de 45% dans l'étude de B. Guldhammer [61].

Tableau XI : Le statut d'expression de l'Ac anti PD-L1 à travers les séries

Etude	Expression négative du PDL1	Expression positive du PDL1
Etude de Yan Jin [76]	69,2%	30,9%
Etude Hongshu Sui, [77]	54,4%	46,2%
Etude de B Guldhammer Skov [78]	63%	45%
Notre étude	51,4%	48,6%

a. Scoring de l'anticorps anti PD-L1 basé sur TPS :

La recherche du degré d'expression de l'anticorps anti PD-L1 est d'une importance majeure. Le score tumoral proportionnel à une grande implication dans le pronostic et la prise en charge des tumeurs broncho-pulmonaires non à petites cellules.

Dans notre série 51,4% des patients présentaient une absence d'expression à l'anticorps anti PD-L1. Nos résultats sont concordants avec les études Yan Jin et Hongshu Sui qui décrivent respectivement des pourcentages qui varient entre 69,2% [76] et 54,4% [77].

En ce qui concerne la présence d'expression de l'anticorps anti PD-L1, dans notre série on a enregistré un pourcentage de 25,8%, ce qui rejoint les données de la littérature avec 21,2% [59] et 29,5% [61] pour les études de Yan jin et Hongshu respectivement.

Pour la forte expression de PD-L1, les résultats de nos patients ont démontrés un taux de 22,9%, ce qui rejoint l'étude Guldhammer Skov avec 27,3% [78] et l'étude de Hongshu Sui [77] avec un taux de 16,4%.

Tableau XII : Le scoring d'expression de l'Ac anti PD-L1 à travers les séries

Etude	Expression négative du PDL1	Présence d'expression de PDL1	Forte expression du PDL1
Etude de Yan Jin [76]	69,2%	21,2%	9,7%
Etude Hongshu Sui [77]	54,4%	29,5%	16,4%
Etude de B Guldhammer Skov [78]	63%	17,7%	27,3%
Notre étude	51,4%	25,8%	22,9%

b. L'expression de l'anticorps anti PDL1 selon le type histologique :

 **Dans l'Adénocarcinome :**

Notre étude a révélé que l'absence d'expression de l'anticorps anti PD-L1 dans l'adénocarcinome représente 65%, ce qui rejoint l'étude de Yan jin [59] avec une absence d'expression de 71,1%.

En ce qui concerne la forte expression de l'AC anti PD-L1 dans les adénocarcinomes, on a enregistré un taux de 22,5 %, concordant avec l'étude de Guldhammer skov [78], avec un taux de 21%, tandis que l'étude de Yan jin [76] n'a enregistré que 4,4% dans cette catégorie.

Tableau XIII: L'expression de l'anticorps anti PD-L1 dans les adénocarcinomes

Étude	Absence d'expression PD-L1	Présence d'expression PD-L1	Forte Expression PD-L1
Yan Jin [76]	71,1%	8,5%	4,4%
Guldhammer Skov [78]	37%	43%	21%
Notre série	65%	12,5%	22,5%

 **Dans les carcinomes épidermoïdes :**

Dans notre étude nous avons constaté une absence d'expression de l'anticorps anti PD-L1 dans 19,2% des cas ce qui ne concorde pas avec les données de la littérature [59]. L'étude Yan

Testing moléculaire EGFR, PDL1 et ALK dans les carcinomes broncho-pulmonaires au CHU Mohammed VI de Marrakech : Etude prospective de 2 ans.

Jin a démontré un taux de 68,2 % alors que celle de Gldhamer skov [61] a objective un taux de 36%.

La forte expression de l'anticorps anti-PD-L1 dans les carcinomes épidermoïdes était enregistré chez 22,5% de nos patients, 21% et 5% dans les études de Yan Jin [76], et Guldhamer Skov [78]respectivement.

Tableau XVI : L'expression de l'anticorps anti PD-L1 dans les carcinomes épidermoïdes

Étude	Absence d'expression PD-L1	Présence d'expression PD-L1	Forte expression PD-L1
Yan Jin [76]	68,2	11,6%	5%
Guldhammer Skov[78]	36%	43%	21%
Notre série	19,2%	50%	22,5%

2.2. L'expression de l'anticorps anti ALK :

Les réarrangements du gène ALK sont observés dans 3 à 13 % des CBNPC selon les séries, avec une incidence aux alentours des 5 % dans les études sur des populations non sélectionnées [79].

Dans notre série le réarrangement ALK positif présente 2,9% ce qui concorde avec les données de la littérature.

Tableau XV: L'expression de l'anticorps anti ALK dans la littérature internationale.

Etude de B.Guldhammer Skov [78],	819	2%
Etudes deM-Kenudson [79]	174	2,9%
Dalila Mehdaoui2012 [80]	207	4,3%
Notre etude	101	2,9%

3. Mutation EGFR

3.1. Fréquence mutation EGFR

Dans la littérature, la fréquence de la mutation EGFR a été rapportée à des taux variables selon l'origine ethnique et les pays. Une cohorte prospective non interventionnelle de 522 patients, a été mise en place en France dans le cadre du STIC ERMETIC. Une mutation de l'EGFR a été recherchée pour 304 de ces malades et une mutation activatrice de l'EGFR a été mise en évidence chez 43 d'entre eux (14 %).

Selon une étude américaine réalisée par Cote et al en 2011 sur des échantillons tumoraux obtenus de 67 noirs américains avec CBNPC, les mutations EGFR ont été retrouvées à une fréquence de 11.9% [81]. Une autre étude asiatique réalisée par Tomizawa et al, sur des tumeurs primitives du poumon obtenues à partir de 120 cas de patients Japonais avec CBNPC, les mutations EGFR ont été détectées chez 29 des 120 cas représentant ainsi une fréquence de 24% [82].

En Europe, une équipe espagnole a recherché, de manière prospective, les mutations activatrices de l'EGFR chez 2105 patients atteints de CBNPC. Des mutations ont été mises en évidence chez 350 patients, soit un taux de mutation de 16,6 % [24]. Au total, le taux de mutation chez les caucasiens varie entre 9 et 16% en Europe et 12 à 13% aux Etats-Unis. En revanche, ce taux est beaucoup plus élevé chez les asiatiques à savoir 28 à 55%. Ces disparités ont été également constatés dans la méta-analyse publiée en 2016 par Yue-Lun Zhang [81] qui rapporte une grande variation de fréquence de la mutation EGFR entre les continents asiatique, américain et européen qui affichent un taux de mutation EGFR de 38,4% en Asie, 24,4% en Amérique et 14,1% en Europe. Il apparaît donc clairement que la mutation EGFR est nettement plus fréquente en Asie par rapport aux autres continents. Cette tendance a été également retrouvée dans la méta-analyse de Rondell P. Graham et al. Publiée en 2018.

