

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université BLIDA 1

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



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme de Master en biologie

Option : Biosignalisation Cellulaire et Moléculaire et génétique de cancer

Thème

Sarcome d'Ewing, degré de différenciation et expression du CD99

Réalisé par : Melle DEBBAB Djaouida

Soutenu le 30/10/2014 devant le jury composé de :

M^{me} BENAZOUZE.F.	MAA	Université BLIDA 1	Présidente
M^{me} HANNACHLL.	Professeur	CHU Mustapha	Examinatrice
M^{me} CHILLA.D.	MA	CHU Mustapha	Examinatrice
M^r BAHORIZ.M.R.	MA	CHU Mustapha	Promoteur
M^{me} KESKAS.S.	MAB	Université BLIDA 1	Co-promotrice

Promotion: 2013/2014

Remerciements

Je remercie tout d'abord DIEU qui m'a donné le courage, la volonté et la santé pour accomplir ce travail.

*Je tiens à remercier tout particulièrement mon encadreur **Dr BHRIZ Mohamed Rachid** pour tous ses efforts et ses encouragements, pour son aide et sa patience infinie, et pour le soutien qu'il m'a témoigné, je lui exprime ma profonde gratitude.*

*A ma co-promotrice **Mm KESKAS** pour tous ses efforts et ses encouragements durant toute cette période pour son aide et sa patience infinie.*

*Je remercie infiniment **Mm BENAZOUZE**, qui a accepté de corriger ce travail et d'être présidente de ce Jury. Je remercie aussi **Pr HANNACHI** et **Dr CHILLA**, d'avoir accepté d'examiner mon travail.*

Mes remerciements s'adressent également aux techniciens et à l'ensemble du personnel du laboratoire d'anatomie-pathologique de l'établissement Hospitalier de Mustapha bacha d'alger.

Enfin, mes vifs remerciement vont à tous les enseignants de biologie.

Dédicaces

Je tiens tout d'abord à dédier ce modeste travail à mes chers parents que dieu me les garde, qui m'ont soutenue tout le long de mon cursus, vos conseils ont été judicieux. J'espère être toujours à la hauteur de vos espérances !

À mes et chères sœurs : F.ZOHRA, HABIBA, NADJIA ET BACHIRA, qui ont toujours pu me faire rire lorsque j'en avais besoin.

À mes chers frères : MOHAMED, AHMED, ALI, FAROUK et YAHYA.

À tous mes petits neveux et mes petites nièces.

À tous ceux qui portent le nom DEBBAB.

À mes meilleures amies pour leurs incessants encouragements et leur soutien durant les épreuves que nous avons traversées :

KECHROUDE, OULD CHERCHALI, NADJI et CHERGUI.

Merci à vous

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titre	Page
Tableau I	Principales cibles du facteur de transcription EWS-FLI1.	ANNEXE II
Tableau II	Translocations chromosomiques observées dans le sarcome d'Ewing.	6
Tableau III	classification histologique des STM selon L'OMS 2013 des tumeurs des parties molles et osseuses.	7
Tableau IV	Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing selon l'âge.	ANNEXE II
Tableau V	Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing selon le sexe.	ANNEXE II
Tableau VI	Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing selon le Siège.	ANNEXE II
Tableau VII	Répartition du sarcome d'Ewing en fonction de sa localisation osseuse et extra-osseuse.	ANNEXE II
Tableau VIII	Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing / Immunomarquage CD99.	ANNEXE II
Tableau IX	Répartition de la positivité de marquage anti CD99 selon le site d'expression.	38
Tableau X	Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing selon le grade de malignité.	38
Tableau XI	Expression du CD99 dans les PNET.	40
Tableau XII	Expression du CD99 dans le sarcome d'Ewing typique à petites cellules.	40
Tableau XIII	Expression du CD99 dans le sarcome d'Ewing à grandes cellules.	41
Tableau XIV	Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing / Immunomarquage NSE.	ANNEXE II
Tableau XV	Répartition de la positivité de marquage anti NSE selon le site d'expression.	42
Tableau XVI	Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing / Immunomarquage Chromogranine.	ANNEXE II

Tableau XVII	Répartition de la positivité de marquage anti Chromogranine selon le site d'expression.	44
Tableau XVIII	Répartition des patients porteurs de sarcome d'Ewing / Immunomarquage Vimentine.	ANNEXE II
Tableau XIX	Répartition de la positivité du marquage anti Vimentine selon le site d'expression.	46

LISTE DES FIGURES

Figures	Titres	Pages
Figure 1	Translocation réciproque t (11;22) (q24;12).	2
Figure 2	Gène de fusion EWS/FLI1.	2
Figure 3	Localisation du sarcome d'Ewing sur le squelette.	8
Figure 4	Localisation du sarcome d'Ewing sur l'os.	9
Figure 5	Caractéristiques d'une tumeur d'Ewing par Immunomarquega en FISH.	13
Figure 6	La voie de signalisation de l'IGF1.	14
Figure 7	Développement des tumeurs d'Ewing.	15
Figure 8	La voie de signalisation de TGFβ.	16
Figure 9	Impact de l'IGFβ dans le processus de cancérisation.	17
Figure 10	Mécanismes cellulaires impliqués dans l'action antiproliférative et anti-apoptotique de p21.	18
Figure 11	Le principe de la révélation de la peroxydase.	31
Figure 12	Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing en fonction de l'âge.	32
Figure 13	Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing en fonction du sexe.	33
Figure 14	Répartition des patients atteints par le sarcome d'Ewing en fonction du siège.	34
Figure 15	Répartition du sarcome d'Ewing selon sa localisation osseuse et extra osseuse.	35
Figure 16	Sarcome d'Ewing (typique et atypique); Coloration HE à différents grossissements.	36
Figure 17	Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing / Immunomarquage CD99.	37

Figure 18	Répartition de la positivité de marquage anti CD99 selon le site d'expression.	39
Figure 19	Coupe histologique du sarcome d'Ewing après immunomarquage membranaire de CD99 observée au microscope optique à différents grossissements.	39
Figure 20	Expression du CD99 dans les PNET.	40
Figure 21	Expression du CD99 dans le sarcome d'Ewing typique à petites cellules.	41
Figure 22	Expression du CD99 dans le sarcome d'Ewing à grandes cellules.	41
Figure 23	Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing / Immunomarquage/NSE.	41
Figure 24	Répartition de la positivité de marquage anti NSE selon le site d'expression.	43
Figure 25	Coupe histologique du sarcome d'Ewing après immunomarquage cytoplasmique granulaire de NSE observée au microscope optique à grossissement Gx40.	43
Figure 26	Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing / Immunomarquage/Chromogranine.	44
Figure 27	Répartition de la positivité de marquage anti Chromogranine selon le site d'expression.	45
Figure 28	Coupe histologique du sarcome d'Ewing après immunomarquage cytoplasmique granulaire de la chromogranine observée au microscope optique à grossissement ×40.	45
Figure 29	Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing / Immunomarquage/Vimentine.	46
Figure 30	Répartition de la positivité de marquage anti Vimentine selon le site d'expression.	47
Figure 31	Coupe histologique du sarcome d'Ewing après immunomarquage cytoplasmique du Vimentine observée au microscope optique à grossissement ×40.	47

LISTE DES ABREVIATIONS

Akt : protein kinase B.

ARN : Acide RiboNucléique.

CAV1 : Caveolin1.

CCK : Choleystokinin.

CCND1 : Cycline D1.

CDKN1B : Cyclin Dependent Kinase inhibitor 1B.

CDKN1C : Cyclin Dependent Kinase inhibitor 1C.

CD99 : Cluster Of Differentiation 99.

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité.

DBD : DNA Binding Domain.

ESFT : Tumeurs de la famille du Sarcome d'Ewing ou Sarcomes d'Ewing.

ERG : ETS-Related Gene.

ESFT : Ewing's Sarcoma Family Tumors.

EWS : Ewing Sarcoma.

FLI 1 : Friend Leukemia Virus Integration.

HE : Hématoxyline, Eosine.

IHC : Immunohistochimie.

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique.

MAPK : Mitogen Activated Protein Kinas.

MPS : MucoPolySaccharides.

MYC : V-myc avian myelocytomatosis vial oncogene homolog.

NSE : Neuron Specific Enolase.

NEK2 : NIMA related kinase 2.

NFkB : Nuclear Factor of Kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1.

NR0B1 : Nuclear Receptor subfamily 0, group B, member1.

NKX2-2 : NK2 homeobox2.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

P53 : Protéine 53.
PI3K : Phosphoinositide 3-kinase.
PIM3 : Pim-3 oncogene.
PBK : PDZ binding Kinase.
PLD2 : Phospholipase D2.
PNET : Primitive NeuroEctodermial Tumor.
PTPN13 : Protein Tyrosine Phosphatase, non receptor type 13.
RAS: Rat Sarcoma.
SE : Sarcome d'Ewing.
S-mad : Mothers against decapentaplegic homolog.
STM : Sarcoe des Tissu mous.
STYXL1 : Serine Threonine Turosine interacting-like 1.
TERT : Telomerase Reverse Transcriptase.
TDM : TomoDensitoMétrie.
TGF β R2 : Transforming Growth Factor β Receptor 2.
TNF : Tumour Necrosis Factor.
UBE2C : Ubiquitin-conjugating Enzyme E2C.
UPP1 : Uridine Phosphorylase 1.
VEGF A : Vascular Endothelial Growth Factor A.
ZYG : Zyxin.

RESUME

Sarcome d'Ewing, degré de différenciation et expression du CD99

Le sarcome d'Ewing est une tumeur maligne primitive, qui appartient à la forme indifférenciée des tumeurs neuro ectodermiques. Notre étude a été menée sur des prélèvements colligés au laboratoire d'anatomie-pathologique du Centre hospitalo-universitaire, Mustapha Bacha (Alger). L'étude rétrospective réalisée sur 39 cas a montré que le sarcome d'Ewing touche principalement les enfants et les adolescents avec un pic d'incidence qui se situe principalement entre 0 à 20 ans (82%). Cette tumeur était plus fréquente chez les hommes (59%) avec sex-ratio de 1,43 ; elle est le plus souvent localisée dans les parties des os (69%). Le diagnostic histologique de ces patients a révélé que le sarcome d'Ewing est composé de petites cellules rondes à noyau indenté doté d'une chromatine et d'un ou deux petits nucléoles, le cytoplasme est réduit, pâle vacuolisé. L'étude de l'expression du CD99 réalisée sur 39 prélèvements, révèle une positivité dans 56% des cas avec un marquage membranaire dans 100% des cellules tumorales. Il n'existe pas un lien entre le degré de différenciation du sarcome d'Ewing et l'expression du CD99. L'expression de la NSE, Chromogranine et la vimentine est focale. Ces résultats indiquent le rôle diagnostique du CD99 dans le sarcome d'Ewing par rapport aux autres marqueurs mais il reste insuffisant et non spécifique parce qu'il s'exprime dans différentes tumeurs ce qui réduit la spécificité de cet anticorps. La mise en évidence de ce transcrit de fusion a une valeur majeure dans le diagnostic.

Mots clés : Sarcome d'Ewing, Immunohistochimie, CD99, NSE, Chromogranine, Vimentine.

ملخص

ساركوما يوينغ، درجة التمايز والتعبير عن CD99

ساركوما يوينغ هو ورم خبيث أولي ينتمي إلى شكل غير متميز من الأورام العصبية الأدمة من عائلة الأورام الطرفية العصبية الأدمة. أجريت دراستنا على العينات التي تم جمعها في مختبر مصطفى باشا الجامعي (الجزائر العاصمة) أظهرت الدراسة الاستيعادية لـ 93 من الحالات ان ساركوما يوينغ يؤثر في المقام الأول على الأطفال والمراهقين مع حدوث الذروة التي تكون في معظمها بين 0-20 (82%) . هذا الورم هو أكثر شيوعا عند الرجال (59%) مع 1,43;

عادة ما يكون موضعيا في أجزاء العظام (69%) . وكشف التشخيص النسيجي لهؤلاء المرضى أن ساركوما يوينغ يتكون من خلايا صغيرة مستديرة مع نواة بادئة مع نواه وادة أو اثنين من نويات صغيرة، يتم تقليل السيتوبلازم، شاحب الرغبة . دراسة التعبير عن CD99 أجريت على 39 عينة تكشف إيجابية في 56% من الحالات على مستوى الغشاء في 100% من خلايا الورم. لا يوجد أي ارتباط بين درجة التفريق بين ساركوما يوينغ والتعبير عن CD99. التعبير عن NSE، كروموجرانين وفيمنتين هو التركيز. هذه النتائج تشير إلى دور CD99 في تشخيص ساركوما يوينغ مقارنة مع علامات أخرى لكنها غير كافية وغير محددة لأن يعبر عنه في مختلف الأورام مما يقلل من خصوصية هذا الجسم المضاد. تسليط الضوء على هذا الانصهار محضر له قيمة أكبر في التشخيص.

الكلمات المفتاح : ساركوما يوينغ, التحليل الكيمونسيجي المناعي, CD99, NSE, كروموجرانين, الفيمنتين.

ABSTRACT

Ewing sarcoma, degree of differentiation and expression of CD99

Ewing's sarcoma is a primary malignant tumor, which belongs to the undifferentiated form of neuro ectodermal tumors of the peripheral family Neuro Ectodermal Tumors (PNET). Our study was conducted on samples collected in the anatomy-pathological laboratory University Hospital, Mustapha Bacha (Algiers). The retrospective study of 39 cases showed that Ewing's sarcoma primarily affects children and adolescents with a peak incidence which is mostly between 0-20 years (82%). This tumor is more common in men (59%) with sex-ratio of 1.43; it is usually localized in the bone parts (69%). The histological diagnosis of these patients revealed that the Ewing's sarcoma is composed of small round cells with indented nucleus with chromatin and one or two small nucleoli, the cytoplasm is reduced, pale vacuolated. The study of the expression of CD99 performed on 39 samples reveals positivity in 56% of cases with a membrane staining in 100% of tumor cells. There is no link between the degree of differentiation of Ewing's sarcoma and expression of CD99. These results indicate the diagnostic role of CD99 in Ewing sarcoma relative to other markers but there is insufficient and non-specific because it is expressed in various tumors which reduces the specificity of this antibody. The demonstration of this fusion transcript has a greater value in the diagnosis.

Key words: Ewing's sarcoma, Immunohistochemie, CD99, NSE, Chromogranin, vimentin.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : GENERALITES	
I-1-Définition.....	2
I-2-Historique.....	2
I-3-Epidémiologie.....	2
I-4-Etiologie.....	3
I-5-Génétique.....	3
I-6-Classification des sarcomes des tissus mous des tumeurs des parties molles et osseuses....	6
I-7-Localisations	8
I-8-Aspect macroscopique.....	9
I-9-Aspect histopathologique.....	9
I-10-Diagnostics.....	14
I-11-Voies de signalisation.....	14
I-13-Facteurs pronostiques.....	19
I-14-Stratégies thérapeutiques.....	19
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODE	
II-1Matériel.....	24
II-1-1-Population d'étude.....	24
II-1-2-Matériel non biologique.....	25
II-2-Méthode.....	25
II-2-1-Etude macroscopique.....	26

II-2-2-Etude histologique : technique de coloration HE.....	27
II-2-3-Etude immunohistochimique(IHC).....	29
Chapitre III : Résultats et discussion.	
III-1-Résultats.....	32
III-2-Discussion.....	48
CONCLUSION ET PERSPECTIVE.....	52
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	54
ANNEXES.....	61

INTRODUCTION

Le sarcome d'Ewing a été décrit initialement par le pathologiste américain James Ewing en 1921, il survient essentiellement chez l'enfant, l'adolescent et l'adulte jeune. Sa localisation sur l'os est le plus souvent dans la zone diaphyse des os long (le fémur, le péroné ou le tibia) et le membre inférieur préférentiellement au niveau des os plats, en particulier le bassin (Muscolo et al, 2003). Il peut également avoir une localisation extra-osseuse sans aucune connexion squelettique (le système nerveux centrale, les voies urinaires, les ovaires, les testicules, le pancréas, la vésicule biliaire, ainsi que dans la peau) c'est le sarcome d'Ewing extra squelettique (Applebaum et al, 2011).

Les cellules tumorales du sarcome d'Ewing, originaires du tissu mésenchymateux sont de petites tailles, rondes, indifférenciées et positives aux marqueurs membranaires CD99, cette glycoprotéine est communément associée aux cellules lymphoïdes et semble jouer un rôle dans la transmission des leucocytes à travers l'endothélium. Ainsi que dans l'adhésion cellulaire, la migration, l'apoptose, la différenciation, l'activation et la prolifération des lymphocytes et une extravasation (Byun et al, 2006). En conditions pathologiques, le rôle de CD99 n'a pas été complètement élucidé. L'expression du CD99 conduit à l'induction de l'adhérence cellule-cellule et de l'apoptose (Scotlandi et al, 2010). Cependant cette description histologique n'est pas spécifique à la tumeur d'Ewing, sa particularité réside dans sa signature moléculaire et dans la mise en évidence d'une anomalie cytogénétique : la translocation chromosomique réciproque t (11;22) (q24;q12). Celle-ci induit la fusion de gènes spécifiques portés par les chromosomes 11 et 22, aboutissant ainsi à la formation d'un gène muté qui code pour une protéine anormale baptisée EWS/FLI-1. La mise en évidence de ce transcrite de fusion a une valeur majeure dans le diagnostic du sarcome d'Ewing. la protéine chimérique EWS-FLI1 résultant de la translocation t(11;22) exerce son action oncogénique en se comportant comme un facteur de transcription qui régule de façon anarchique l'expression de gènes cibles intervenant dans la régulation du cycle cellulaire (P21), les voies de signalisation (voies du TGFβ, de l'IGF1) et le développement tumoral.

En termes de stratégies thérapeutiques, la radiothérapie, initialement très prisée, fait place à l'association d'un traitement local et systématique de la tumeur, faisant appel respectivement à la chirurgie et à la chimiothérapie, sans oublier l'émergence de nouvelles thérapies ciblées qui accompagnent les récents découvertes des mécanismes biomoléculaires de cette tumeur.

L'objectif du travail que nous avons entrepris est d'étudier les aspects cliniques, anatomopathologiques et d'établir un lien entre le degré de différenciation et l'expression de CD99, NSE, Chromogranine et la Vimentine dans le sarcome d'Ewing à travers une étude rétrospective s'étalant entre 2005-2013.

I-1- Définition

Le SE est défini par l'OMS comme une famille des sarcomes à petite cellules rondes présentant un degré variable de différenciation neurectodermale, le terme du sarcome d'Ewing est employé pour les tumeurs sans évidence de différenciation neurectodermique établie en microscope optique, d'Immunohistochimie ou en biologie moléculaire.

La définition incluse actuellement la translocation pathogénomique du gène EWSR1 en situation 22q11.

La tumeur d'Ewing occupe la deuxième place des tumeurs malignes osseuses primitives chez l'enfants après l'ostéosarcome (Maheshwari *et al*, 2010).

I-2-Historique

Le SE a été décrit pour la première fois par James Ewing en 1921 sous le vocable endothélium diffus de l'os.

De nombreuses théories ont été émises concernant l'étiologie de cette tumeur. L'origine de cette tumeur n'est pas encore clairement établie, les deux principales théories suggèrent que ces tumeurs sont issues de cellules primaires provenant soit de la crête neurale soit de cellules souches présentes dans le corps et appelées cellules souches mésenchymateuses, ces cellules ont un large spectre de différenciation.

➤ famille de tumeurs d'Ewing

La famille des tumeurs d'Ewing est maintenant considérée comme des tumeurs neuroectodermiques regroupant :

- Le sarcome d'Ewing typique ou atypique (à grandes cellules)
- Les tumeurs d'Ewing à localisations extra-osseuses
- Le PNET (Peripheral Primitive NeuroEctodermal Tumor)
- La tumeur d'Askin, n'étant qu'une variante topographique (paroi thoracique) de PNET (Burchill *et al*, 2003 ; Aurias *et al*, 2009 et Whang-Peng *et al*, 2009).

I-3-Epidémiologie

Le SE est une tumeur rare avec une incidence de 3cas/1million, représente 6-8% des tumeurs osseuses chez les enfants, survenant le plus souvent dans la seconde décennie de la vie, rare avant 5 ans et après 30 ans. Il existe une prédominance masculine avec 1,2 à 1,5 garçons pour 1 fille (D'Andon *et al*, 2004).

Dans 90% des cas, les Sarcomes d'Ewing sont rencontrés chez des patients dont l'âge est compris entre 5 et 25 ans. Au delà de 25 ans ce type de tumeur est extrêmement rare.

Environ 25 % des Sarcomes d'Ewing surviennent avant l'âge de 10 ans, alors que 65 % surviennent entre 10 et 20 ans. Environ 10% des patients ont plus de 20 ans au moment du diagnostic. Le SE touche principalement les sujets de race caucasienne avec une incidence 6 fois plus élevée que chez leurs homologues de peau noire (D'Andon *et al*, 2004).

I-4-Etiologie

L'étiologie précise du S.E n'est pas encore connue avec certitude, mais il existe certainement des facteurs héréditaires, puisqu'il touche préférentiellement les sujets d'origine caucasienne qui représentent environ 96% des cas et qu'il est exceptionnel chez les sujets d'origine africaine ou afro-américaine (18%) ou d'autres origines (22%) (Jawad *et al*, 2009). Des formes familiales ont été décrites ce qui peut appuyer l'hypothèse d'une prédisposition génétique, mais aussi environnementale, notamment chez les fermiers américains ou australiens.

Actuellement on pense que le S.E aurait plutôt pour origine les CSM et que la protéine de fusion EWS-FLI1 qui serait responsable de la différenciation des CSM en cellules de S.E qui ont des caractéristiques phénotypiques de cellule de la crête neurale (Riggi *et al*, 2010).

I-5-Génétique

Dans 85% des cas de sarcome d'Ewing, est retrouvée la translocation chromosomique réciproque t (11;22)(q24;q12) (Delattre, 2008 ; Ross *et al*, 2013). La partie 5' du gène EWS porté par le chromosome 22 et la partie 3' du gène FLI1, membre de la famille ETS, porté par le chromosome 11 fusionnent et forment le gène EWS/FLI1 (Voir Figure1).

Cette translocation est spécifique pour ces tumeurs et elle est actuellement la base de leur définition. Elle a de plus fourni un nouvel outil diagnostique et aussi probablement pronostique s'ajoutant à l'imagerie et à l'examen histologique.

Le gène de fusion EWS/FLI1, ainsi obtenu, hérite des caractéristiques des gènes EWS et FLI1.

Le gène EWS code pour la protéine EWS dont la fonction n'est pas parfaitement connue. Cependant deux régions de la protéine contribuant à sa fonction, ont été identifiées.

La première région correspond à un domaine d'activation de transcription. La seconde permet à la protéine de se lier à l'ARN (*RNA-binding domain*).

Le gène FLI1 code pour un facteur de transcription : la protéine FLI1. Celle-ci est capable d'inhiber ou d'activer la transcription de gènes cibles. Les protéines codées par les gènes

régulés par FLI1 sont impliquées dans le contrôle de plusieurs fonctions cellulaires importantes : régulation du cycle cellulaire, signalisation cellulaire, différenciation cellulaire ou encore apoptose (Bertolotti *et al*, 1998).

Dans la fusion, les gènes EWS et FLI1 apportent respectivement un domaine d'activation transcriptionnelle TAD et un domaine de liaison à l'ADN, DBD (Voir Figure 2) (Toomey *et al*, 2010). Ainsi la protéine chimérique EWS-FLI1 résultant de la translocation t(11;22) exerce son action oncogénique en se comportant comme un facteur de transcription qui régule de façon anarchique l'expression de gènes cibles intervenant dans la régulation du cycle cellulaire, les voies de signalisation (voies du TGF β , de l'IGF1) et le développement tumoral (gène NKX2-2, gène DAX).

EWS-FLI-1 est un facteur de transcription aberrant capable d'activer ou d'inhiber, directement ou indirectement, la transcription de certains gènes, deux effets essentiels dans la tumorigénèse du S.E (Voir tableau 1, ANNEXE II) (Mackintosh *et al*, 2010).

Par ailleurs, l'association EWS-ETS confère aux domaines activateurs de ce facteur de transcription une capacité accrue à activer les gènes cibles en comparaison des domaines présents sur le facteur de la famille ETS naïfs (Jürgens *et al*, 2014). De nombreux gènes cibles de l'activation par EWS-FLI-1 ont été identifiés dans les cellules de S.E et dans les progéniteurs mésenchymateux à l'origine de la pathologie incluant IGF-1 et le co-régulateur de transcription NROB1 (Grier *et al*, 2003; Saylor *et al*, 2005). Cette activation de gène se fait non seulement par l'intermédiaire des mêmes sites que ceux des facteurs de transcription ETS naïfs mais également par l'intermédiaire de sites dans le promoteur contenant des répétitions GGAA (Saylor *et al*, 2001).

L'importance de la répression de transcription par EWS-FLI-1 a été montré plus récemment. EWS-FLI-1 va induire une activation très forte de la transcription des gènes NK_x2.2 et NROB1 est indispensable à la transformation des cellules de S.E.

La protéine EWS-FLI-1 exerce aussi une action oncogénique en induisant une inhibition de l'expression de l'IGF-BP-3. Ainsi, au moment de la croissance chez les adolescents, les cellules normales sont soumises à une intense signalisation par l'hormone de croissance et notamment par l'IGF-1, ce dernier pouvant être inhibé par l'IGFBP-3. En conséquence, le facteur de croissance IGF-1 n'est plus inhibé et peut alors transmettre en continu un signal ordonnant aux cellules de proliférer de manière anarchique (Bernstein *et al*, 2006).

L'IGFBP-3, impliqué en amont dans cette voie de signalisation, pourrait par ailleurs servir de cible thérapeutique pour bloquer la prolifération cellulaire anormale induite par l'IGF-1.

EWS-FLI1 inhibe la différenciation ostéoblastique par sa fixation à RUNX2 et inhibe la différenciation chondrocytaire et adipocytaire et myocéaire. EWS-FLI1 maintien sur un statut souche mésenchymateux notamment via EZH2. EWS-FLI1 participe également au phénotype peu différencié des cellules de SE en régulant des gènes critiques du développement de la crête neural.

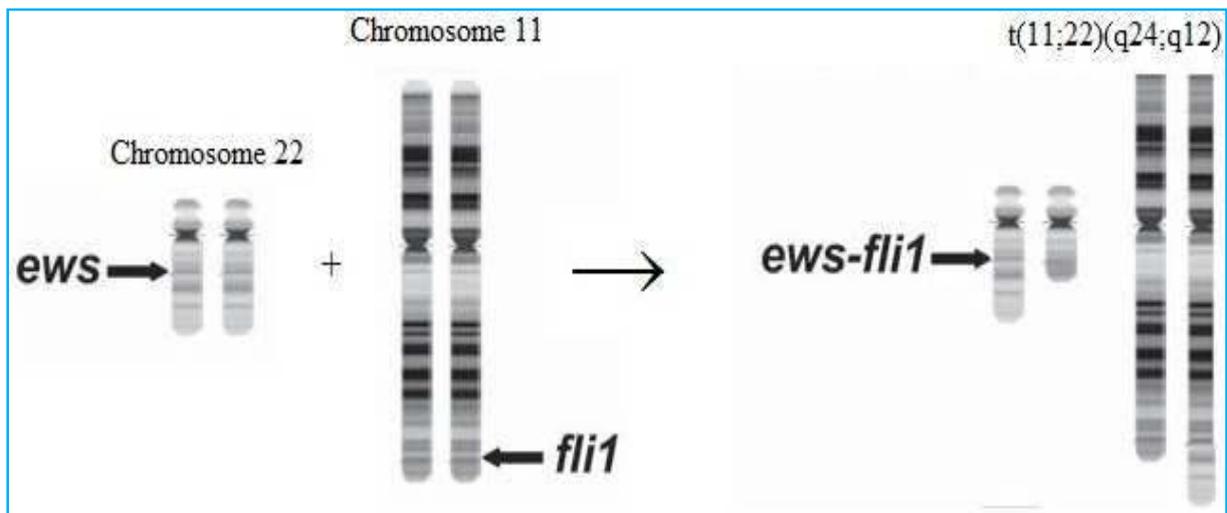


Figure 1 : Translocation réciproque t (11;22) (q24;12)
D'après : *Bernstein et al, 2006*



Figure 2 : Gène de fusion EWS/FLI1
D'après : *Toomey et al, 2010*

▪ **Autres translocations**

D'autres translocations ont aussi été mises en évidence. Elles impliquent le gène EWS avec un autre membre de la famille ETS : ERG porté par le chromosome 21, ETV1, E1AF porté par le chromosome 17 ou FEV. Ces fusions géniques sont plus rarement retrouvées. Ainsi, la translocation t(21;22)(q22;q12) n'est mise en évidence que dans 10% des cas (Blau et al, 2012).

Il existe aussi d'autres translocations n'impliquant pas le gène EWS ; comme la translocation t(16;21)(p11;q22) dont la fréquence est inférieure à 1 % (Voir tableau 2, ANNEXE II).

A l'heure actuelle, une translocation impliquant le gène EWS est considérée comme pathognomonique du sarcome d'Ewing et c'est sa mise en évidence qui permet d'établir le diagnostic définitif de sarcome d'Ewing.

Translocation	Gène de fusion	Fréquence (%)
t(11;22)(q24;q12)	FLI1-EWS	85
t(21;22)(q22;q12)	ERG-EWS	10
t(7;22)(p22;q12)	ETV1-EWS	<1
t(17;22)(q12;q12)	E1AF-EWS	<1
t(2;22)(q33;q12)	FEV-EWS	<1
t(16;21)(p11;q22)	TLS-ERG	<1

Tableau II : Translocations chromosomiques observées dans le sarcome d'Ewing

D'après: *Blau et al, 2001*

I-6-Classification histologique des STM selon L’OMS 2013 (Voir tableau III)

La classification référence est la classification de l’OMS 2013 présentée par le tableau III, qui reprend les types des sarcomes des tissus mous et des tumeurs à malignité intermédiaire rarement métastatique.

Ligne de différenciation	Tumeurs à malignité Intermédiaire (rarement métastatisantes)	Tumeurs malignes
Tumeurs adipeuses	*Tumeur lipomateuse atypique *Liposarcome bien différencié	*Liposarcome dédifférencié *Liposarcome myxoïde *Liposarcome à cellules rondes *Liposarcome pléomorphe *Liposarcome mixte *Liposarcome (sans autre spécification)
Tumeurs fibroblastiques myofibroblastiques	*Tumeur fibreuse solitaire *Hémangiopéricytome *Tumeurs myofibroblastique inflammatoire *Sarcome myélofibroblastique de faible grade *Sarcome fibroblastique myxo-inflammatoire *Fibrosarcome infantile	*Fibrosarcome de type adulte *Myxofibrosarcome *Sarcome fibromyxoïde de faible grade Et tumeur hyalinisante à cellules fusiformes *Fibrosarcome épithélioïde sclérosant
Tumeurs dites fibrohistiocytaires	*Tumeur fibrohistiocyttaire plexiforme *Tumeur à cellules géantes des tissus mous	*Sarcome indifférencié pléomorphe (« MFH pléomorphe ») *Sarcome indifférencié pléomorphe à cellules géantes (« MFH à cellules géantes ») *Sarcome indifférencié pléomorphe inflammatoire (« MFH inflammatoire »)
Tumeurs du muscle lisse		*Léiomyosarcome
Tumeurs péricytaires (périvasculaires)		*Tumeur glomique maligne
Tumeurs du muscle strié		*Rhabdomyosarcome embryonnaire (y compris à cellules fusiformes, botryoïde, anaplasique) *Rhabdomyosarcome alvéolaire (y compris solide, anaplasique) *Rhabdomyosarcome pléomorphe
Tumeurs vasculaires	*Hémangioendothéliome rétifforme *Angioendothéliome papillaire *Hémangioendothéliome composite *Sarcome de kaposi	*Hémangioendothéliome épithélioïde *Angiosarcome
Tumeurs chondro- osseuses		* Chondrosarcome mésenchymateux * Ostéosarcome extrasquelettique *Sarcome synovial *Sarcome épithélioïde *Sarcome alvéolaire des parties molles *Sarcome à cellules claires des tissus mous *PNEI (tumeur périphérique neuroectodermique) *Tumeur d'Ewing extrasquelettique *Tumeur desmoplastique à cellules rondes *Tumeur rhabdoïde extra-rénale *Mésenchymome malin *Tumeurs à différenciation périvasculaire épithélioïde (PECome) *Sarcome intimal
Tumeurs à différenciation incertaine	*Histicytofibrome angiomatoïde *Tumeur fibromyxoïde ossifiante *Tumeur mixte- myoépithéliome- parachondrome	

Tableau III : classification histologique des STM selon L'OMS 2013

I-7-Localisations

I-7-1-Localisations osseuses

Le S.E peut atteindre tous les os du squelette avec une légère préférence pour les os longs (50 à 60%) et les membres inférieurs. Le fémur est atteint dans environ 15 à 27 % des cas, puis le tibia, l'humérus et le péroné.

Les os plats sont des localisations fréquentes, principalement le bassin (26% des cas), puis plus rarement les côtes (troisième localisation en fréquence), lomoplate ou les vertèbres.

Les os du crâne, l'os frontal ou le pariétal semblent plus souvent atteints que la mandibule, le maxillaire ou la base du crâne (Voir figure 3) (Huvos, 1991 et Bernstein *et al*, 2006).

Le S.E est le plus souvent localisé dans la zone diaphyse des os longs que les autres tumeurs osseuses primitives avant fermeture du cartilage de croissance, l'atteinte épiphysaire est exceptionnelle (Voir figure 4) (Marieb, 2000 et Muscolo *et al*, 2003).