Testing moléculaire EGFR, PDL1 et ALK dans les carcinomes broncho-pulmonaires au CHU Mohammed VI de Marrakech : Etude prospective de 2 ans.

En ce qui concerne les pays du Maghreb, les séries publiées concernent la Tunisie, l'Algérie et le Maroc qui affichent des taux de mutation EGFR concordants avec ceux retrouvés dans notre série ainsi que dans les autres séries marocaines. Les taux retrouvés se situent entre les chiffres rapportés en Europe et en Asie. D'autres études locales à plus large effectif sont nécessaires pour confirmer cette fréquence.

Tableau XVI : Fréquence de la mutation EGFR dans la littérature

	Nombre de cas	Année	Pays	Fréquence de la Mutation EGFR	Mutation la plus retrouvée
G. Bensaou, K.Bouzid et al. [83]	23	2013	Algérie	10%	Exon 19
Z. Mraïhi, L.Hila et al. [84]	50	2018	Tunisie	34%	Exon 19
H. Kaanane, H.El Attar et al. [85]	239	2019	Maroc (Casablanca)	15,9%	Exon 19 (70%)
A. Lyagoubi, N. Mellas [87]	10	2015	Maroc (Fes)	30%	Exon 19 (66,6%)
H. Errihani, I.Elghissassi et al. [86]	137	2013	Maroc (Rabat)	21%	Exon 19 (69%)
Reinesman et al [88]	476	2011	USA (blancs américains)	13%	Exon 19
Cote et al [89]	67	2011	USA (afro-américains)	11,9%	Exon 19
Smits et al. [90]	778	2012	Hollande	9,1%	Exon 19
Broet et al [91]	138	2011	France	11%	Exon 19
Rosel et al [92]	2135	2009	Espagne	16%	Exon 19
Zhong et al [93]	160	2012	Chine	55%	Exon 19
Yue-Lun Zhang [94]	30,466	2016	Méta-analyse (Asie, Europe, Amérique)	38,4% (Asie) 24,4% (Amérique) 14,1% (Europe)	Exon 19
Rondell P. Graham [95]	136 533	2018	Méta-analyse (Asie, Europe, Amérique)	46 % (Asie) 30% (Amérique) 7,9% (Europe)	Exon 19
Notre série	98	2018-2020	Maroc	33%	Exon 19

Testing moléculaire EGFR, PDL1 et ALK dans les carcinomes broncho-pulmonaires au CHU Mohammed VI de Marrakech : Etude prospective de 2 ans.

a. Fréquence des mutations selon les sous types

Dans la littérature, la répartition des sous types des mutations EGFR serait similaire quel que soit l'origine ethnique de la population étudiée. Selon une étude réalisée par Smits et al, au niveau de 13 hôpitaux dans les Pays-Bas de janvier 2008 à Avril 2011, 773 mutations EGFR ont été identifiées. Parmi ces mutations, les délétions au niveau de l'exon 19 étaient les plus fréquentes (52.7%), suivies par la mutation au niveau de l'exon 21 : L858R (28.4%). En plus de ces mutations régulières, une insertion (V769-D770 insASV) et quatre mutations dans des points différents dans l'exon 20. Ces mêmes constatations ont été rapportés dans les méta-analyse de Yue-Lun Zhang et Rondell P. Graham.

Table 2. Distribution and Frequency of Various Activating EGFR Mutations

Region	Country	Mutations					Total Cases Tested (% Mutation Detection Rate)
		Exon 18	Exon 19	Exon 20	Exon 21 L858R	Exon 21 L861Q	
Northern Asia	China	28	468	20	474	19	2702
	Japan	696	4075	2	4499	372	32 935
	South Korea	26	298	5	280	6	2113
	Total (%)	750 (2.0)	4841 (12.8)	27 (0.07)	5253 (13.9)	397 (1.0)	37 750 (30.0)
North America	Canada	31	470	9	353	16	6306
	United States	414	3418	326	2636	253	80 348
	Total (%)	445 (0.5)	3888 (4.5)	335 (0.4)	2989 (3.4)	269 (0.3)	86 654 (9.2)
South America	Brazil	8 (0.6)	60 (4.2)	4 (0.3)	37 (2.6)	4 (0.3)	1439 (7.9)
Europe	Belgium	2	20	1	8	0	380
	France	0	9	0	0	0	80
	Germany	0	0	1	2	0	22
	Netherlands	2	0	0	0	0	19
	Portugal	3	64	1	24	1	529
		Total (%)	7 (0.7)	93 (9.0)	3 (0.3)	34 (3.3)	1 (0.1)
Africa and Middle East	Israel	0	9	2	6	2	84
	Jordan	1	6	1	7	0	104
	Saudi Arabia	1	2	1	1	0	41
	South Africa	0	7	2	3	1	94
		Total (%)	2 (0.6)	24 (7.4)	6 (1.9)	17 (5.3)	3 (0.9)
Southern Asia	India	77	290	3	230	5	2077
	Hong Kong	7	117	1	170	7	770
	Philippines	8	111	12	84	0	569
	Singapore	17	162	16	132	9	818
	Taiwan	89	1216	59	1405	33	5103
		Total (%)	198 (2.1)	1896 (20.3)	91 (1.0)	2021 (21.6)	54 (0.6)
Total (% of all cases tested)		1410 (1.0)	10 802 (7.9)	466 (0.3)	10 351 (7.6)	728 (0.5)	136 533 (17.4)

Figure 54 : Distribution et fréquence des différentes mutations activatrices EGFR [95]



CONCLUSION



Les cancers broncho-pulmonaires (CBP) représentent la première cause de mortalité par cancer dans le monde. Les CBP ont bénéficié ces dernières années d'avancées thérapeutiques majeurs représentés essentiellement par les thérapies ciblées et l'immunothérapie.