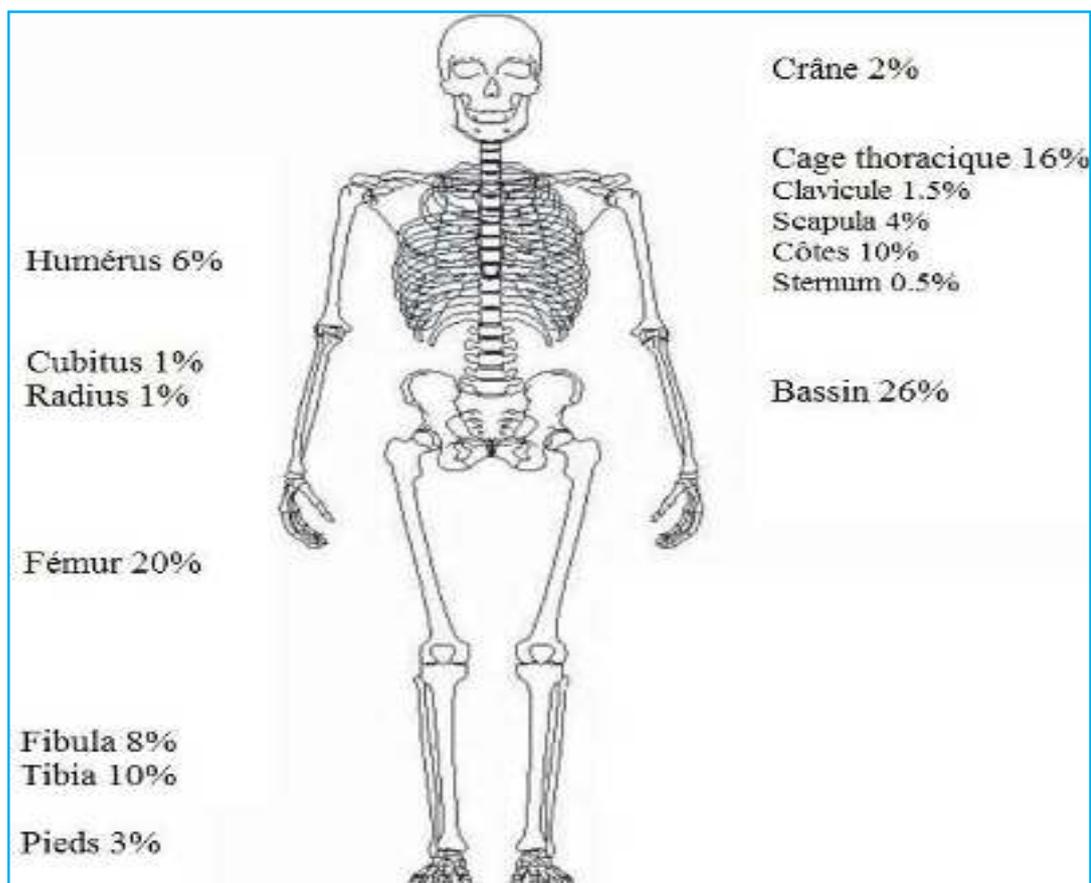


Figure 3 : Localisation de sarcome d'Ewing sur le squelette

D'après : Bernstein *et al*, 2006

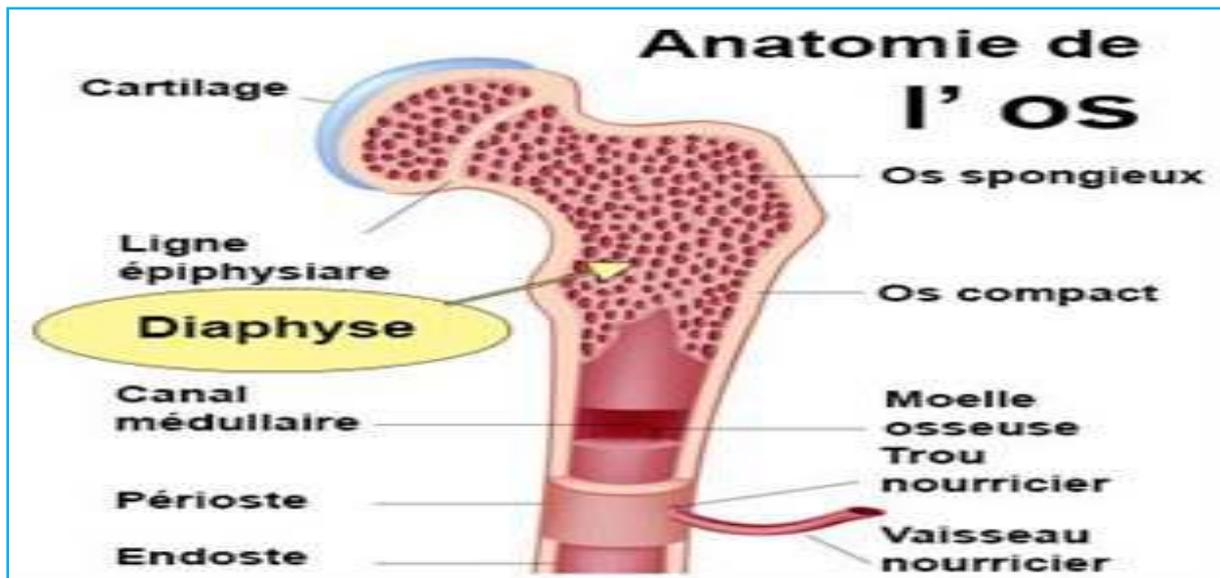


Figure 4 : Localisation de sarcome d'Ewing sur l'os

D'après : *Merieb, 2000*

I-7-2-Localisations extra-osseuses

Le SE se développe également au niveau extra squelettique : les parties molles, rétropéritoniane, le système nerveux central, les voies urinaires, les ovaires, les testicules, le pancréas, la vésicule biliaire, ainsi que dans la peau Applebaum *et al*, 2011).

1-8-Aspect macroscopique

La tumeur ne comporte pas la bonne délimitation de l'ostéosarcome mais possède des contours irréguliers et des limites très imprécises. Elle se présente comme une masse blanc-grisâtre, molles, luisante, prenant dans les secteurs nécrotiques une consistance liquide, voire laiteuse (Mazabraud, 1994).

Le S.E infiltre diffusément l'os, s'insinuant entre les travées osseuses, pénétrant la corticale au travers des canaux de Havers en détruisant peu ou pas les structures osseuses, lui conférant le nom «le passe muraille» (Mazabraud, 1994).

I-9-Aspects histopathologiques

Forme typique : Le SE est dans sa forme classique, constitué de petites cellules tumorales agencées en larges travées séparés par un abondant tissu fibreux.

Les cellules sont monotones, arrondies, mesurant 12 à 15 micromètre, avec un rapport nucléocytoplasmique élevé. Elles ont également un aspect basophile, d'architecture plus ou moins lobulée, dense, d'aspect uniforme, l'arrangement est circulaire autour d'une formation vasculaire en pseudo-rosettes. Les noyaux sont relativement à membrane nucléaire cernée, à chromatine finement granitée homogène enfermant un petit nucléole. Les cytoplasmes sont pales, mal limités, peu abondants (Mazabraud, 1994).

Forme atypique : Comparé à la forme classique, le SE atypique présente des cellules tumorales plus volumineuses, aux noyaux irréguliers en forme et en taille, à chromatine plus dense, à cytoplasme abondant et bien limité. Cet aspect trompeur fait que le danger est de ne pas reconnaître cette tumeur comme un SE. Sa présentation clinique et son pronostic sont similaires à la forme typique. L'étude immunohistochimique est déterminante pour éliminer les diagnostics différentiels mais c'est souvent l'analyse biologique qui apporte la confirmation (Mazabraud, 1994).

I-10-Diagnostics

I-10-1-Diagnostic clinique

- **Signes d'appel**

Il n'existe pas de symptômes spécifiques à la tumeur d'Ewing. Les symptômes sont uniquement révélateurs et vont constituer un motif de consultation souvent tardif.

Sont essentiellement décrits la douleur et le syndrome de masse, les fractures pathologiques sont rares, en général la tumeur est de croissance rapide, profonde de 5 à 10 cm.

I-10-2-Diagnostic radiologique

- **Radiologie standard**

Elle permet l'analyse de la lésion osseuse et plus précisément :

-Sa situation : épiphysaire, métaphysaire ou diaphysaire.

-La réaction de l'os vis à vis de la lésion : ostéolyse sous forme de lacune à contours flous ou nets, rehaussés ou non d'une condensation périphérique ; ostéocondensation (minéralisation du stroma tumoral) classification nuageuse (évoquant un stroma cartilagineux).

-La réaction périostée : en strates parallèles (bulbe 'oignon), spicule (feu d'herbe), sous forme d'éperon (triangle de codman correspondant à une apposition périostée interrompue par la croissance tumorale rapide) (Simon, 2006).

- **Imagerie par résonnance magnétique (IRM)**

C'est un examen aujourd'hui quasiment obligatoire pour toute tumeur suspecte de malignité. Pour l'os, elle permet de cerner les relations de la tumeur avec le cartilage de croissance et le canal médullaire. Sous l'influence du traitement chimio thérapeutique préopératoire, elle permet enfin de juger de la diminution du volume tumoral, ou de son extension (Camara, 2006).

- **Tomodensitométrie (TDM)**

La TDM est l'examen clé pour évaluer la matrice tumorale d'une lésion, en particulier à la recherche de calcifications mais il ne s'agit pas du meilleur examen pour évaluer l'atteinte des os longs périphériques. En effet, du fait de l'absence de calcification dans le cas du sarcome d'Ewing, l'envahissement intra médullaire et des parties molles est mal précisé par cet examen. Dans ce cas, l'IRM lui sera nécessaire.

Enfin la TDM thoracique constitue le *gold standard* de l'exploration du parenchyme pulmonaire à la recherche de localisations secondaires de la tumeur d'Ewing dès le diagnostic mais aussi au cours de la surveillance, pendant et à distance du traitement (Leflot *et al*, 2005).

I-10-3-Examen Anatomopathologique

- **La biopsie**

La biopsie osseuse chirurgicale permet le diagnostic histologique (D'Andon *et al*, 2004). C'est un acte chirurgical de première importance qui doit être exécuté et réussi du premier coup car tout programme thérapeutique en dépend (Camara, 2006).

De ce fait on distingue :

- La biopsie à l'aiguille fine : elle donne des prélèvements pour la cytologie, n'est réalisable que lorsque la tumeur est molle.
- La biopsie au trocart : utile partout, mais principalement au niveau du rachis.
- La biopsie à ciel ouvert : c'est finalement la plus fréquemment utilisée, surtout lorsque les anatomopathologistes la réclament pour obtenir une qualité de tissu tumoral bien interprétable (Camara, 2006).

- **Immuno-histochimie**

L'analyse immuno-histochimique a deux fonctions principales :

Elle permet d'écarter certains diagnostics différentiels et d'apporter des éléments positifs en faveur du diagnostic du SE.

Dans certains cas de SE ont été observées des expressions aberrantes de marqueurs comme la cytokératine (20%) ou la desmine (2%). Ces expressions sont généralement focales, peu intenses et ne doivent pas induire d'erreur dans la démarche diagnostique en IHC (Gu *et al*, 2000).

En termes d'éléments positifs en faveur du diagnostic de sarcome d'Ewing, doit être citée la protéine p30/32 ou CD99. Cette glycoprotéine est surexprimée dans la tumeur d'Ewing (87 à 100 % des cas) (Ambros *et al*, 2006).

- **la protéine CD99**

La protéine CD99 (Cluster de différenciation 99) également connue sous le nom de P30/32 est une glycoprotéine transmembranaire de 32 kD, codée par le gène MIC2, localisé dans la région pseudoautosomale des chromosomes X et Y humains.

Le gène MIC2 est régulé par le gène réticulé XG, ce qui entraîne un polymorphisme quantitatif pour des niveaux de produit du gène MIC2 (Fellinger *et al*, 2009), code pour deux protéines distinctes produites par épissage alternatif de l'ARNm de CD99 et identifiées par des bandes de 30 et 32 kDa (p30/32). Bien que le rôle fonctionnel de CD99 n'est pas entièrement compris, dans les cellules normales CD99 est communément associée aux cellules lymphoïdes et semble jouer un rôle dans la transmission des leucocytes à travers l'endothélium. Ainsi que dans l'adhésion cellulaire, la migration, l'apoptose, la différenciation, l'activation et la prolifération des lymphocytes et une extravasation, l'agrégation homotypique des lymphocytes T, la régulation à la hausse des récepteurs des lymphocytes T et des molécules du CMH, l'apoptose des thymocytes immatures et la diapédèse des leucocytes (Byun *et al*, 2006). En conditions pathologiques, le rôle de CD99 n'a pas été complètement élucidé. L'expression de CD99 conduit à l'induction de l'adhérence cellule-cellule et de l'apoptose (Scotlandi *et al*, 2010).

La CD99 est exprimée dans la plupart des tissus humains, dont les thymocytes corticaux, les cellules des îlots de Langerhans du pancréas, les cellules de Leydig et de Sertoli, virtuellement tous les types cellulaires hématopoïétiques (sauf les granulocytes), les lymphocytes du sang périphérique, les cellules granuleuses de l'ovaire, les cellules

endothéliales et les cellules épithéliales squameuses basales et parabasales. Ainsi que dans différentes tumeurs comme certains carcinomes, léiomyosarcome, Sarcome ténosynoviaux, séminomes, tératomes, épondyomome, ect. Si initialement les PNET étaient les unes des seules tumeurs de groupes des lésions à petites cellules rondes à l'exprimer de façon intense et diffuse (Fellinger *et al*, 2009). Progressivement d'autres tumeurs de ce groupe ont été identifiées avec une forte expression pour la protéine CD99 comme le lymphome lymphoblastique, le chondrosarcome mésenchymateux, l'ostéosarcome à petites cellules, le rhabdomyosarcome alvéolaire et embryonnaire, le carcinome de Merkel, ce qui réduit la spécificité de cet anticorps.

I-10-4-Cytogénétique et biologie moléculaire

La biologie moléculaire est un élément essentiel au diagnostic car elle va permettre de mettre en évidence une translocation chromosomique spécifique de la tumeur d'Ewing.

La recherche du transcrite de fusion, par analyse des bandes chromosomiques, peut être réalisée par Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR), par Fluorescent In Situ Hybridization (FISH) (Voir figure 5) ou par l'association de ces deux techniques.

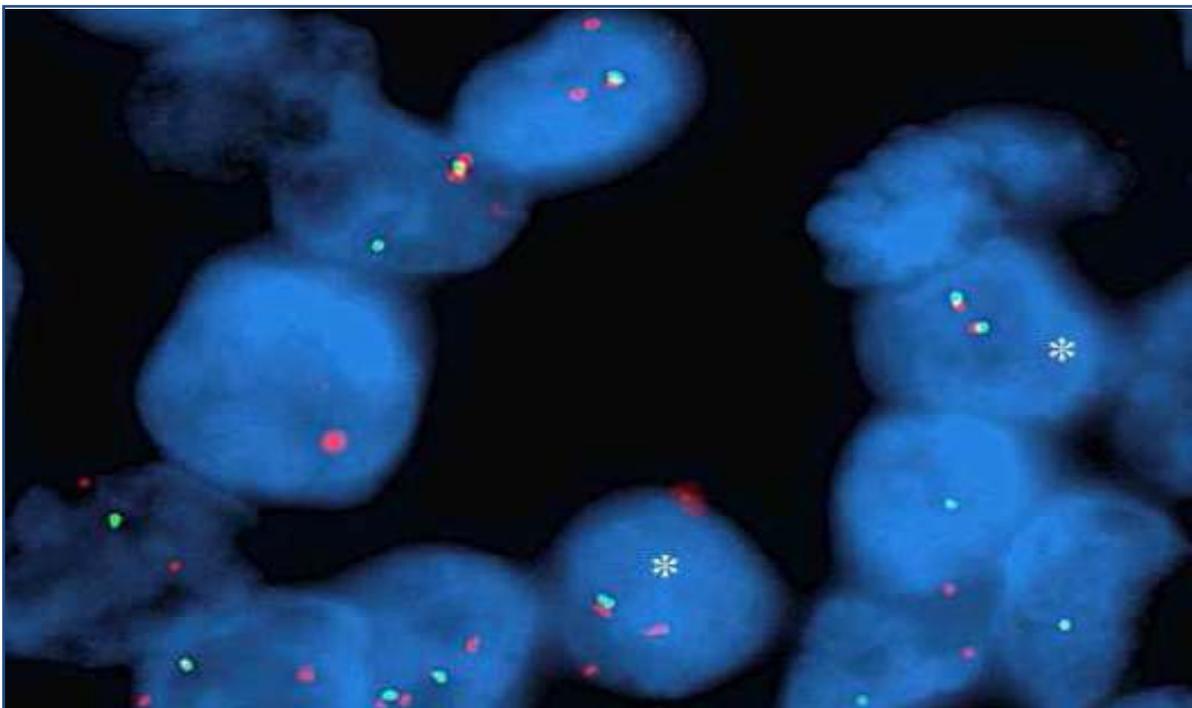


Figure 5 : Caractéristiques d'une tumeur d'Ewing par Immunomarquage en FISH
D'après : Mascard *et al*, 2012.

I-11- Voies de signalisation

I-11-1-La voie de signalisation de l'IGF1

La voie du récepteur de facteur de croissance de type insuline (IGF-1R) est impliquée dans la prolifération tumorale et la résistance à l'apoptose dans plusieurs types tumoraux comme le cancer du sein ou les S.E.

Son gène localisé sur le chromosome 15, contient 21 exons et une forte homologie avec le gène du récepteur de l'insuline. L'IGF-1R est constitué de deux sous unités α extracellulaires, où siège le site de liaison des ligands IGF-1 de forte affinité, IGF-2 est l'insuline de moindre affinité, et deux sous unités β qui correspondent aux parties transmembranaire et intracellulaire et portent l'activité tyrosine kinase (Libbey, 2010).

Après glycosylation et tétramérisation, la configuration finale du récepteur est donc $\alpha_2\beta_2$.

L'activité du récepteur de l'IGF-1 est contrôlée par ses ligands présents dans la circulation ou sécrétés de façon autocrine et paracrine, mais aussi par les IGF-BP. En effet, ces protéines ont un rôle complexe, activateur ou inhibiteur du récepteur de l'IGF-1 et IGF-2. La fixation de l'IGF-1 sur son récepteur conduit à l'activation de plusieurs voies de signalisation dont les voies PI3K/AKT et RAS/MAPK (Voir Figure 6).

L'activité biologique du récepteur de l'IGF-1 contrôle positivement la prolifération, la différenciation et la survie cellulaire, module l'adhésion et donc la migration cellulaire.

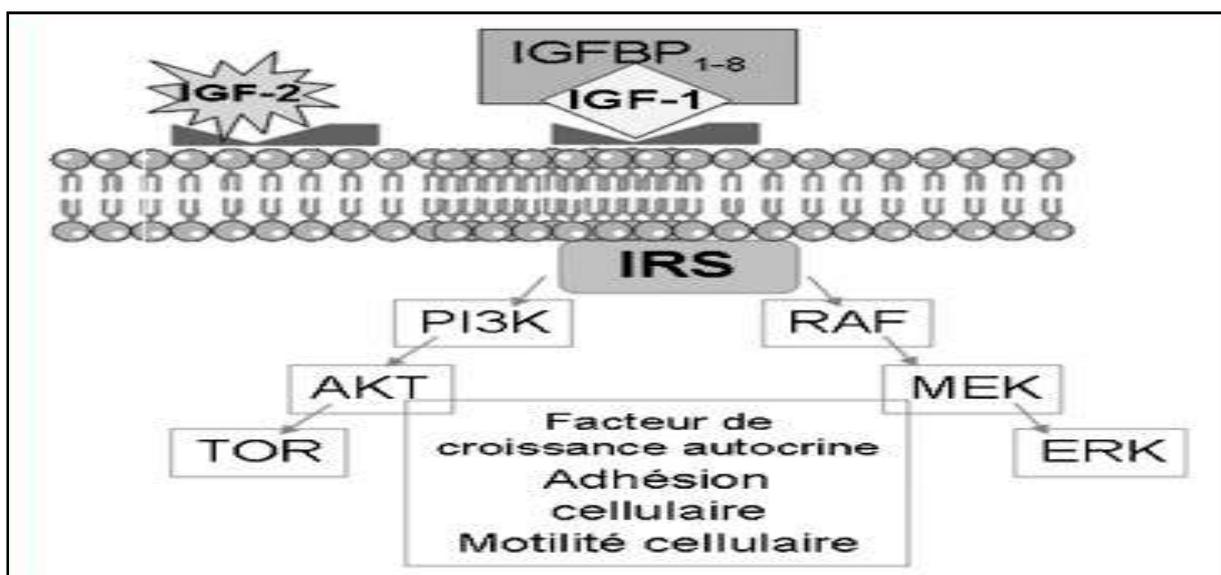


Figure 6 : La voie de signalisation de l'IGF1

▪ Rôle du récepteur de l'IGF-1 dans l'oncogénèse

Le récepteur de l'IGF-1(IGF-1R) fait partie de la famille des récepteurs transmembranaires à activité tyrosine kinase.

L'ARN messenger (ARN_m) du récepteur de l'IGF-1 est présent en faible abondance de façon ubiquitaire dès le stade embryonnaire, hormis dans les hépatocytes et les lymphocytes B. Cependant le niveau d'expression d'IGF-1 est augmenté dans de nombreux cancers (Libbey, 2010).

Par ailleurs, la surveillance pendant l'adolescence des S.E pourrait être expliquée par le rôle du gène de fusion EWS/FLI-1 dans l'activation de la voie de signalisation de l'IGF-1, particulièrement active à cette période de la vie. En effet, l'équipe de Delattre a montré que le gène de fusion EWS/FLI-1 réprime l'expression d'IGF-BP3, l'un des régulateurs négatifs d'IGF-1, ce qui aboutit à l'activation permanente de la voie IGF-1R ordonnant aux cellules d'Ewing de proliférer (Libbey, 2010) (Voir Figure 7).

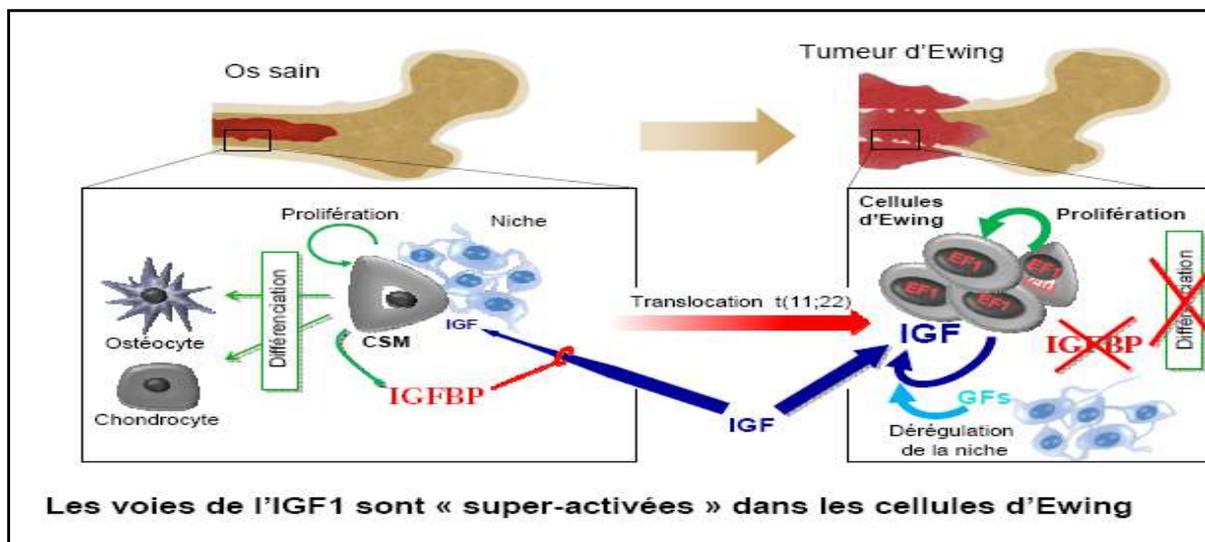


Figure 7 : Développement des tumeurs d'Ewing6

D'après : Delattre et al, 2007

I-11-2-La voie de signalisation du TGFβ

Les membres de la famille de TGFβ sont exprimés dans la majorité des cellules et sont caractérisés par la présence de six cystéines conservées (Shian et al, 2003). Ces cystéines jouent des rôles cruciaux dans le développement et dans l'homéostasie tissulaire. les

dérégulations des voies de signalisation de ces protéines sont associées à de nombreux troubles du développement et à divers maladies comme le cancer (Horbelt *et al*, 2012).

Un ligand de la famille du TGF β se lie sur un récepteur dimérique de type I et II à activité Sérine/Thréonine kinase induisant ainsi la formation d'un complexe tétramérique. Cette liaison va induire une signalisation par l'activation des protéines S-mad par phosphorylation, le complexe de R-Smad est alors transloqué dans le noyau où il régule l'expression de nombreux gènes cibles (Voir Figure 8).

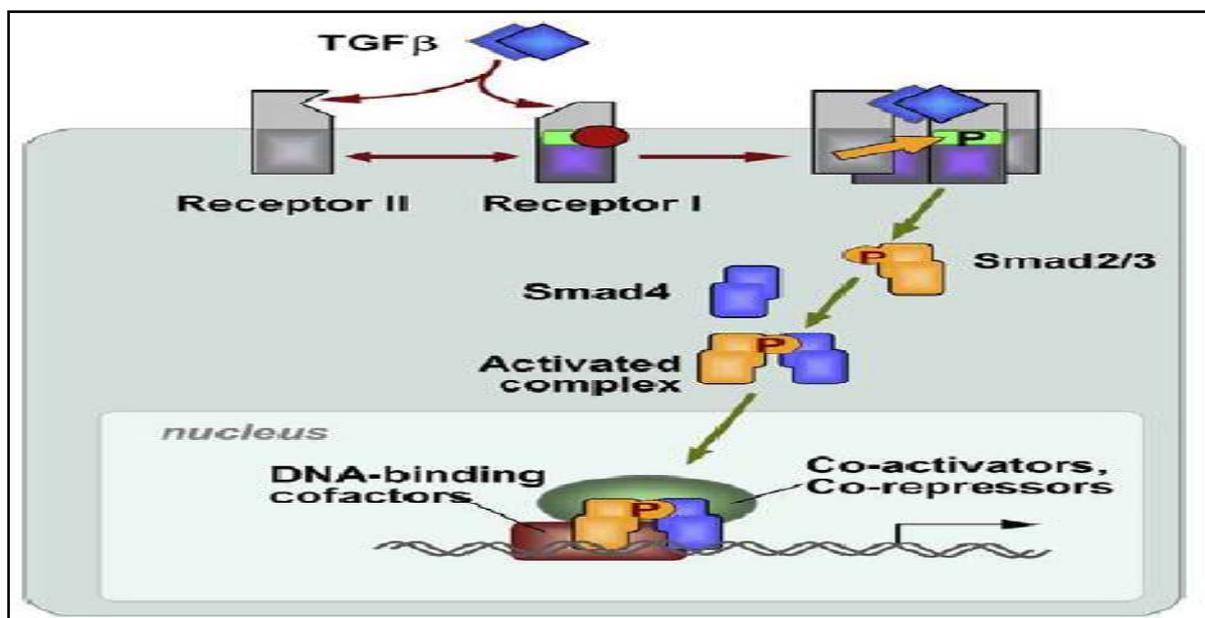


Figure 8 : La voie de signalisation de TGF- β

D'après : *Massague et al, FEBS, 2006*

▪ La voie TGF- β et le sarcome d'Ewing

Dans le sarcome d'Ewing, La translocation chromosomique du gène EWS et FLI1 code pour d'autres facteurs de transcription ETS (qui lient l'ADN à travers le domaine ETS conservé) qui régulent l'expression de TGF- β R. Introduction d'EWS-FLI1 dans des cellules dépourvues de la fusion EWS-FLI1 supprime l'expression de TGF- β R, alors que dans des lignées cellulaires de ES dépourvues de la fusion EWS-FLI1 restaure l'expression de TGF- β R. En outre, l'introduction de TGF- β R normale dans des lignées cellulaires de SE restaure la sensibilité du TGF- β et bloque la tumorigénicité. Ces résultats impliquent TGF- β R comme une cible directe d'EWS-FLI1 (Hahm *et al*, 1999).

▪ Les effets anti-tumoraux du TGF- β

Le TGF β exerce son action anti-tumoral sur les cellules saines et sur les cellules pré malignes. Dans les cellules saines le TGF β inhibe la prolifération cellulaire et induit l'apoptose, inhibant ainsi le processus de cancérisation (Heldin *et al*, 2009). Il conduit à un arrêt de cycle cellulaire en phase G1 et pouvant aller jusqu'à l'induction d'une mort cellulaire programmée, le TGF β régule l'expression de nombreux gènes anti-apoptotiques et pro-apoptotiques.

Au fur et à mesure du développement tumoral des changements génétiques et épigénétiques ont lieu dans la cellule et conduisent au basculement de la réponse au TGF β , de l'inhibition de prolifération et à l'induction de croissance et d'invasion (Voir Figure 9).

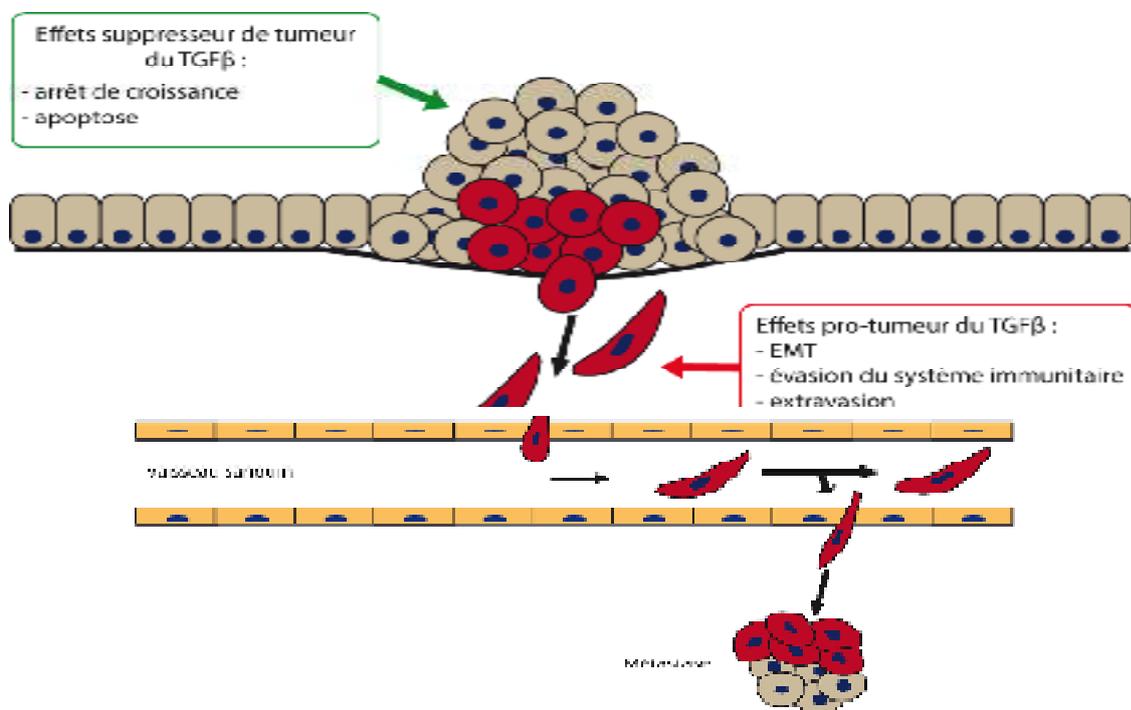


Figure 9 : Impact de l'IGF β dans le processus de cancérisation

D'après : *Heldin et al*, 2009

I-11-3-La protéine P21 et le sarcome d'Ewing

La protéine p21 appartient à la famille des inhibiteurs des kinases dépendantes des cyclines (CDK) (Borgne *et al*, 1999) et est indispensable à l'arrêt du cycle cellulaire au point de contrôle G1 en réponse à des lésions de l'ADN (Deng *et al*, 2014). Elle inhibe en effet la progression du cycle cellulaire en se liant, par son domaine amino-terminal, aux complexes cycline-CDK de la phase G1 et, par son domaine carboxy-terminal, à l'antigène nucléaire

PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen), bloquant ainsi l'activation de l'ADN polymérase (Cayro *et al*, 1997 et Chen *et al*, 2003). Des études plus récentes ont montré que, parallèlement à cette action antiproliférative, p21 exerce aussi une action anti-apoptotique.

Ainsi, dans les cellules cancéreuses comme dans les cellules normales, la réponse cellulaire aux rayons X ou aux agents anticancéreux dépend de l'expression ou de l'absence d'expression de p21: si le gène codant pour p21 est normalement exprimé, on observe un arrêt du cycle cellulaire, tandis qu'après invalidation de ce gène, les cellules entrent en apoptose (Waldman *et al*, 2010). L'absence d'expression de p21 augmente aussi la sensibilité des cellules à l'apoptose induite par les agents qui désorganisent les microtubules (Stewart *et al*, 2012).

Dans une étude récente faite à partir de cellules de sarcome d'Ewing, nous avons observé que p21 s'oppose à l'apoptose induite par le TNF α (tumor necrosis factor α) (Javelau *et al*, 2000). Dans ces cellules, le TNF α active NF- κ B et inhibe l'expression de p21, l'inhibition constitutive de NF- κ B, secondaire à sa séquestration dans le cytoplasme (obtenue par l'expression d'un mutant non dégradable de I κ B α), empêche l'induction de p21 et augmente l'apoptose induite par le TNF α . Quand l'expression de p21 est restituée, on observe, en revanche, une résistance à l'apoptose induite par le TNF α . Ces résultats montrent que p21 est un médiateur de l'action anti-apoptotique de NF- κ B et contribue à la résistance de certains types cellulaires à l'apoptose induite par le TNF α .

Les mécanismes de l'action anti-apoptotique de p21 ne sont pas encore clairement élucidés mais il semble toutefois que la p21 puisse interagir directement avec certains effecteurs de l'apoptose (Voir figure 10).

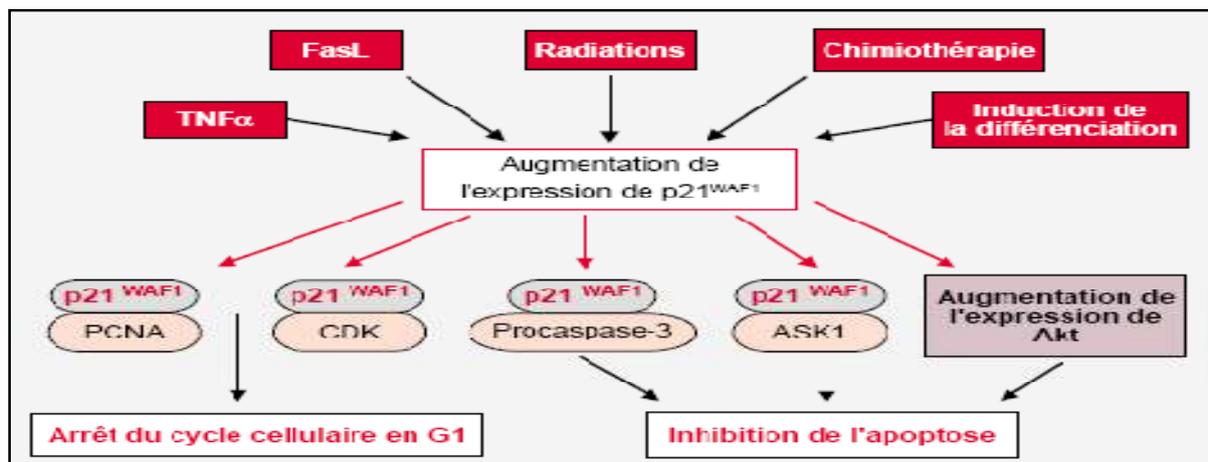


Figure 10 : Mécanismes cellulaires impliqués dans l'action antiproliférative et anti-apoptotique de p21.