En effet, les découvertes d'altérations moléculaires « drivers » définissant l'addiction oncogénique ont révolutionné la prise en charge des CBP. La mutation EGFR constitue une cible thérapeutique majeure dans le CBP permettant le recours aux inhibiteurs de la Thyrosine Kinase chez les patients ayant un CBNPC localement avancé ou métastatique. La thérapie ciblée anti-ALK est un atout thérapeutique majeur chez les patients présentant un réarrangement du gène ALK. PD-L1 est un marqueur prédictif de réponse aux agents anti-PD-1 ou anti-PD-L1 chez les patients atteints de CBNPC. L'expression de PD-L1 évaluée par immunohistochimie est actuellement utilisée comme outil de prise de décision clinique pour soutenir l'utilisation d'inhibiteurs de check-point immunitaire dans le traitement des patients atteints de CBNPC.

Cette étude nous a permis de déterminer la fréquence de la mutation EGFR, la proportion des réarrangements du gène ALK ainsi que le profil d'expression immunohistochimique PDL-1 des CBNPC au sein du CHU Mohammed VI de Marrakech et leur corrélation avec les différents facteurs pronostiques et théranostiques impliquées dans les CBNPC. D'autre part cette étude a permis de faire le point sur les impératifs techniques en immunohistochimie et en FISH afin d'optimiser le rendement des biopsies et améliorer la prise en charge des patients.

Le rôle des pathologistes dans la prise en charge des patients atteints de CBP à l'ère des thérapies personnalisées est fondamental. En effet, l'anatomopathologiste joue un rôle déterminant pour poser le diagnostic positif et déterminer les facteurs pronostiques et théranostiques du CBNPC. Il porte également la responsabilité de la qualité des tissus et doit mettre en place des stratégies d'économie tissulaire dans la perspective des tests immunohistochimiques et moléculaires.

Testing moléculaire EGFR, PDL1 et ALK dans les carcinomes broncho-pulmonaires au CHU Mohammed VI de Marrakech : Etude prospective de 2 ans.

Le testing EGFR, ALK et PDL-1 doit être mis en place dans les laboratoires ayant un recrutement en pathologie pulmonaire et réalisé dans en même temps que les autres marqueurs thérapeutiques afin d'établir une stratégie de traitement personnalisée pour chaque patient.



RECOMMANDATIONS



Cette étude incite donc à :

- a) Améliorer la phase pré analytique pour assurer une bonne fixation des prélèvements :
 - ✓ Prévoir une journée de formation pour le personnel du bloc opératoire et personnel d'aide endoscopique.
 - ✓ Fournir au chirurgien le formol tamponné neutre à 4%.
 - ✓ Sensibiliser le personnel anatomopathologique sur l'intérêt de la gestion du prélèvement de petite taille précieux
- b) Adhérer à des programmes d'assurance qualité.
- c) Rechercher la mutation EGFR une fois le diagnostic de CBPNPC est posé.
- d) Rechercher la mutation ALK une fois le diagnostic de CBPNPC est posé.
- e) Recherche l'expression PDL-1 une fois le diagnostic de CBPNPC est posé.
- f) Au niveau national ou maghrébin, penser à développer des plateformes techniques selon les normes internationales plus sensibles, plus spécifiques et moins coûteuses adaptés à notre contexte ciblant "les drivers oncogéniques" pour permettre un traitement personnalisé des patients atteint de CBPNPC « Traitement à la carte ».
- g) Élaborer un référentiel national de biologie moléculaire et d'immunohistochimie des CBPNPC.
- h) En cas d'adé nocardinome , l'étude anatomopathologique doit être complétée par une étude génétique en biologie moléculaire afin de rechercher une mutation activatrice du gène du récepteur de l'Epidermal Growth Factor (EGFR), KRAS, BRAF, une mutation des gènes Lymphoma Kinase (ALK) ou ROS1. Leur recherche doit être systématique car en présence d'une de ces anomalies génétiques, le pronostic de la maladie change radicalement, ces dernières ouvrant pour la plupart l'accès à des thérapies ciblées spécifiques.

- i) La lutte contre le tabagisme va changer radicalement le pronostic du cancer du poumon et améliorer l'efficacité des moyens thérapeutiques en agissant sur le facteur de risque le plus incriminé dans la physiopathologie de cette affection mortelle.



Fiche d'exploitation

- **Renseignements cliniques :**

-Sexe : Féminin Masculin

-Age :

- **Données Anato-pathologiques :**

- ❖ **Examen macroscopique :**

A/BIOPSIE :

Cytologie :

Biopsie bronchique :

Biopsie pulmonaire :

- Biopsie pulmonaire transbronchique :

- Ponction biopsie sous tomodensitométrie thoracique (tumeur distale) :

B/PIECE OPERATOIRE :

-Pneumectomie :

-Lobectomie :

-Segmentectomie :

-Pleurectomie :

Site du prélèvement :

* Poumon : Droit Gauche

- ❖ **Examen microscopique :**

- **Type histologique :**

Testing moléculaire EGFR, PDL1 et ALK dans les carcinomes broncho-pulmonaires au CHU Mohammed VI de Marrakech : Etude prospective de 2 ans.

(Selon LA CLASSIFICATION HISTOLOGIQUE DES TUMEURS EPITHELIALES PULMONAIRES OMS 2015)

1/Adénocarcinome :

Lépidique

Acineux

Papillaire

Solide

Autre :.....

2/Carcinome épidermoïde :

3/Tumeurs neuroendocrines :

4/Carcinome à grandes cellules :

5/Carcinome adénoquameux :

6/Carcinome sarcomatoïde :

7/Carcinome « lymphoépithélial-like » :

8/NUT Carcinome :

9/Carcinome de type glande salivaire :

➤ **Immunohistochimie :**

CK5/6 TTF1 p40 p63 CK7 CK20

Chromogranine Synaptophysine Ki67

*PD-L1 : - % des cellules tumorales : %

-score de la proportion de tumeurs => TPS : > 1% 1-49% ≥ 50%

*recherche d'un réarrangement ALK.

- Degré d'expression : Négatif 1+ 2+ 3+

➤ **Analyse moléculaire :**

Testing moléculaire EGFR, PDL1 et ALK dans les carcinomes broncho-pulmonaires au CHU Mohammed VI de Marrakech : Etude prospective de 2 ans.

-recherche des mutations activatrices de l'EGFR.