I-12- Les facteurs pronostiques**▪ Présence de métastases au moment du diagnostic (20 à 30% des cas)**

Les taux de survie sans récurrence à 5 ans sont respectivement de 78% et 20 à 25 % pour les tumeurs localisées et les tumeurs métastatiques au diagnostic (Baunin *et al*, 2011).

▪ La réponse à la chimiothérapie néoadjuvante

Les taux de survies sans récurrences à 5 ans sont respectivement de 28 % et de 73 % pour les patients dits mauvais répondeurs (> 10% de cellules tumorales résiduelles) et les patients dits bons répondeurs (< 10% de cellules tumorales résiduelles) (Baunin *et al*, 2001).

▪ Le volume tumoral

Est retenu comme facteur pronostique uniquement pour les tumeurs inopérables (Mascard *et al*, 2012)

▪ L'âge du patient au diagnostic

semble être un facteur de mauvais pronostic pour les patients âgés de plus de 15 ans : les taux de survie sans récurrence à 5 ans sont respectivement de 63% et de 52 % pour les patients âgés de moins de 15 ans et les patients âgés de plus de 15 ans (Cotterill *et al*, 2000).

▪ Type de translocation

Comme facteur pronostique n'est pas encore confirmé (Zhao *et al*, 2003).

▪ La sur-expression de la protéine p53

Dans 10 à 15% des cas de sarcome d'Ewing l'expression de la P53 est un facteur de mauvais pronostic (Zhao *et al*, 2003).

I-13-Stratégies thérapeutiques**I-13-1-La chimiothérapie néo-adjuvante****▪ Objectifs de la chimiothérapie néo-adjuvante**

L'objectif de la chimiothérapie néo-adjuvante est double. Tout d'abord, elle permet d'obtenir une régression du volume tumoral initial facilitant ainsi l'exérèse de la tumeur et rendant le geste chirurgical moins mutilant. Ensuite, elle permet d'endiguer le développement des métastases à distance et des micrométastases.

Aussi, cette chimiothérapie première ou per-opératoire permet de déterminer la chimiosensibilité de la tumeur selon deux critères : la réponse clinique et la réponse histologique à la chimiothérapie.

La réponse clinique est basée sur la mesure d'une, deux ou trois dimensions des lésions mesurables. Elle détermine ainsi si la réponse clinique est complète, partielle ou si la maladie est stable ou progressive (Juergens et al, 2006).

La réponse histologique à la chimiothérapie permet de quantifier en pourcentage, le taux de cellules cancéreuses résiduelles viables ou le taux de nécrose cellulaire sur la pièce d'exérèse. Sont ainsi définis des bons répondeurs (< 10 % de cellules viables) et des mauvais répondeurs (\geq 10 % de cellules viables) à la chimiothérapie néoadjuvante (Juergens *et al*, 2006).

▪ **Les différentes molécules utilisées et leur mode d'action :**

Quelque soit le groupe auquel le patient appartient, bon, mauvais ou très mauvais pronostic, les molécules anticancéreuses utilisées lors de la chimiothérapie néoadjuvante sont identiques. Ainsi, chaque patient bénéficie avant tout geste chirurgical, de 6 cures de VIDE : Vincristine, Ifosfamide, Doxorubicine et Etoposide (Juergens *et al*, 2006).

○ **Vincristine**

- Elle appartient à la classe thérapeutique des poisons du fuseau, il s'agit d'un vinca-alcaloïde, alcaloïde naturel ou synthétique de la pervenche.

- Mécanisme d'action : elle se fixe à un constituant des microtubules du cytosquelette : la tubuline. Cette fixation empêche la constitution du fuseau mitotique nécessaire à la migration des chromosomes au cours de la métaphase et de la mitose. Il s'agit donc d'un vrai antimitotique (Juergens et al, 2006).

○ **Ifosfamide**

- C'est un agent alkylant de la classe des moutardes à l'azote.

- Mécanisme d'action : L'ifosfamide agit par interaction directe sur l'ADN en formant par l'intermédiaire de ses radicaux alcoyles des liaisons covalentes avec les substrats nucléophiles. Ces liaisons aboutissent à des modifications chimiques ou enzymatiques de l'ADN, à la formation de ponts alcoyles intrabrin ou interbrins. La transcription et la réplication de l'ADN sont ainsi bloquées et la cellule entre alors en apoptose. L'ifosfamide n'est pas active sur les cellules en phase G0 du cycle cellulaire.

- Précautions d'emploi particulières : l'administration d'ifosfamide doit être associée à une hyperhydratation et à l'administration de Mesna pour prévenir la toxicité vésicale (Juergens *et al*, 2006).

○ **Doxorubicine**

- Elle appartient à la famille des anthracyclines qui sont des inhibiteurs de la topoisomérase-II.

- Mécanisme d'action : plusieurs mécanismes sont décrits :
- l'inhibition de la topoisomérase-II qui empêche le bon déroulement de la double hélice de l'ADN en vue de sa réplication.
- l'intercalation avec les polymérase de l'ADN et de l'ARN.
- la formation de radicaux libres toxiques pour la cellule et en particulier pour les fibres musculaires striées mononucléées du myocarde.

Chaque mécanisme aboutit à la mort cellulaire par apoptose (Juergens *et al*, 2006).

○ **Etoposide**

- C'est un inhibiteur des topoisomérase-II appartenant à la classe chimique des épipodophyllotoxines.
- Mécanisme d'action : l'étoposide induit des lésions de l'ADN dont l'accumulation aboutit à la mort cellulaire par apoptose.

Ces deux types de réponses clinique et histologique à la chimiothérapie première permettent d'apporter un facteur pronostique supplémentaire et surtout d'adapter l'intensité de la thérapeutique (Juergens *et al*, 2006).

I-13-2- Chirurgie carcinologique

La chirurgie est désormais le traitement local de référence de la tumeur d'Ewing. Elle est, sauf cas particulier, programmée 3 semaines après la sixième cure de VIDE de la chimiothérapie d'induction.

▪ **Objectifs de la chirurgie carcinologique**

L'objectif majeur est de réaliser la résection complète de la tumeur en répondant aux impératifs de la chirurgie carcinologique afin d'enlever toutes les cellules tumorales présentes au niveau de la tumeur primitive.

Autre objectif : être conservatrice autant que possible. L'exérèse chirurgicale doit être envisagée selon des principes carcinologiques mais les possibilités de reconstruction et de récupération fonctionnelle futures doivent aussi être envisagées (Baunin *et al*, 2001).

I-13-3-Chimiothérapie adjuvante

▪ **Objectifs de la chimiothérapie adjuvante**

La chimiothérapie adjuvante vise à éliminer les cellules cancéreuses pouvant persister après les phases de chimiothérapie néo-adjuvante et de chirurgie ; ces cellules cancéreuses pourraient par la suite se multiplier et donc former de nouvelles tumeurs.

- **Les différentes molécules utilisées et leurs modes d'action**

Après l'intervention chirurgicale et dès que l'état de cicatrisation le permet, le patient reçoit une première cure de VAI : Vincristine, Actinomycine, Ifosfamide.

- **Actinomycine**

- C'est un antibiotique produit à partir de Streptomyces.

- Mécanisme d'action : l'agent cytotoxique s'intercale entre les bases d'ADN et inhibe les topoisomérases. Elle potentialise aussi les radiations ionisantes (Juergens et al, 2006).

I-13-4- Radiothérapie

La pierre angulaire de la thérapeutique de la tumeur d'Ewing fut initialement la radiothérapie ; en effet James Ewing qui fit la première description de cette tumeur, caractérisa celle-ci par sa grande radiosensibilité. Cependant à l'heure actuelle, suite aux progrès de la chirurgie orthopédique oncologique et à l'émergence de la chimiothérapie, la radiothérapie constitue désormais une alternative thérapeutique et fait place à l'association d'un traitement local chirurgical et d'un traitement systémique basé sur une polychimiothérapie. La radiothérapie compte désormais des indications particulières, elle peut être réalisée en pré ou post-opératoire en complément de la chirurgie ou constituer le traitement local exclusif de la tumeur (Oberlin, 2003).

I-13-5--Immunothérapie

- **Anti IGF1-R**

Des anticorps dirigés contre le récepteur de l'IGF-1 ont également été testés comme traitement potentiel des ESFT avancés (Manara, 2007). Récemment les résultats d'un essai clinique de phase 1 utilisant un anticorps anti IGF-R1 (Figitumumab) ont été rapportés. Deux des seize patients ont répondu au traitement et 8 patients ont eu une stabilisation de la progression tumorale pour 4 mois ou plus. Cet agent et d'autres anticorps similaires sont en cours d'essai (Olmos, 2010).

- **Anti CD99**

Une autre molécule pouvant servir de cible pour le traitement des SE est la CD99. Cette protéine CD99 est exprimée par la plupart des cellules tumorales de sarcomes d'Ewing. Une recherche récente a suggéré que CD99 préviendrait la différenciation neurale des cellules

d'Ewing (Rocchi *et al*, 2010). Des essais ciblant CD99 sont en cours de développement chez l'homme.

- **Thérapies ciblant EWS-FLI1**

De nombreuses études *in vitro* ont montré que l'inhibition d'EWS-FLI1, que ce soit grâce à des oligonucléotides anti-sens de l'ARN interféron ou des dominants négatifs est capable d'induire une inhibition de la croissance des lignées cellulaires de SE. La transposition de ces résultats à la clinique reste problématique en raison de la nécessité de vectoriser ces molécules pour permettre leur entrée dans la cellule. Pour contourner ce problème, il est donc intéressant d'utiliser des molécules chimiques influant sur l'expression d'EWS-FLI1. Ainsi le traitement de cellules de SE par la cytarabine, une molécule chimique capable d'inhiber les effets d'EWS-FLI1 (Kovar *et al*, 1996).

II-1-Matériel

II-1-1-Population d'étude

Notre étude a été réalisée au niveau du service d'Anatomie pathologique au CHU de Mustapha Bacha (Alger). Il s'agit d'une étude rétrospective de 39 cas consécutifs de malades atteints du sarcome d'Ewing colligés sur un intervalle de 9 ans s'étalant entre Janvier 2005 à Décembre 2013.

Les paramètres étudiés sont :

*Age du malade

*Sexe

*Siège

*Diagnostic

Une étude histologique a été réalisée sur 10 patients atteints du sarcome d'Ewing et une étude immunohistochimique sur l'expression de CD99, NSE, Chromogranine et la Vimentine effectuée sur 8 cas atteints par le sarcome d'Ewing.

Tout le matériel, biologique et non biologique nécessaire pour la réalisation de la technique de coloration Hématoxyline Eosine (HE) et l'étude immunohistochimique nous a été aimablement fourni par le personnel du service d'anatomopathologie CHUM.

II-1-2-Matériel non biologique (Voir ANNEXE I)

Appareillage	Matériel et verreries	Réactif	Kit d'immunohistochimie
-Automate à circulation (Leica) -Bain-marie -Distributeur de paraffine (Leica) -Microtome (Leica) -Agitateur magnétique -Etuve -Appareille d'inclusion -Microscope photonique (Leica) -Appareil photo numérique	-Cassette en plastiques -moules en métal -Gants stérilisés - Pincés -Lame d'étalement -Lames silanisées type DAKO -Portes lames -Lamelle -Micropipettes -Chambre humide -Stylo délimitant (DAKO Pen) -Minuterie -Filtres	-Acide nitrique 5% -Xylène(C8H10) -Ethanol à 80%, 90% ,100% -Formol à 10% -Eau distillé, eau de robinet et l'eau oxygénée (H2O2) -Hématoxyline de Harris -éosine	-Solution de PH (9/6) -Eau oxygéné -Solution d'anticorps I aire (spécifique) : -Anticorps anti-CD99 – réf : IS057 -Solution PBS «phosphate Buffered Saline »DAKO Cytomation -réf : S3024, PH=7,4 -Solution de démasquage : TRS «Target Retrieval solution » pH6/9-réf S2369 -Système de révélation : Substrat chromogène DAB (3,3Diaminobenzidine)D AKOCytomation-réf : 3468 -Milieu de montage aqueux : Farmout Aqueux Monting- DAKOCytomation _réf : S3025 -d'anticorps secondaire : Polymérae d'enzyme couplé avec la peroxydase -Hémalin -Ammoniaque

II-2-Méthodes

Au laboratoire, les 39 prélèvements tissulaires fixés au formol tamponné à 10%, sont identifiés grâce à la fiche de renseignement et enregistrés avec attribution d'un numéro d'ordre qui suivra le prélèvement durant toutes les étapes de la technique jusqu'à la rédaction du compte rendu et l'archivage des blocs de paraffines et des lames.

II-2-1-Etude macroscopique

L'examen macroscopique détaillé est une partie essentielle de l'étude d'une pièce opératoire, la pièce est examinée (mesurée, pesée, palpée puis disséquée).

Pour les biopsies : après fixation de 12h à 24h dans le formol 10%, décalcification dans l'acide nitrique (pour les pièces osseuses) et rinçage à l'eau courante, tous les fragments sont mesurés et inclus en totalité.

L'examen macroscopique donne des indications pour le pronostic de la maladie (notamment la taille et la localisation d'un cancer) et il permet de sélectionner les territoires à prélever pour l'étude microscopique, zones lésées, zones d'aspect macroscopiques sains et limites d'exérèse. Après le choix des prélèvements destinés à l'analyse microscopique, les restes de la pièce opératoire sont conservés afin de pouvoir effectuer des prélèvements complémentaires en cas de nécessité.

Pour les pièces opératoires : après orientation, mesure et description de la pièce, elle est photographiée encrée et des prélèvements limites de résection sont réalisés.

Ensuite, les différents plans cutané, sous cutané et musculaire sont disséqués jusqu'à la tumeur.

Cette dernière est mesurée et décrite ainsi que son éventuel rapport avec les axes vasculo-nerveux. La pièce est ensuite sélectionnée selon un axe sagittal, frontal ou para-frontal selon l'extension de la tumeur. Un schéma de la tumeur d'environ 3mm d'épaisseur, parallèle au plan de coupe déjà effectué, est photographié, mis en décalcification selon le protocole suivant :

*Fixation pendant 12-48h.

*Décalcification pendant 4-6h puis contrôle de la décalcification et réalisation des prélèvements.

II-2-2-Etude histologique : technique de coloration HE (Hématoxyline, Eosine)

➤ Principe

La coloration HE est une coloration universelle de routine permettant l'identification histologique de tissus en associant une coloration nucléaire par l'hématoxyline de Haris (colorant basique qui colore le noyau en bleu) à une coloration cytoplasmique par l'éosine (colorant acide qui colore le cytoplasme en rose). Ces étapes sont :

❖ Fixation

La fixation est une étape indispensable pour la préservation de la morphologie cellulaire, elle est entreprise immédiatement suite à l'obtention du prélèvement.

Le fixateur le plus habituellement utilisé est le formol à 10% tamponné, le volume de ce dernier doit représenter environ 10 fois le volume de la pièce, et la durée de la fixation dépend de la taille du prélèvement, de 2 à 5 heures pour une biopsie et un traitement de 48H pour une pièce opératoire.

❖ Déshydratation

Elle se fait dans l'automate à circulation. Les prélèvements sont déshydratés dans des 3 bains d'alcool à concentrations croissantes, puis trempés dans 3 bains de xylène pour subir l'éclaircissement, puis 3 bains de paraffine liquéfiée à 56°C.

❖ Inclusion en paraffine

Les blocs sont ensuite inclus dans des blocs de paraffine hydrophobe fondue à 57° C, puis refroidir à 4°C pendant 15 min afin de permettre la réalisation de coupes fines et régulières.

❖ Confection des coupes

Elle consiste à découper ces blocs en tranches fines et régules de 3 à 5µm d'épaisseur à l'aide d'un microtome manuel de façon à ce que la face à couper soit dans un plan vertical et parallèle au fil du rasoir pour l'obtention de rubans.

❖ Etalement sur lames

Après obtention de rubans, les coupes sont ramollies à la surface d'un Bain Marie réglé à 40°C, puis recueillir sur des lames préalablement numérotées.

❖ Hydratation :

Après séchage sur plaque chauffante, les lames sont placées à l'étuve réglée à 75°C pendant 20 min, l'hydratation se fait par le passage des lames dans :

- Le xylène 15 min
- 3 bains d'alcool (décroissant)
- l'eau H₂O (blanchissement à l'eau)

❖ Coloration

La coloration usuelle de routine dans les laboratoires d'Anatomie pathologique est la coloration de l'hématoxyline éosine (HE), elle suit les étapes suivantes :

-Trempage des lames dans un bain d'hématoxyline de Harris pendant 5 min pour la coloration des noyaux en bleu.

-rinçage à l'eau courant pendant 5 min.

-Passage rapide dans l'Hcl (eau acidifiée).

-Rinçage à l'eau courante.

- passage rapide dans l'eau ammoniaquée.

-puis rinçage à l'eau courante.

-Trempage des lames dans un bain d'éosine pendant 2 minutes pour la coloration des cytoplasmes en rose.

- rinçage à l'eau du robinet.

-Séchage des lames.