Exon 18

exon 19

Exon 20

Exon 21

-Si la recherche du réarrangement ALK par IHC est positive : compléter par la recherche moléculaire.



RESUMES



Résumé

Les cancers broncho-pulmonaires (CBP) représentent la première cause de mortalité par cancer dans le monde. Les CBP ont bénéficié ces dernières années d'avancées thérapeutiques majeures représentées essentiellement par les thérapies ciblées et l'immunothérapie. L'objectif de notre étude était d'étudier les mutations EGFR, les translocations ALK ainsi que l'expression de PDL1, tout en mettant le point sur les impératifs techniques en immunohistochimie et en biologie moléculaire afin d'optimiser le rendement des biopsies et améliorer la prise en charge des patients.

Nous avons réalisé une étude descriptive, étalée sur 2 ans, allant de janvier 2018 au 01 Janvier 2020 et ayant porté sur 128 patients colligés au CHU Mohammed VI de Marrakech pour le diagnostic et le suivi. Les tumeurs ont été analysées histologiquement et classées selon le profil mutationnel EGFR ainsi que le profil d'expression PDL-1 et ALK.

Concernant le type histologique des différents spécimens étudiés, l'adénocarcinome était le plus représenté dans notre série avec un taux de 76%, suivi des carcinomes épidermoïdes (5%). La mutation EGFR a été retrouvée chez 33% des patients. Parmi ces mutations, celles impliquant l'exon 19 étaient les plus fréquentes et représentaient 72% de l'ensemble des mutations EGFR. Le réarrangement ALK n'a été retrouvé que chez 2,8% des patients. Parmi les patients étudiés, 51,4% avait un TPS inférieur à 1%, 25,8% ont présenté un TPS compris entre 1% et 49%, et 22,9% un TPS supérieur à 50%.

Les inhibiteurs de la tyrosine kinase sont indiqués chez les patients ayant une mutation EGFR. Le crizotinib est une option thérapeutique de choix chez les patients présentant un réarrangement du gène ALK. Les patients présentant une expression positive de l'anticorps anti PD-L1 peuvent bénéficier d'une immunothérapie. Une prise en charge adéquate et dans des brefs délais peut changer le pronostic des tumeurs broncho-pulmonaires rencontrées dans notre région et améliorer la survie.

Abstract

Lung cancers represent the leading cause of cancer death in the world. In recent years, Lung cancers have benefited from major therapeutic advances, mainly represented by targeted therapies and immunotherapy. The objective of our study was to study EGFR mutations, ALK translocation as well as the expression of PDL1, while focusing on the technical requirements in immunohistochemistry and molecular biology in order to optimize the yield of biopsies and improve patient care.

We carried out a descriptive study, spread over 2 years, going from January 2018 to January 01, 2020 and having focused on 128 patients collected at the Mohammed VI University Hospital in Marrakech for diagnosis and follow-up. Tumors were analyzed histologically and classified according to EGFR mutational profile as well as PDL-1 and ALK expression profile.

Regarding the histological type of the different specimens studied, adenocarcinoma was the most represented in our series with a rate of 76%, followed by squamous cell carcinoma (5%). The EGFR mutation was found in 33% of patients. Of these mutations, those involving exon 19 were the most common and accounted for 72% of all EGFR mutations. The ALK rearrangement was only found in 2.8% of patients. Among the patients studied, 51.4% had a TPS less than 1%, 25.8% had a TPS between 1% and 49%, and 22.9% had a TPS greater than 50%.

Tyrosine kinase inhibitors are indicated in patients with EGFR mutation. Crizotinib is a preferred treatment option in patients with ALK gene rearrangement. Patients with positive anti-PD-L1 antibody expression may benefit from immunotherapy. Adequate and timely management can change the prognosis of bronchopulmonary tumors found in our region and improve survival.

ملخص

يعتبر سرطان القصبات الرئوية (BPC) السبب الرئيسي للوفاة من السرطان في جميع أنحاء العالم. وقد استفادت الخلايا التوليفية في السنوات الأخيرة من التطورات العلاجية الكبرى المتمثلة بشكل رئيسي في العلاجات المستهدفة والعلاج المناعي. كان الهدف من دراستنا هو دراسة طفرات EGFR ، ونقل ALK وكذلك التعبير عن PDL1 ، مع تسليط الضوء على المتطلبات الفنية في الكيمياء المناعية والبيولوجيا الجزيئية من أجل تحسين إنتاج الخزعة وتحسين رعاية المرضى.

لقد أجرينا دراسة وصفية ، امتدت على مدى عامين ، من يناير 2018 إلى 1 يناير 2020 ، وبعد أن ركزنا على 128 مريضاً تم جمعهم في CHU Mohammed VI في مراكش للتشخيص والمتابعة. تم تحليل الأورام من الناحية النسيجية وتصنيفها وفقاً لملف تعريف طفرات EGFR بالإضافة إلى ملف تعريف تعبير PDL-1 و ALK.

فيما يتعلق بالنوع النسيجي للعينات المختلفة المدروسة ، كان الورم الغدي هو الأكثر تمثيلاً في سلسلتنا بنسبة 76٪، يليه سرطان الخلايا الحرشفية (5٪). تم العثور على طفرة EGFR في 33٪ من المرضى. من بين هذه الطفرات ، كانت تلك التي تنطوي على exon 19 هي الأكثر شيوعاً وتمثل 72٪ من جميع طفرات EGFR. تم العثور على إعادة ترتيب ALK فقط في 2.8٪ من المرضى. من بين المرضى الذين تمت دراستهم، كان 51.4٪ لديهم TPS أقل من 1 ، و 25.8٪ قدموا TPS بين 1 و 49٪، و 22.9٪ TPS أكبر من 50٪.