❖ Montage et observation au microscope optique

Les lames colorées sont recouvertes de lamelles, ces dernières sont fixées à l'aide de quelques gouttes d'Eukitt (une colle de baume ou de résine de montage pour une conservation longue et éviter l'oxydation des colorants), et enfin les lames sont observées au microscope optique à différents grossissements ($\times 40$, $\times 100$, $\times 400$).

II-2-3-Etude immunohistochimique

L'étude immunohistochimique a été réalisée sur seulement 8 cas pour bénéficier la recherche de l'expression du CD99, NSE, Chromogranine et la vimentine dans le sarcome d'Ewing.

Principe

Il s'agit d'une technique facilement accessible et peu onéreuse. Elle repose sur le principe de la réaction immunologique antigène-anticorps. Les Ag recherchés peuvent être des Ag membranaires, cytoplasmiques ou nucléaires, ou des protéines de la matrice extracellulaire. Le système de révélation peut fixer deux molécules de chromogènes pour mieux visualiser le complexe Ag-Ac étant naturellement invisible, ce système révélateur est constitué d'un deuxième Ac biotinylé à une molécule porteuse d'une enzyme (streptavidine peroxydase), qui peut relier deux molécules de chromogènes Diabenzidine (DAB) (substrat).

La réaction enzyme substrat dégage une coloration brunâtre visualise sous microscope. L'intensité de cette coloration reflète l'expression du marqueur au niveau de tissu tumoral.

❖ Préparation des tissus :

La préparation des tissus se fait de la même façon que la technique HE allant de la fixation des prélèvements à la confection des coupes avec microtome. Après rabotage des blocs et obtention de ruban de 3µm d'épaisseur, les coupes ont été ramollies à la surface d'un bain marie réglé à 40°C puis recueillies sur des lames silanisées préalablement numérotées.

Après le séchage, les lames ont été mises dans une étuve à 54°C pendant une nuit (12h) afin d'augmenter l'adhérence des coupes.

❖ L'immunohistochimie par la méthode Streptavidine biotine (SAB) :

1^{ère} étape

-Déparaffinage des coupes tissulaires dans 4 bains de Xylène successifs de 5 minutes pour chacun.

-Réhydratation des coupes dans 4 bains d'alcool successifs pendant 5minutes pour chacun.

-Blanchissement dans l'eau distillée pendant 5 minutes.

2^{ème} étape : Démasquage des sites antigéniques

-Cette étape permet de remédier aux effets secondaires de la fixation. Plusieurs possibilités existent : prédigestion enzymatique ou démasquage par la chaleur, cette dernière passe par les étapes suivantes :

-Immersion des lames dans la solution de démasquage : TRS « Target Retrieval Solution » à PH= 9 et PH= 6.

-L'incubation des lames dans l'incubateur à 92° pendant 40 min.

-Refroidissement des lames pendant 20 min sur la paillasse.

-Trempe des lames dans l'eau distillée pendant 5 min.

-Cerclage de chaque fragment avec « Dako pen » pour empêcher les anticorps de diffuser ailleurs que sur la bonne zone de la lame.

3^{ème} étape : Blocage des peroxydases endogènes tissulaires

Cette étape a pour but le blocage de l'activité des peroxydases endogènes présentes dans certaines cellules (polynucléaires, monocytes). Elle est réalisée en utilisant 100 µl de l'eau oxygénée (H₂O₂) à 3% pendant 10 minutes.

-Rinçage des lames à l'eau distillée, puis les plonger dans un bain de tampon PBS à PH=7,4 deux fois pendant 5 minutes.

4^{ème} étape : Application de l'anticorps primaire

Les lames préalablement traitées sont imprégnées de la solution d'Ac primaire pré-dilué puis incubées pendant 45 min dans une chambre humide fermée à température ambiante, par la suite elles sont rincées dans 2 bains successifs de PBS durant 5 min chacun.

Les différents Ac primaires utilisés dans notre cas (SE) sont : Anti CD99, Anti NSE, Anti Chromogranie et Anti Vimentine.

5^{ème} étape : Application de l'AC secondaire « LSAB2» (Labelles Streptavidine Biotine 2)

Application de l'AC secondaire biotinylé (Biotinylated Link) et incubation pendant 30 minutes, l'excès est éliminé par un rinçage dans deux bains successifs de PBS durant 5minutes chacun.

6^{ème} étape : Révélation

Préparation de la DAB+ : Ajouter 1 goutte de DAB + dans 1 ml de diluant.

-Le chromogène de la peroxydase DAB (Diaminobenzidine) est déposé sur les lames et elles sont incubées pendant 2 à 15 minutes (Voir figure 11).

-Contrôle des lames au microscope puis rinçage à l'eau distillée (5-10 min).

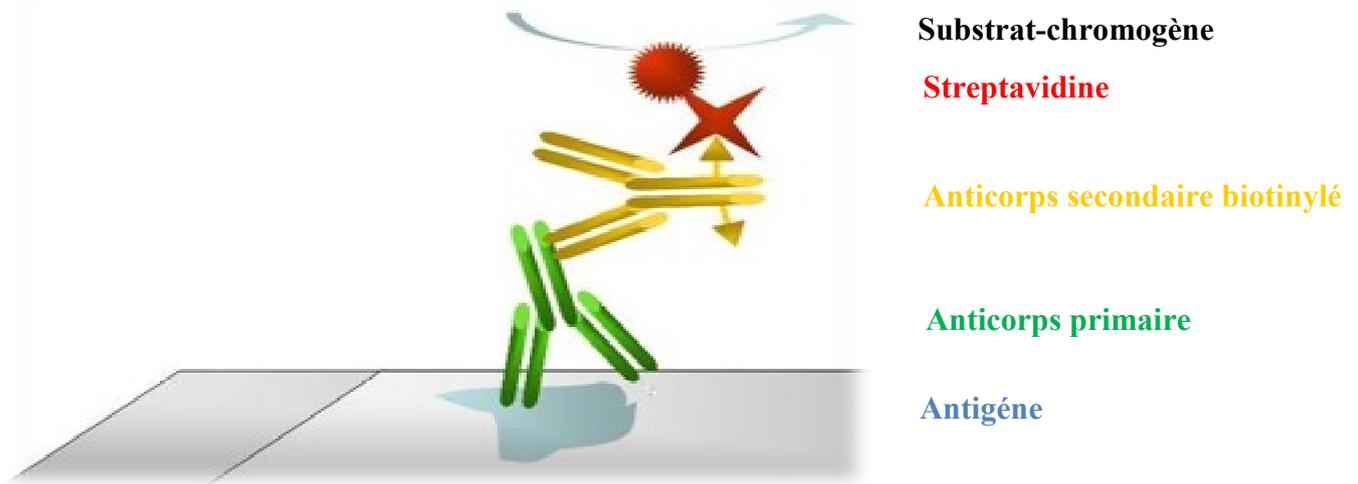


Figure 11 : Le principe de la révélation de la peroxydase

D'après : *Diagomics 2009*

7^{ème} étape : Contre coloration et montage

-Imprégnation des lames dans des blocs de coloration à l'hématoxyline de Mayer durant 2 minutes.

-Rinçage à l'eau courante.

-Bleuissement des lames dans l'eau ammoniaquée.

-Rinçage à l'eau distillée.

-Montage des lamelles avec l'Eukitt.

- Observation au microscope optique.

8^{ème} étape : Photographie et prise au microscope optique type Leica.

III-1-Résultats

Notre étude à été réalisé sur 39 patients atteints de sarcome d'Ewing, les résultats obtenus sont les suivants :

III-1-1-Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing selon l'âge

(Tableau IV, ANNEXE II)

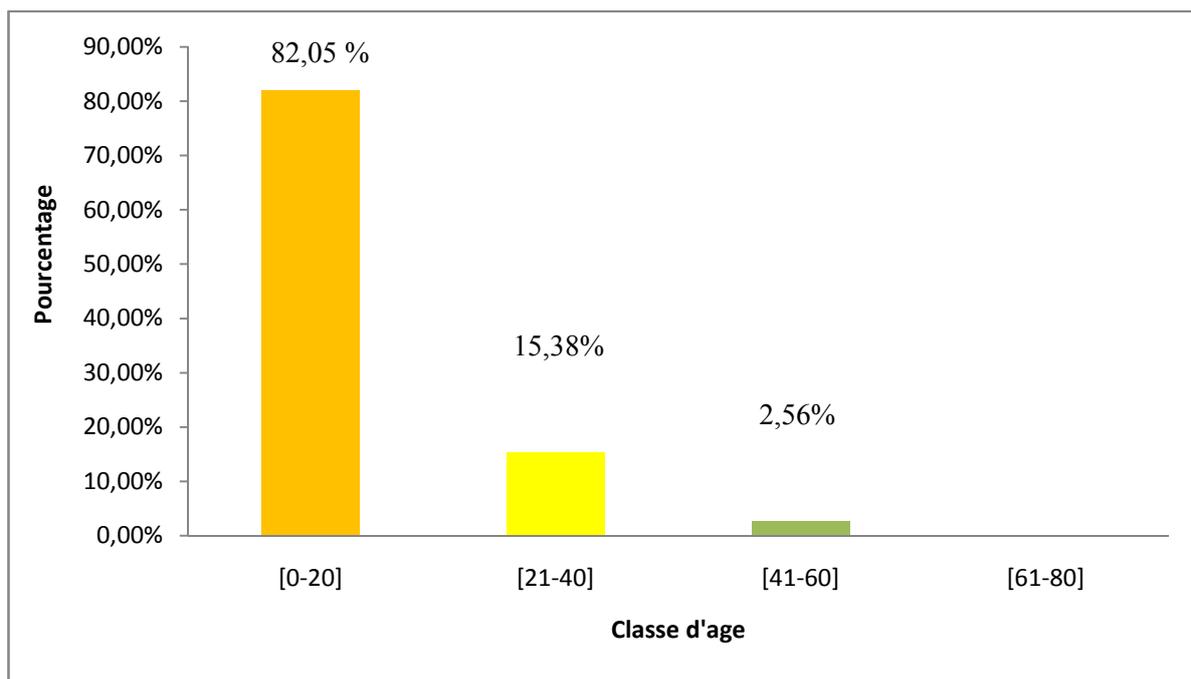


Figure 12 : Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing en fonction de l'âge

Selon l'âge des 39 patients atteints du sarcome d'Ewing, on constate que les personnes ayant un âge entre 0 à 20 ans représentent le plus grand pourcentage 82,05 %, en suit vient en deuxième position les personnes ayant un âge entre 21 et 40 ans avec un pourcentage de 15,38% et en dernier les personnes ayant un âge entre 41 et 60 ans avec un pourcentage 2,56%.

En fonction de l'âge des patients, nous remarquons qu'il ya une prédominance des personnes ayant un âge entre 0 à 20 ans (82,05 %), suivie des personnes ayant un âge entre 21 à 40 ans (15,38%).

III-1-2-Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing selon le sexe

(Tableau V, ANNEXE II)

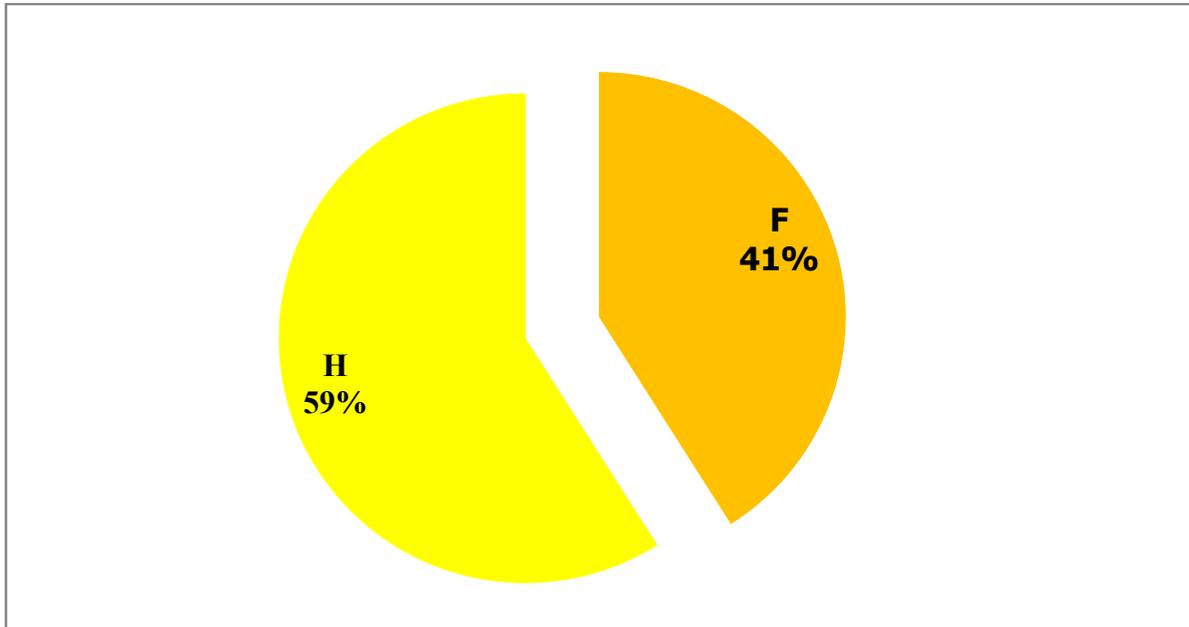


Figure 13 : Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing en fonction du sexe

Notre série comporte 16 patients du sexe féminin et 23 patients du sexe masculin atteints par le sarcome d'Ewing, soit respectivement 41% et 59%.

Le sarcome d'Ewing est moins fréquent chez le sexe féminin que chez le sexe masculin, soit un sex-ratio de 1,43.

III-1-3-Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing selon le Siège

(Tableau VI, ANNEXE II)

La répartition des 39 patients atteints par le sarcome d'Ewing selon leur siège est respectivement en pourcentage dans la figure 14.

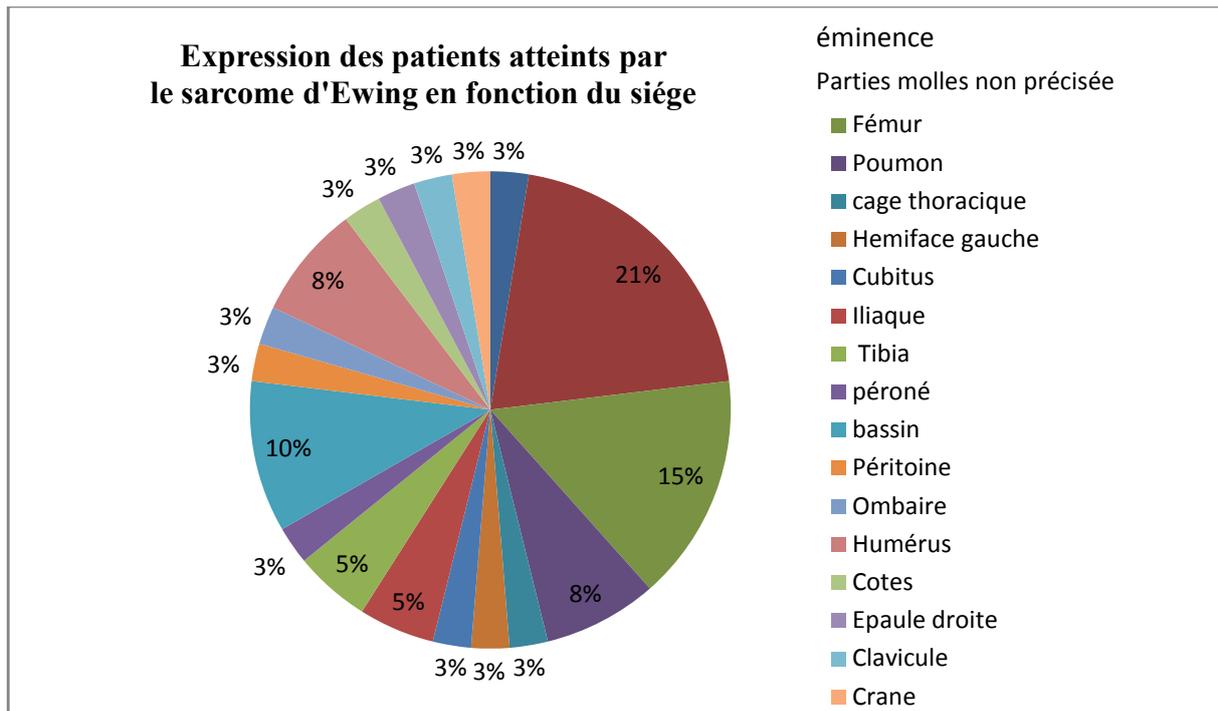


Figure 14 : Répartition des patients atteints par le sarcome d’Ewing en fonction du siège

La répartition des 39 patients atteints par le sarcome d’Ewing selon leur siège indique que les parties molles non précisées sont les plus prédominantes avec un pourcentage de 21%, le fémur vient en deuxième position avec un pourcentage de 15%, le bassin avec un pourcentage de 10%, l’humérus et les poumons se situent en quatrième position avec un pourcentage de 8%, en suite l’iliaque et le tibia avec un pourcentage de 5%, et enfin la cage thoracique, l’hémiface, le cubitus, le péroné, le péritoine, lombaire, les cotes, les épaules, le clavicule et le crâne en dernière position avec un même pourcentage de 2,56%.

▪ **Répartition du sarcome d’Ewing selon sa localisation osseuse et extra-osseuse (Tableau VII, ANNEXE II)**

La répartition de sarcome d’Ewing selon sa localisation osseuse et extra-osseuse est respectivement en pourcentage dans la figure 15.

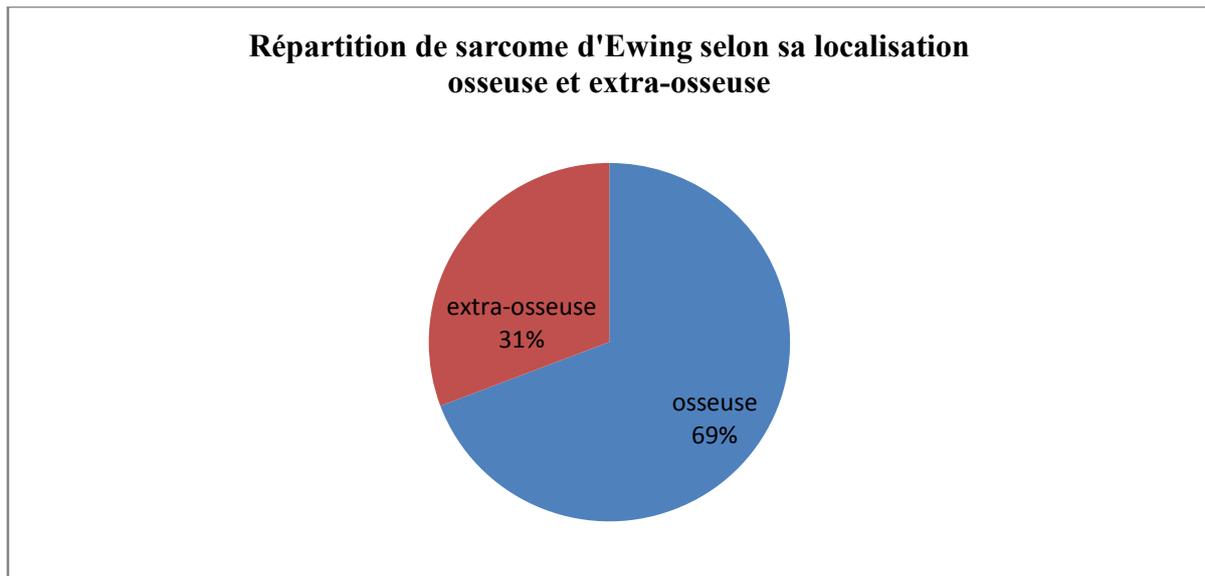
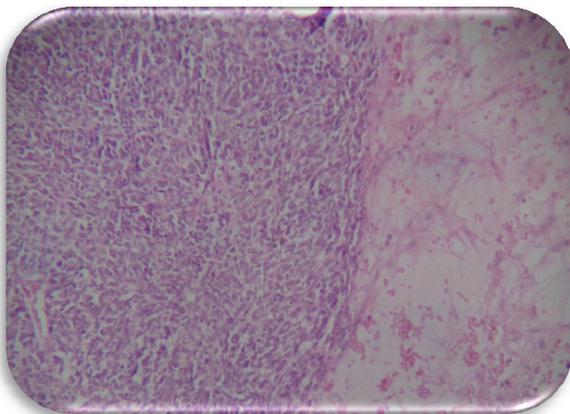


Figure 15 : Répartition du sarcome d'Ewing selon sa localisation osseuse et extra osseuse

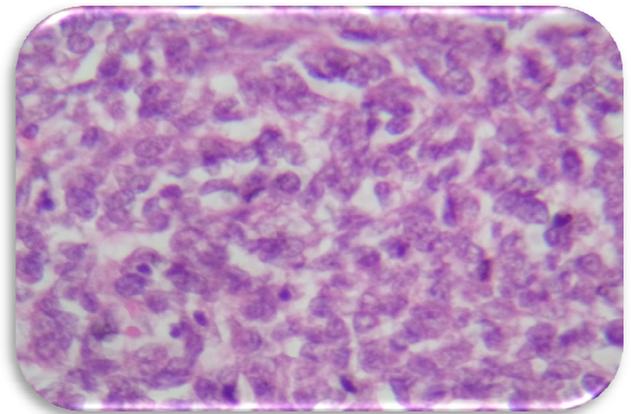
La répartition des 39 patients atteints par le sarcome d'Ewing selon sa localisation indique que dans 69% des cas, il atteint les os du squelette, alors qu'il n'atteint les parties extra- squelettique que dans 31% des cas.

III-1-4-Etude histologique

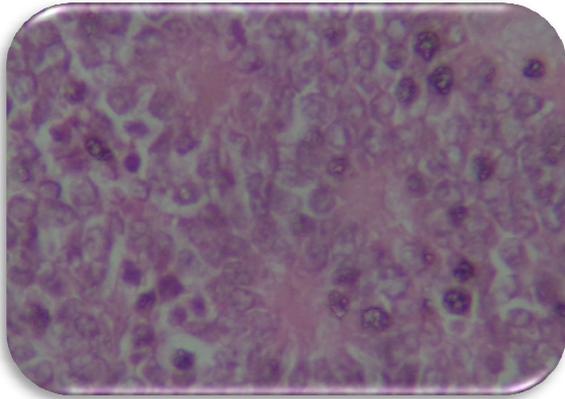
III-1-4-1-coupes histologique des sarcomes d'Ewing



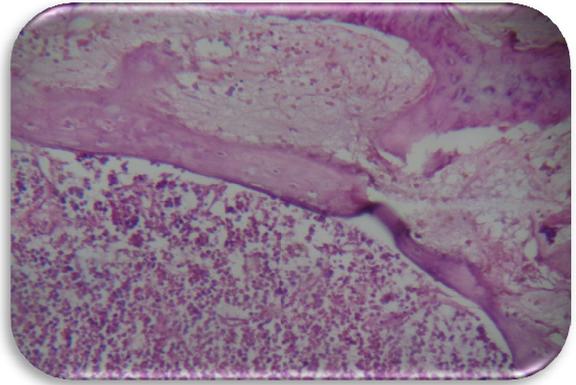
A : HE Gx 20 Sarcome d'Ewing typique



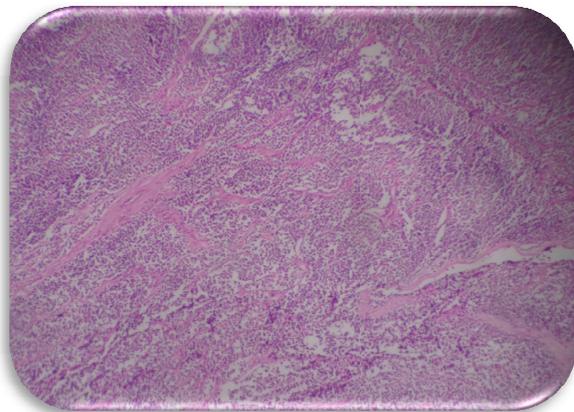
B : HE Gx 40 Sarcome d'EWING typique



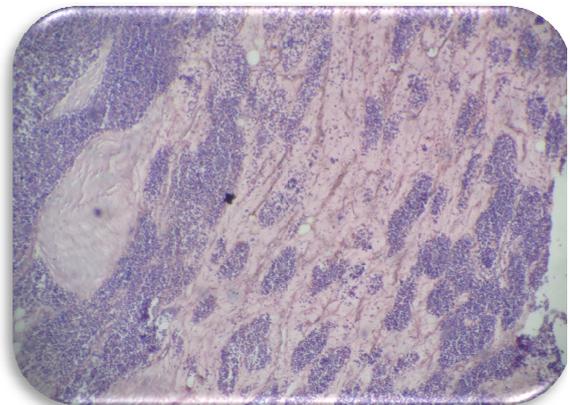
C : HE Gx40 pseudorosettes de Homer Wright



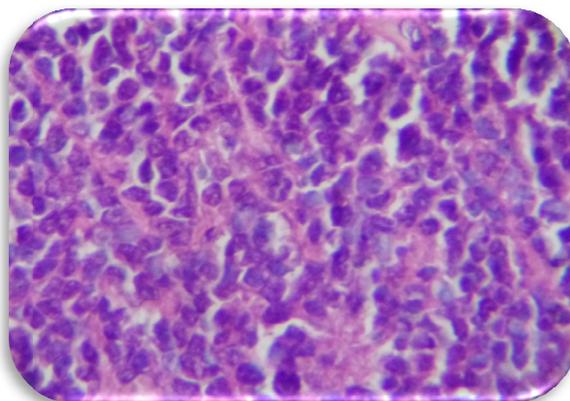
D : HE Gx20 infiltration de l'os par un SE



E : HE Gx10 Sarcome d'EWING atypique, aspect en damier



F : HE Gx40 Sarcome d'EWING atypique, aspect en damier



G : HE Gx40 Sarcome d'Ewing atypique à grandes cellules

Figure 16 (A, B, C, D, E, F, G) : Sarcome d'Ewing (typique et atypique) à différents grossissements ; Coloration HE

L'examen des prélèvements effectué sur les pièces adressées aux HU Mustapha permet d'observer les aspects suivants :

Dans la forme typique du sarcome d'Ewing on observe une prolifération organisée en lobules infiltrant séparées par des bandes fibreuses d'importance variable. Les cellules sont de petites tailles et discoésives, contenant de petits noyaux monotones, ovales ou arrondies contenant une chromatine fines, et les cytoplasme sont vacuolaires. Dans la forme bien différenciée des PNET, on observe la formation de pseudorosettes de Homer Wright, qui correspond à la disposition des noyaux au tour d'une fibrillaire éosinophile.

Dans la forme atypique on observe des cellules plus volumineuses contenant de gros noyaux qui referment des chromatines denses, et les cytoplasmes ne sont pas vacuolaires.

III-1-5- Etude immunohistochimique

Notre étude a été réalisée sur 8 cas du SE, parmi l'échantillon total qui consiste à rechercher l'expression de CD99, NSE, Chromogranine et la vimentine.

Les résultats de la technique immunohistochimique pour ces anticorps sont illustrés dans les tableaux VIII, IX, X, XI (ANNEXE II).

III-1-5-a-Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing / Immunomarquage CD99 (Tableau VIII, ANNEXE II)

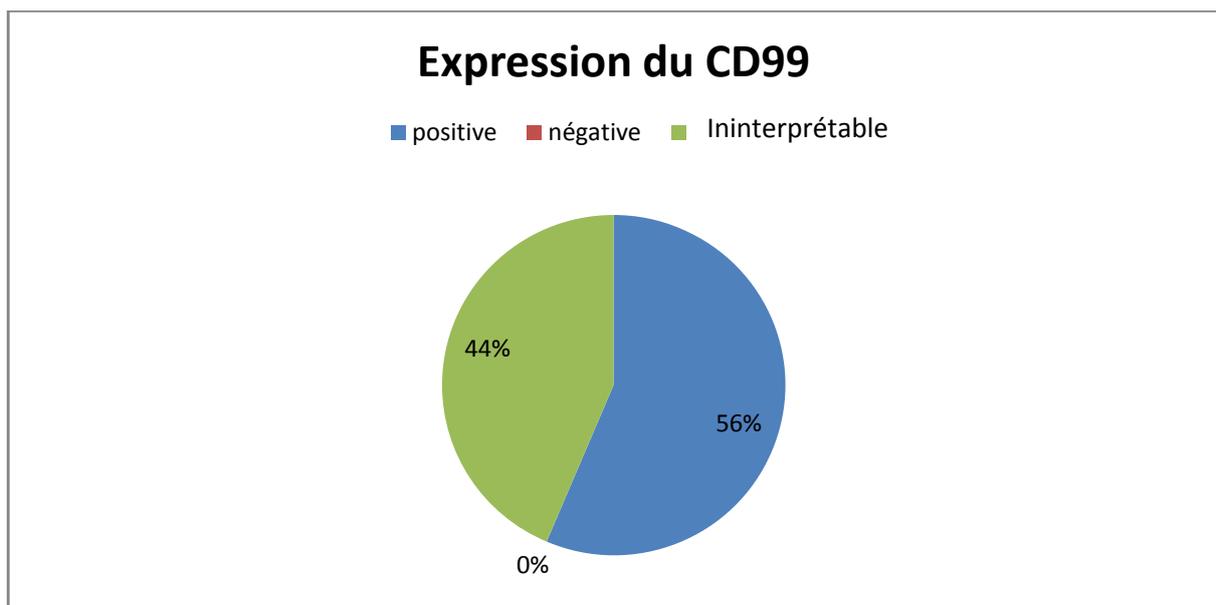


Figure 17 : Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing / Immunomarquage CD99

D'après les résultats de la figure 17, il ressort qu'il y a une positivité de CD99 dans 22 cas porteurs du sarcome d'Ewing, une négativité dans 0 cas, soit respectivement les pourcentage 56% et 0%, alors que dans les 44% qui restent l'immunomarquage de CD99 est interprétable.

✓ **Répartition de la positivité de marquage anti CD99 selon le site d'expression**

Expression de CD99	Cytoplasmique	Membranaire	Nucléaire	Total
Nombre	0	22	0	22
%	0	100	0	100

Tableau IX : Répartition de la positivité du marquage anti CD99 selon le site d'expression

✓ **Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing selon le grade de malignité**

Grade de malignité	haut grade
Nombre des cas	39
%	100

Tableau X : Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing selon le grade de malignité

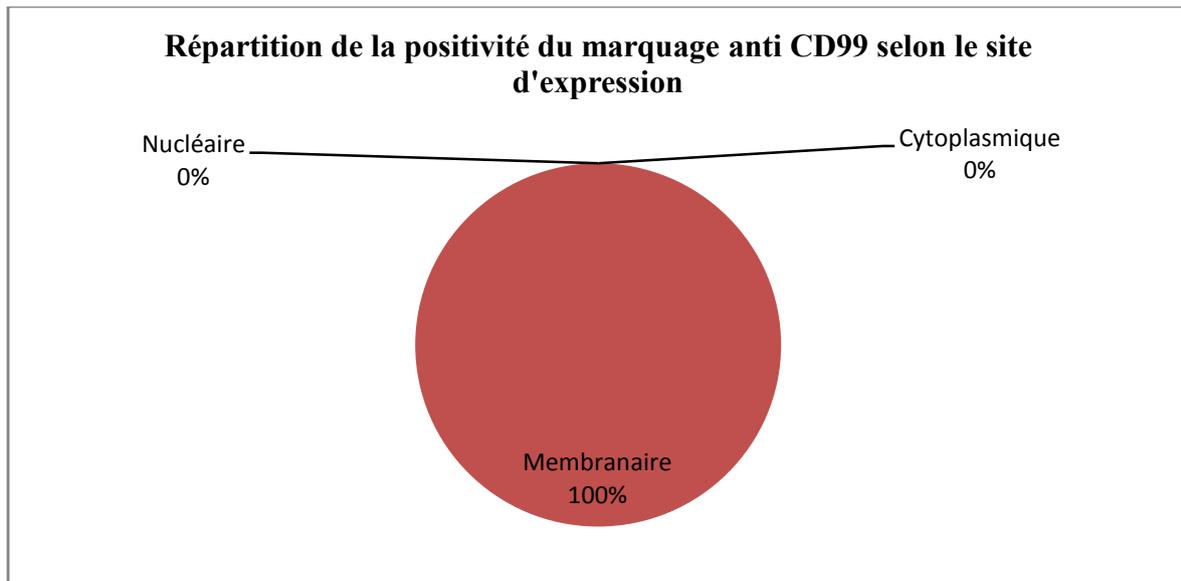
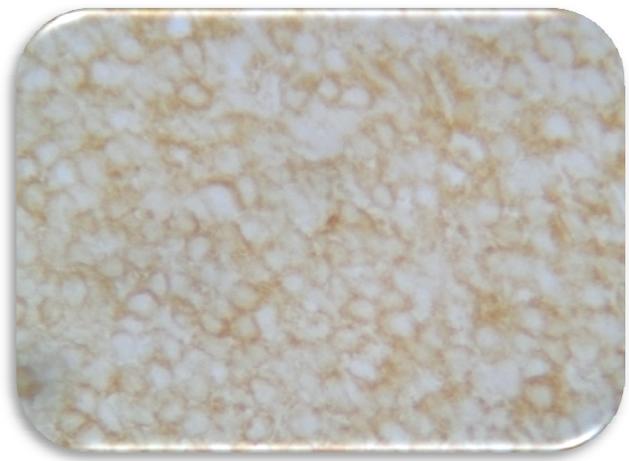


Figure 18 : Répartition de la positivité du marquage anti CD99 selon le site d'expression

D'après les résultats de la figure 18, il ressort qu'il y a une positivité membranaire de CD99 dans les 22 cas avec un pourcentage de 100%, alors qu'il ya aucune expression nucléaire ou cytoplasmique de CD99.



A : IHC Gx10 CD99 expression membranaire intense et diffuse



B : IHC Gx40 CD99 expression membranaire de moyenne intensité

Figure 19 (A, B): Coupes histologiques de sarcome d'Ewing après immunomarquage membranaire de CD99 observée au microscope optique à différents grossissements.