يشار إلى مثبطات التيروسين كيناز في المرضى الذين يعانون من طفرة EGFR. Crizotinib هو خيار علاجي مفضل في المرضى الذين يعانون من إعادة ترتيب جين ALK. المرضى الذين لديهم تعبير إيجابي عن الجسم المضاد لـ PD-L1 قد يستفيدون من العلاج المناعي. يمكن أن تؤدي الإدارة المناسبة والسريعة إلى تغيير تشخيص أورام القصبات الرئوية الموجودة في منطقتنا وتحسين البقاء على قيد الحياة



BIBLIOGRAPHIE



1. **Kentaro In.**
Lung Cancer: Understanding Its Molecular Pathology and the 2015 WHO Classification.
Front Oncol. 2017;7:193.
2. **Brett C. Bade, Charles S. Dela Cruz.**
Lung cancer 2020 Epidemiology, Etiology and Prevention.
Clinics Chest Medicine, vol 41, (2020), 24 pages.
3. **Antoine, Marmet & Moroch, J. & Kebir, F. & Georges, M. & Ruppert, Anne-Marie & Wislez, Marie & Cadranel, J.. (2018).**
Classification histomoléculaire des cancers pulmonaires.
Revue des Maladies Respiratoires Actualités. 10. 236-247. 10.1016/S1877-1203(18)30016-8.
4. **Xu-Monette ZY, Zhang M, Li J, Young KH.**
PD-1/PD-L1 Blockade: have we found the key to unleash the antitumor immune response?
Front Immunol 2017;8: 1597
5. **Sul J, Blumenthal GM, Jiang X, He K ,keegan P, Pazdur R .**
FDA approval summary : Pembrolizumab for the treatment of patients with metaxtatic non_small cell lung cancer whose tumors express programmed death-ligand 1 .
Oncologist 2016;21(5):643-50.
6. **Danel C., J Roussel et A. Fabre.**
Le rôle de l'anatomopathologiste en oncologie thoracique : classification, gestion des prélèvements.
Revue des Maladies Respiratoires Actualités, 2013 ; 5, 325-330.
7. **Lantuéjoul S., D. Salameire, E. Brambilla.**
Evolution de la classification histologique des cancers broncho-pulmonaires non à petites cellules.
La Lettre du Cancérologue, 2011; 6 : 376-502.

8. **Travis WD, Brambilla E, Muller-Hermelink HK, Harris CC.**
WHO classification of tumours of the lung, pleura, thymus and heart.
Lyon: IARC Press; 2015.
9. **Seidel T, Zander T, Heukamp LC, Peifer M, Bos M, Fernandez-Cuesta L, et al.**
A genomics-based classification of human lung tumors.
Sci Transl Med 2013;5:209ra153.
10. **WHO Classification of Tumours, Thoracic Tumours,**
5th Edition, Volume 5: 2021
11. **M. Tsao Pathology,**
Princess Margaret Cancer Centre,
The New WHO Classification of Lung Tumors, Toronto/AB/CA Opening plenary session
thursday, january 28, 2021
12. **Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, Yang CH, Chu DT, Saijo N, et al.**
Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adeno-carcinoma.
N Engl J Med 2009;361:947–57.
13. **Brunelli A, Charloux A, Bolliger CT, Rocco G, Sculier JP, Varela G, et al.**
ERS/ESTS clinical guidelines on fitness for radical therapy in lung cancer patients (surgery and chemo-radiotherapy).
Eur Respir J 2009;34:17–41.
14. **Frédérique Penault-Llorca, Lucie Tixier, Loïc Perrot, Anne Cayre**
Stratégie de testing moléculaire des carcinomes pulmonaires
Annales de pathologie (2016) 36, 73–79
15. **Scagliotti G, Brodowicz T, Shepherd FA, Zielinski C, Vansteenkiste J, Manegold C, et al.**
Treatment-by-histology interaction analyses in three phase III trials show superiority of pemetrexed in nonsquamous non-small cell lung cancer.
J Thorac Oncol 2011;6:64–70.
16. **Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, Chitale DA, Dacic S, Giaccone G, et al.**

Molecular testing guideline for selection of lungcancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors.

JMol Diagn 2013;15:415—53.

17. **Barlesi F, Mazieres J, Merlio JP, Debievre D, Mosser J, LenaH, et al.**
Routine molecular profiling of cancer: results of a one-year nationwide program of the French Cooperative Thoracic Intergroup (IFCT) for advanced non-small cell lung cancer(NSCLC) patients.
Lancet 2015 [in press].
18. [http://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Les-therapies-ciblees/Essais-cliniques-et-therapies-ciblees/Les-essais-cliniques-associes-aux-biomarqueurs-emergents-Downloads/Programme-INCa-biomarqueurs-emergents-acces-therapies-ciblees-2010%20\(1\).pdf-Downloads/Charte-Acse-V13-05-2013.pdf](http://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Les-therapies-ciblees/Essais-cliniques-et-therapies-ciblees/Les-essais-cliniques-associes-aux-biomarqueurs-emergents-Downloads/Programme-INCa-biomarqueurs-emergents-acces-therapies-ciblees-2010%20(1).pdf-Downloads/Charte-Acse-V13-05-2013.pdf).
19. **Chen H, Luthra R, Goswami RS, Singh RR, Roy-Chowdhuri S.**
Analysis of pre-analytic factors affecting the success of clinical next-generation sequencing of solid organ malignancies.
Cancers (Basel) 2015;7:1699—715.
20. **Schwartz LE, Aisner DL, Baloch ZW, Sberman D, VachaniA, Gillespie C, et al.**
The diagnostic efficacy of combining bronchoscopic tissue biopsy and endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for the diagnosis of malignant lesions in the lung.
Diagn Cytopathol 2013;41:929—35.
21. **McLeer-Florin A, Moro-Sibilot D, Melis A, Salameire D, LefebvreC, Ceccaldi F, et al.**
Dual IHC and FISH testing for ALK gene rearrangement in lung adenocarcinomas in a routine practice: a French study.
J Thorac Oncol 2012;7:348—54.
22. **Marchetti A, Milella M, Felicioni L, Cappuzzo F, Irtelli L, DelGrammastro M, et al.**
Clinical implications of KRAS mutations in lung cancer patients treated with tyrosine kinase inhibitors: an important role for mutations in minor clones.
Neoplasia 2009;11:1084—92.

23. **Soda M, Choi YL, Enomoto M, Takada S, Yamashita Y, Ishikawa S, et al.**
Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer.
Nature 2007;448:561-6.
24. **Horn L, Pao W.**
EML4-ALK: honing in on a new target in non-small-cell lung cancer.
J Clin Oncol 2009;27:4232-5.
25. **Koivunen JP, Mermel C, Zejnullahu K, Murphy C, Lifshits E, Holmes AJ, et al.**
EML4-ALK fusion gene and efficacy of an ALK kinase inhibitor in lung cancer.
Clin Cancer Res 2008;14:4275-83.
26. **Sanders HR, Li HR, Bruey JM, Scheerle JA, Meloni-Ehrig AM, Kelly JC, et al.**
Exon scanning by reverse transcriptase-polymerase chain reaction for detection of known and novel EML4-ALK fusion variants in non-small cell lung cancer.
Cancer Genet 2011;204:45-52.
27. **Sasaki T, Rodig SJ, Chirieac LR, Jänne PA.**
The biology and treatment of EML4-ALK non-small cell lung cancer.
Eur J Cancer 2010;46:1773-80.
28. **Takeuchi K, Choi YL, Togashi Y, Soda M, Hatano S, Inamura K, et al.**
KIF5B-ALK, a novel fusion oncokinase identified by an immunohistochemistry-based diagnostic system for ALK-positive lung cancer.
Clin Cancer Res 2009;15:3143-9.
29. **Togashi Y, Soda M, Sakata S, Sugawara E, Hatano S, Asaka R, et al.**
KLC1-ALK: a novel fusion in lung cancer identified using a formalin-fixed paraffin-embedded tissue only.
PLoS One 2012;7:e31323.
30. **Marchetti A, Di Lorito A, Pace MV, Iezzi M, Felicioni L, D'Antuono T, et al.**
ALK protein analysis by IHC staining after recent regulatory changes: a comparison of two widely used approaches, revision of the literature, and a new testing algorithm.

J Thorac Oncol 2016;11:487-95.

31. **El-Guindy DM, Helal DS, Sabry NM, Abo El-Nasr M.**
Programmed cell death ligand-1 (PD-L1) expression combined with CD8 tumor infiltrating lymphocytes density in non-small cell lung cancer patients.
J Egypt Natl Canc Inst 2018;30:125-31.
32. **Pardoll DM.**
The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy.
Nat Rev Cancer 2012;12:252-64.
33. **Grivnickov SI, Greten FR, Karin M.**
Immunity, inflammation, and cancer.
Cell 2010;140:883-99.
34. **Nguyen LT, Ohashi PS.**
Clinical blockade of PD1 and LAG3--potential mechanisms of action.
Nat Rev Immunol 2015;15:45-56.
35. **Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH.**
PD-1 and its ligands in tolerance and immunity.
Annu Rev Immunol 2008;26:677-704.
36. **Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM.**
Targeting the PD-1/B7-H1(PD-L1) pathway to activate anti-tumor immunity. *Curr Opin Immunol 2012;24:207-12.*
37. **Chen DS, Irving BA, Hodi FS.**
Molecular pathways: next-generation immunotherapy -- inhibiting programmed death-ligand 1 and programmed death-1.
Clin Cancer Res 2012;18:6580-7.
38. **Mazières J.**
Immunothérapie en oncologie thoracique: où en sommes-nous ?

- [En Ligne]. [Consulté le 28/06/2020]. Disponible:http://splf.fr/wp-content/uploads/2017/10/Mazieres-J._Immunotheapie-en-oncologie-thoracique-ou-en-somme-nous.pdf
39. **Ghebeh H, Barhoush E, Tulbah A, Elkum N, Al-Tweigeri T, Dermime S.**
FOXP3+ Tregs and B7-H1+/PD-1+ T lymphocytes co-infiltrate the tumor tissues of high-risk breast cancer patients: Implication for immunotherapy.
BMC Cancer 2008; 8:57.
40. **Raimondi G, Shufesky WJ, Tokita D, Morelli AE, Thomson AW.**
Regulated compartmentalization of programmed cell death-1 discriminates CD4+CD25+ resting regulatory T cells from activated T cells.
J Immunol 2006;176:2808-16.
41. **Ahmadzadeh M, Johnson LA, Heemskerk B, Wunderlich JR, Dudley ME, White DE, et al.**
Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired.
Blood 2009;114:1537-44.
42. **Gaule P, Smithy JW, Toki M, Rehman J, Patell-Socha F, Cougot D, et al.**
A quantitative comparison of antibodies to programmed cell death 1 ligand 1
JAMA Oncol 2017;3(2):256
43. **Liu J, Hamrouni A, Wolowiec D, Coiteux V, Kuliczowski K, Hetuin D, et al.**
Plasma cells from multiple myeloma patients express B7-H1 (PD-L1) and increase expression after stimulation with IFN- γ and TLR ligands via a MyD88-, TRAF6-, and MEK-dependent pathway.
Blood 2007;110:296-304.
44. **Arnould L.**
Comment intégrer l'analyse de PDL1 en pratique
[En Ligne]. 2017 [Consulté le 28/06/2020].
Disponible:<http://oncotrans.fr/files/142/COMM/2017/VENDREDI/17-13h40-laurent-arnould.pdf>
-

45. **Noh H, Hu J, Wang X, Xia X, Satelli A, Li S.**
Immune checkpoint regulator PD-L1 expression on tumor cells by contacting CD11b positive bone marrow derived stromal cells.
Cell Commun Signal 2015;13:14.
46. **Wu P, Wu D, Li L, Chai Y, Huang J.**
PD-L1 and survival in solid tumors: a meta-analysis.
PLoS One 2015;10:e0131403.
47. **Kintsler S, Cassataro MA, Drosch M, Holenya P, Knuechel R, Braunschweig T.**
Expression of programmed death ligand (PD-L1) in different tumors. Comparison of several current available antibody clones and antibody profiling.
Ann Diagn Pathol 2019;41:24-37.
48. **Salma El Ghissassi, H. Errihani**
Thèse : La mutation EGFR dans l'adénocarcinome pulmonaire : caractéristiques de la population marocaine à travers une étude prospective.
49. **Sharma SV, Bell DW, Settleman J, et al.**
Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer.
Nat Rev Cancer. 2007;7(3):169-81
50. **Pao, W. and V.A. Miller.**
Epidermal growth factor receptor mutations, small-molecule kinase inhibitors, and non-small-cell- lung cancer : current knowledge and future directions.
J Clin Oncol, 2005. 23(11) :p. 2556-68.
51. **Gazdar, A.F.,**
Personalized medicine and inhibition of EGFR signaling in lung cancer.
N Engl J Med, 2009.361(10) :p. 1018-20.
52. **Shigematsu H, Gazdar AF.**
Somatic mutations of epidermal growth factor receptor signaling pathway in lung cancers.
Int J Cancer. 2006 Jan 15;118(2):257-62.

53. **Rosell R, Moran T, Queralt C, et al.**
Spanish Lung Cancer Group. Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer.
N Engl J Med 2009;361:958-67
54. **Gazdar AF.**
Activating and resistance mutations of EGFR in non-smallcell lung cancer: role in clinical response to EGFR tyrosine kinase inhibitors.
Oncogene. 2009 Aug;28 Suppl 1:S24-31.
55. **Nicholson, R.I., J.M. Gee, and M.E. Harper,**
EGFR and cancer prognosis.
Eur J Cancer, 2001. 37 Suppl 4 : p.59-15.
56. **Sandgren, E.P., et al.,**
Overexpression of TGF alpha in transgenic mice : induction of epithelial hyperplasia, pancreatic metaplasia, and carcinoma of the breast.
Cell, 1990. 61(6) : p.1121-35.
57. **Hirsh, F.R., et al.,**
Epidermal growth factor family of recetors in preneoplasia and lung cancer : perspectives for targeted therapies.
Lung Cancer, 2003. 41 Suppl 1 : p. S29-42.
58. **Herbst, R.S. and P.A. Bunn, Jr.,**
Targeting the epidermal growth factor receptor in non-small cell lung cancer.Clin Cancer Res, 2003. 9(16 pt 1): p. 5813-24.
59. **Irmer , D., J.O. Funk, and A. Blaukat.**
EGFR kinase domain mutations- functional impact and relevance for lung cancer therapy.
Oncogene, 2007. 26(39): p.5693-701.
60. **Pallis, A., Voutsina, A., Kalikaki, A. et al.**
'Classical' but not 'other' mutations of EGFR kinase domain are associated with clinical outcome in gefitinib-treated patients with non-small cell lung cancer.

- Br J Cancer **97**, 1560–1566 (2007).
<https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604068>
- 61. Yarden Y and Sliwkowski MX.**
Untangling the ErbB signalling network.
Nat Rev Mol Cell Biol, 2001.2(2): p. 127–37.
- 62. Ciardiello F, Tortora G.**
A novel approach in the treatment of cancer : targeting the epidermal growth factor receptor.
Clin Cancer Res 2001;7 : 2958–70.
- 63. Krause DS, Van Etten RA.**
Tyrosine kinases as targets for cancer therapy.
N Engl J Med 2005 ; 353 : 172–87.
- 64. Sholl LM.**
Biomarkers in lung adenocarcinoma: a decade of progress.
Arch Pathol Lab Med 2015;139:469–80.
- 65. Pan Y, Zhang Y, Li Y, Hu H, Wang L, Li H, et al.**
ALK, ROS1 and RET fusions in 1139 lung adenocarcinomas: a comprehensive study of common and fusion pattern-specific clinicopathologic, histologic and cytologic features.
Lung Cancer 2014;84:121–6.
- 66. Takeuchi K1, Soda M, Togashi Y, Suzuki R, Sakata S, Hatano S, et al.**
RET, ROS1 and ALK fusions in lung cancer.
Nat Med 2012;18:378–81.
- 67. Oxnard GR, Binder A, Jänne PA.**
New targetable onco-genes in non-small-cell lung cancer.
J Clin Oncol 2013;31:1097–104.
- 68. Mar N, Vredenburgh JJ, Wasser JS.**
Targeting HER2 in the treatment of non-small cell lung cancer.

Lung Cancer 2015;87:220–5.

69. <https://www.uicc.org/news/globocan-2020-new-global-cancer-data>
70. Inoue M, Okumura M, Sawabata N, Miyaoka E, Asamura H, Yoshino I, et al. Clinicopathological characteristics and surgical results of lung cancer patients aged up to 50 years: the Japanese Lung Cancer Registry Study 2004. *Lung Cancer* 2014;83:246–51.
71. Kadota K, Yeh YC, Sima CS, Rusch VW, Moreira AL, Adusu-milli PS, et al. The cribriform pattern identifies a subset of acinar predominant tumors with poor prognosis in patients with stage I lung adenocarcinoma: a conceptual proposal to classify cribriform predominant tumors as a distinct histologic subtype. *Mod Pathol* 2014;27:690–700.
72. Ben Amar A, Yangui I, Ketata W, Msaad S, Ayadi H, Ayoub A. Contribution à l'étude du cancer bronchique primitif dans le service de pneumologie de Sfax (Tunisie). *Rev Mal Respir* 2012;29(Suppl 1):A162.
73. Ndiaye EM, Touré NQ Thiam K, Cissé MF Diatta A. Difficultés diagnostiques et de prise en charge des cancers broncho-pulmonaires primitifs (CBPP) dans le service de pneumologie du CHNU de Fann. *Rev Mal Respir* 2015;32(Suppl):A92.
74. Fondation Lalla Salma Prévention et Traitement des Cancers. Registre des cancers de la région du Grand Casablanca 2008–2012 (édition 2016). [En Ligne]. [Consulté le 21/06/2020]. Disponible: https://www.contrelecancer.ma/site/media/uploaded_files/RCRGC.pdf
75. Jin Y, Shen X, Pan Y, Zheng Q, Chen H, Hu H, et al. Correlation between PD-L1 expression and clinicopathological characteristics of non-small cell lung cancer: A real-world study of a large Chinese cohort. *J Thorac Dis* 2019;11:4591–601.

76. **Hongshu Sui, Ningxia Ma ,Ying Wang, Hui Li, Xiaoming Liu ,Yanping Su ,and Jiali Yang**
Anti-PD-1/PD-L1 Therapy for Non-Small-Cell Lung Cancer: Toward Personalized Medicine and Combination Strategies
Hindawi Journal of Immunology Research, Volume 2018, Article ID 6984948, 17 pages,
<https://doi.org/10.1155/2018/6984948>
77. **Skov BG, Rørvig SB, Jensen THL, Skov T.**
The prevalence of programmed death ligand-1 (PD-L1) expression in non-small cell lung cancer in an unselected, consecutive population.
Mod Pathol 2020;33:109-117.
78. **Mehdaoui D.**
Intérêt de la détection du remaniement du gène ALK en cancérologie pulmonaire: comparaison de 2 techniques de détection (FISH et IHC) sur une série de 254 patients porteurs d'un adénocarcinome pulmonaire [Thèse]. Rouen: Université de Rouen, Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie; 2012.
79. **Rodig SJ, Mino-Kenudson M, Dacic S, Yeap BY, Shaw A, Barletta JA, et al.**
Unique clinicopathologic features characterize ALK-rearranged lung adenocarcinoma in the Western population.
Clin Cancer Res 2009;15:5216-23.
80. **Cote ML, Haddad R, Edwards DJ, et al.**
Frequency and type of epidermal growth factor receptor mutations in African Americans with non-small cell lung cancer .
J Thorac Oncol. 2011 Mar;6(3):627-30.
81. **Tomizawa Y, Iijima H, Suguna N, et al.**
Clinicopathologic significance of the mutations of the epidermal growth factor receptor gene in patients with non-small cell lung cancer.
Clin Cancer Res.2005;11:6816-6822.

82. **M. Gamaz Bensaou, N. Mehenni Allalouche, N. Gheroufella Dlim, K. Bouzid**
Prevalence of activating egfr mutations in patients with adenocarcinoma of lung cancer in algerian series Incidence of lung cancer in males and females in Algeria: The lung cancer registry in Algeria (LuCaReAl).
Cancer epidemiology. 69. 101799. 10.1016/j.canep.2020.101799.
83. **Zohra Mraïhi , Jihen Ben Amar, Hend Bouacha, Soumaya Rammeh, Lamia Hila**
EGFR mutation status in Tunisian nonsmall-cell lung cancer patients evaluated by mutation-specific immunohistochemistry.
BMC Pulm Med 18, 132 (2018). <https://doi.org/10.1186/s12890-018-0706-5>
84. **H. Kaanane, H. El Attar, A. Louahabbi, et al.,**
Targeted methods for molecular characterization of EGFR mutational profile in lung cancer Moroccan cohort
Journal of thoracic oncology: official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer 13(9):S173-S174 September 2018
85. **Hassan Errihani, MD, PhD, Hanane Inrhaoun, Anouar Boukir, Fouad Kettani, Lamia Gamra, Amina Mestari, Lamia Jabri, Youssef Bensouda, Hind Mrabti, Ibrahim Elghissassi**
Frequency of EGFR Mutations in Moroccan Patients
Journal of Thoracic Oncology ® · Volume 8, Number 9, September 2013
86. **A. Lyagoubi, N. Mellas**
Thèse : Mutation du facteur de croissance épidermique dans le cancer bronchique métastatique
87. **Reinersman JM, Johnson ML, Riely CJ, et al.**
Frequency of EGFR and KRAS mutations in lung adenocarcinomas in African Americans.
J Thorac Oncol. 2011 Jan;6(1):28-31.
88. **Cote ML, Haddad R, Edwards DJ, et al.**
Frequency and type of epidermal growth factor receptor mutations in African Americans with non-small cell lung cancer .
J Thorac Oncol. 2011 Mar;6(3):627-30.

89. **Smits AJ, Kummer JA, Hinrichs JW, et al.**
EGFR and KRAS mutations in lung carcinomas in the Dutch population: increased EGFR mutation frequency in malignant pleural effusion of lung adenocarcinoma.
Cell Oncol (Dordr). 2012 Jun;35(3):189–96.
90. **Broët P, Dalmasso C, Tan EH, et al.**
Genomic Profiles Specific to Patient Ethnicity in Lung Adenocarcinoma.
Clin Cancer Res. 2011 Jun 1;17(11):3542–50
91. **Rosell R, Moran T, Queralt C, et al.**
Spanish Lung Cancer Group. Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer.
N Engl J Med 2009;361:958–67
92. **Zhong W, Wang M, Li L, et al.**
EGFR gene mutation statuses in advanced non-small cell lung cancer patients and their influence on effect of géfitinib.
Zhongguo Fei Ai Za Zhi. 2012 Sep 20;15(9):513–20.
93. **Zhang, Y. L., Yuan, J. Q., Wang, K. F., Fu, X. H., Han, X. R., Threapleton, D., Yang, Z. Y., Mao, C., & Tang, J. L. (2016).**
The prevalence of EGFR mutation in patients with non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis.
Oncotarget, 7(48), 78985–78993. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12587>
94. **Graham, R. P., Treece, A. L., Lindeman, N. I., Vasalos, P., Shan, M., Jennings, L. J., & Rimm, D. L. (2018).**
Worldwide Frequency of Commonly Detected EGFR Mutations.
Archives of pathology & laboratory medicine, 142(2), 163–167.
<https://doi.org/10.5858/arpa.2016-0579-CP>

قسم الطبيب

أقسم بالله العظيم

أن أراقب الله في مهنتي.

وأن أصون حياة الإنسان في كافة أطوارها في كل الظروف

والأحوال باذلاً وسعي في استنقاذها من الهلاك والمرض

والألم والقلق.

وأن أحفظ للناس كرامتهم، وأستر عورتهم، وأكتم سرهم.

وأن أكون على الدوام من وسائل رحمة الله، باذلاً رعايتي الطبية للقريب

والبعيد، للصالح والطالح، والصديق والعدو.

وأن أثار على طلب العلم، أسخره لنفع الإنسان .. لا لأذاه.

وأن أوقر من علمني، وأعلم من يصغرني، وأكون أخاً لكل زميل في المهنة الطبية

متعاونين على البر والتقوى.

وأن تكون حياتي مصداق إيماني في سرّي وعلانيتي، نقيّة مما يشينها اتجاه

الله ورسوله والمؤمنين.

والله على ما أقول شهيدا

**الإختبار الجزيئي EGFR و PDL1 و ALK في
سرطان القصبات الرئوية في المركز الإستشفائي الجامعي
محمد السادس في مراكش. دراسة مستقبلية لمدة عامين.**

الأطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم 2022/02/25

من طرف

السيدة هاجر بحري

المزودة 28 نونبر 1992 ب قلعة السراغنة

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية:

سرطان قصبي رئوي - إختبار مناعي خلوي كيميائي - علم الأحياء الجزيئي

EGFR-ALK-PDL1

اللجنة

الرئيس

ل. عمرو

السيدة

أستاذة في طب أمراض الجهاز التنفسي

المشرف

ح. رايس

السيدة

أستاذة في التشريح المرضي

الحكم

م. خوشاني

السيدة

أستاذة في العلاج الإشعاعي