✓ **Expression du CD99 dans les PNET**

PNET	focale	diffuse
Expression de CD99	1	5
%	17	83

Tableau XI : expression du CD99 dans les PNET

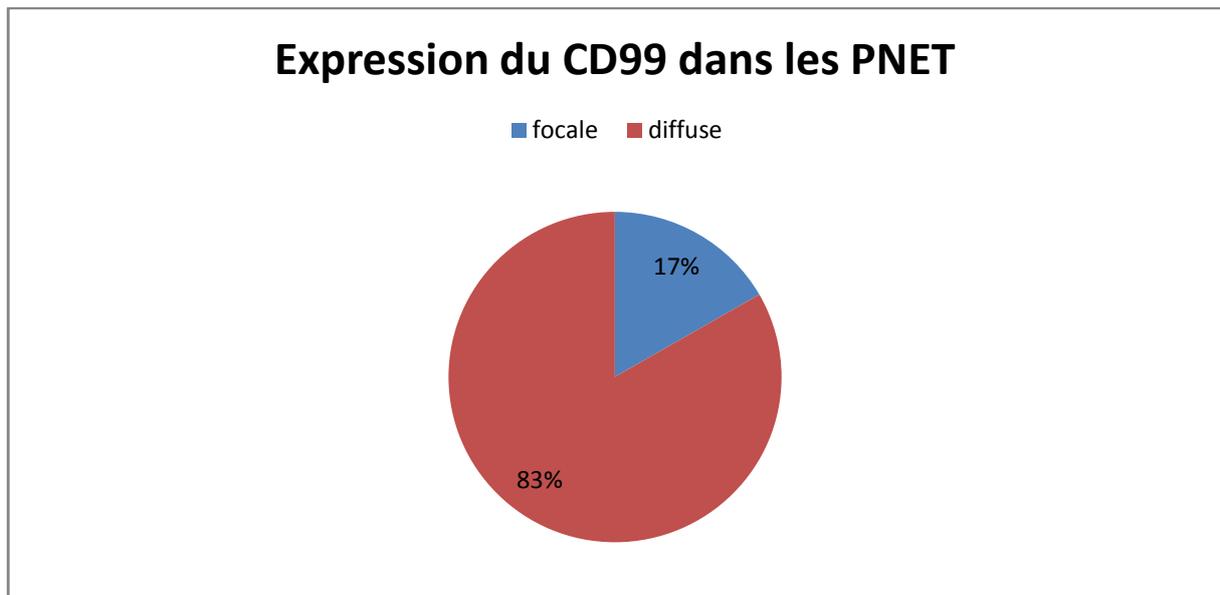


Figure 20 : Expression du CD99 dans les PNET

✓ **Expression du CD99 dans le sarcome d'Ewing typique à petites cellules**

SE à petites cellule	focale	diffuse
expression de CD 99	0	9
%	0	100

Tableau XII: Expression du CD99 dans le sarcome d'Ewing typique à petites cellules

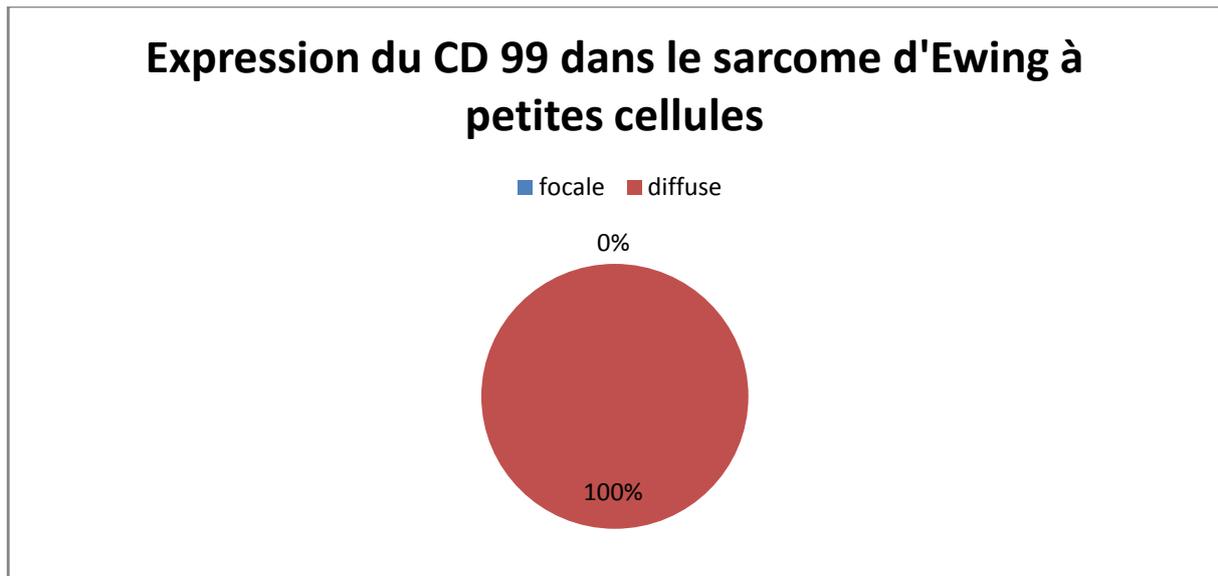


Figure 21 : Expression du CD99 dans le sarcome d’Ewing typique à petites cellules.

✓ **Expression du CD99 dans le sarcome d’Ewing à grandes cellules**

SE à grandes cellules	focale	diffuse
expression de CD 99	2	0
%	100	0

Tableau XIII : Expression du CD99 dans le sarcome d’Ewing à grandes cellules

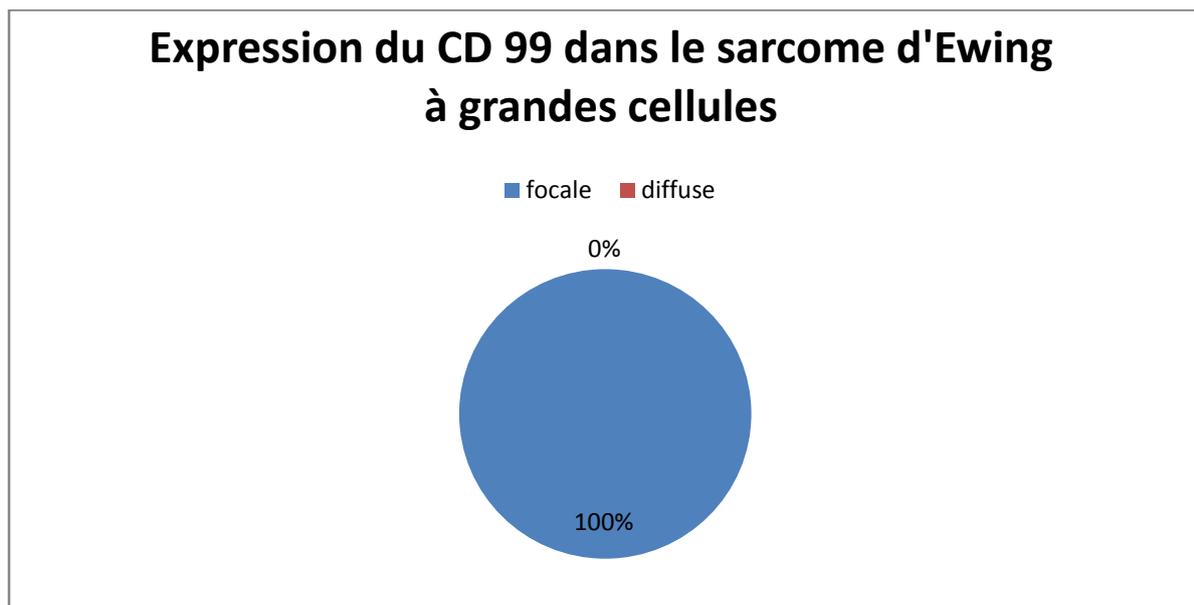


Figure 22: Expression du CD99 dans le sarcome d’Ewing à grandes cellules.

D’après les résultats des figures 20, 21 et 22: l’expression du CD99 dans les PNET est diffuse dans 83% alors que dans le sarcome d’Ewing à petites cellules, elle est à 100% contrairement à ceux de grandes cellules où elle est exprimée focalement avec un pourcentage de 100%.

III-1-5-b-Répartition des patients porteurs du sarcome d’Ewing / Immunomarquage

NSE (Tableau XIV, ANNEXE II)

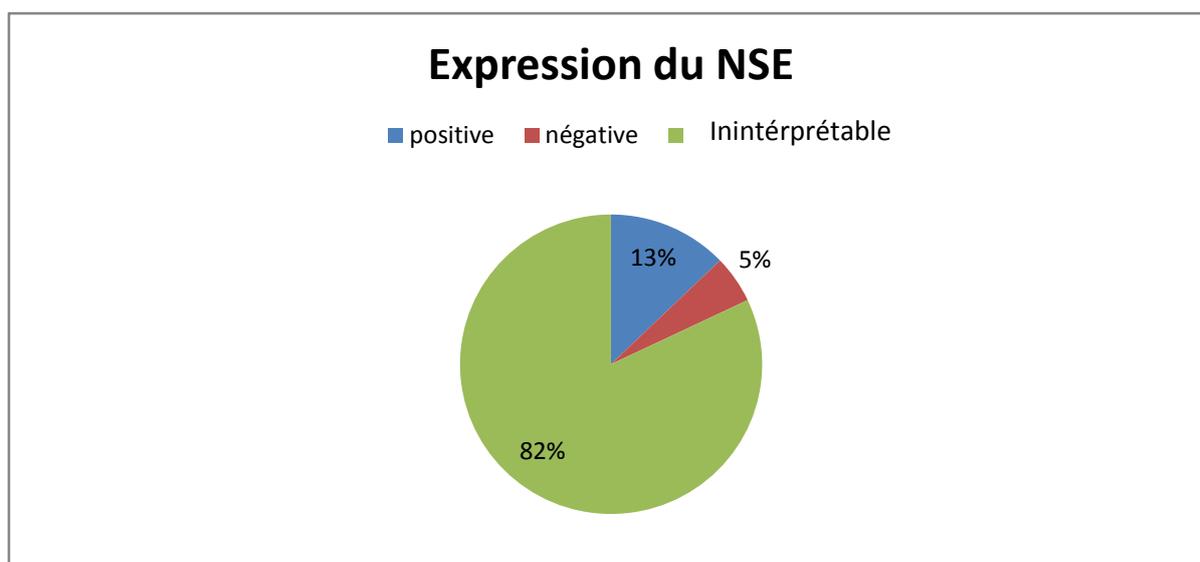


Figure 23 : Répartition des patients porteurs du sarcome d’Ewing /Immunomarquage NSE

D’après les résultats de la figure 23, il ressort qu’il y a une positivité de NSE dans 5 porteurs du sarcome d’Ewing, une négativité dans 2 cas, soit respectivement les pourcentages 13% et 5%, alors que dans les 82% qui restent l’immunomarquage de NSE est ininterprétable.

✓ **Répartition de la positivité de marquage anti NSE selon le site d’expression**

Expression de NSE	Cytoplasmique	Membranaire	Nucléaire	Total
Nombre	5	0	0	5
%	100	0	0	100

Tableau XV : Répartition de la positivité de marquage anti NSE selon le site d’expression

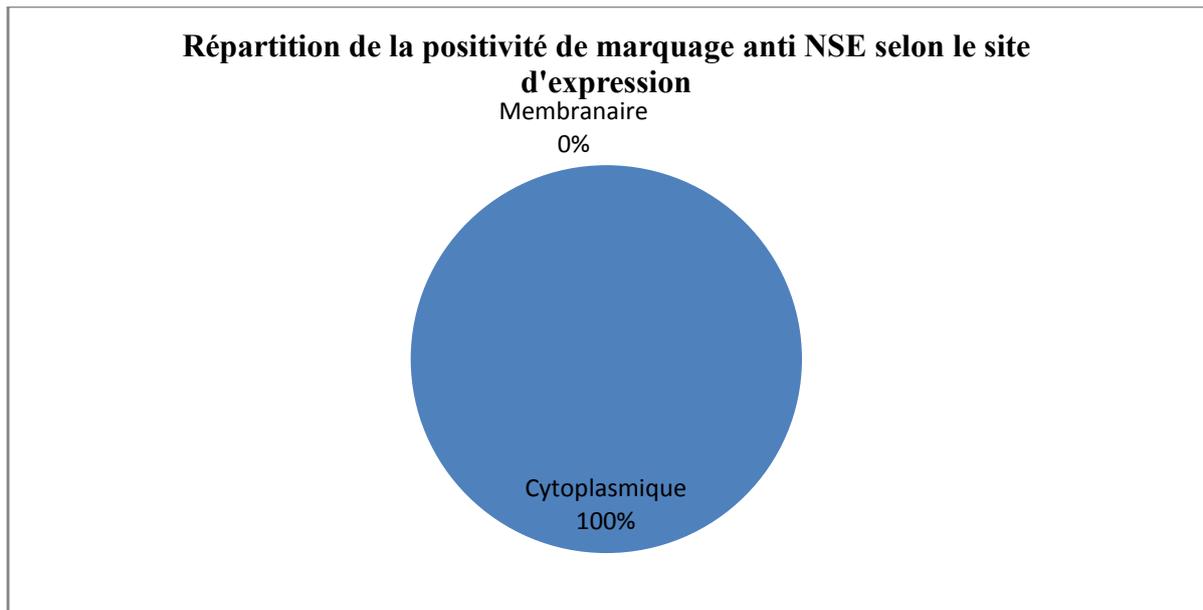


Figure 24 : Répartition de la positivité du marquage anti NSE selon le site d'expression.

D'après les résultats de la figure 24, il ressort qu'il y a une positivité cytoplasmique de NSE dans les 5 cas avec un pourcentage de 100%, alors qu'il ya aucune expression nucléaire ou membranaire de NSE.

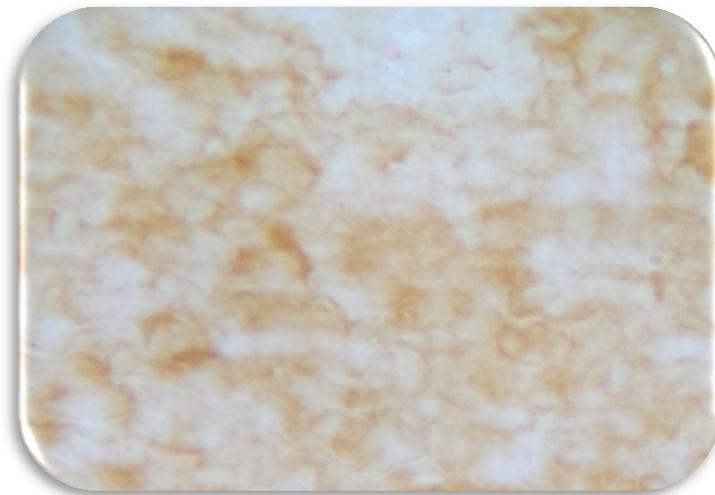


Figure 25 : Coupe histologique du sarcome d'Ewing après immunomarquage cytoplasmique granulaire du NSE observée au microscope optique à grossissement Gx40.

III-1-5-c-Répartition des patients porteurs du sarcome d’Ewing / Immunomarquage Chromogranine (Tableau XVI, ANNEXE II)

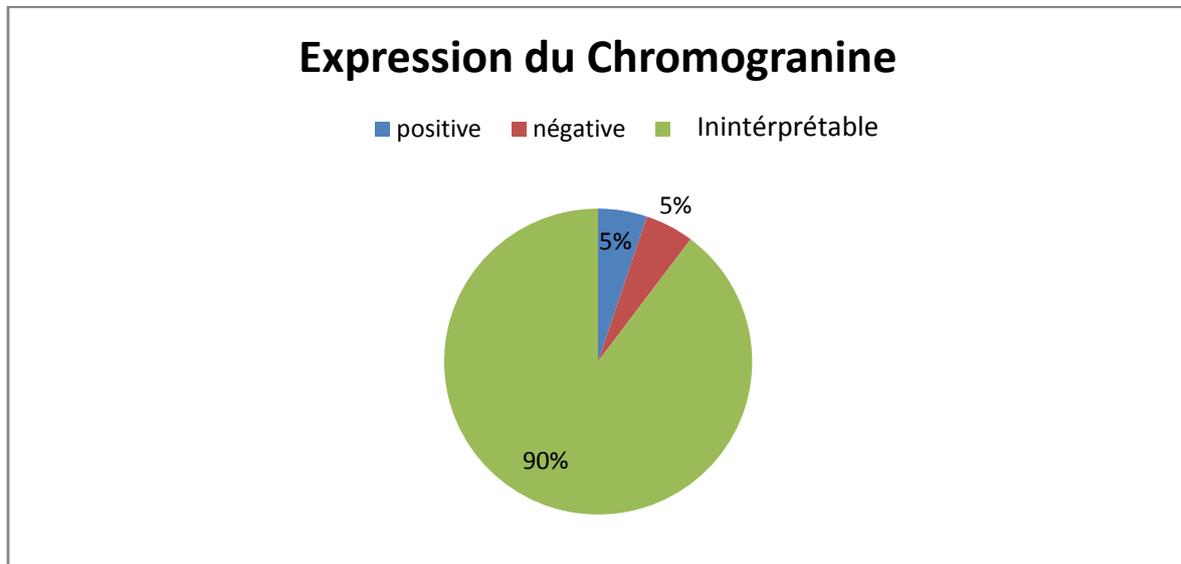


Figure 26 : Répartition des patients porteurs du sarcome d’Ewing / Immunomarquage Chromogranine.

D’après les résultats de la figure 26, il ressort qu’il y a une positivité de la Chromogranine dans 2 porteurs du sarcome d’Ewing, une négativité dans 2 cas avec un pourcentage de 5%, alors que dans les 90% restants l’immunomarquage de Chromogranine est ininterprétable.

✓ **Répartition de la positivité du marquage anti Chromogranine selon le site d’expression**

Expression du Chromogranine	Cytoplasmique	Membranaire	Nucléaire	Total
Nombre	2	0	0	2
%	100	0	0	100

Tableau XVII : Répartition de la positivité de marquage anti Chromogranine selon le site d’expression.

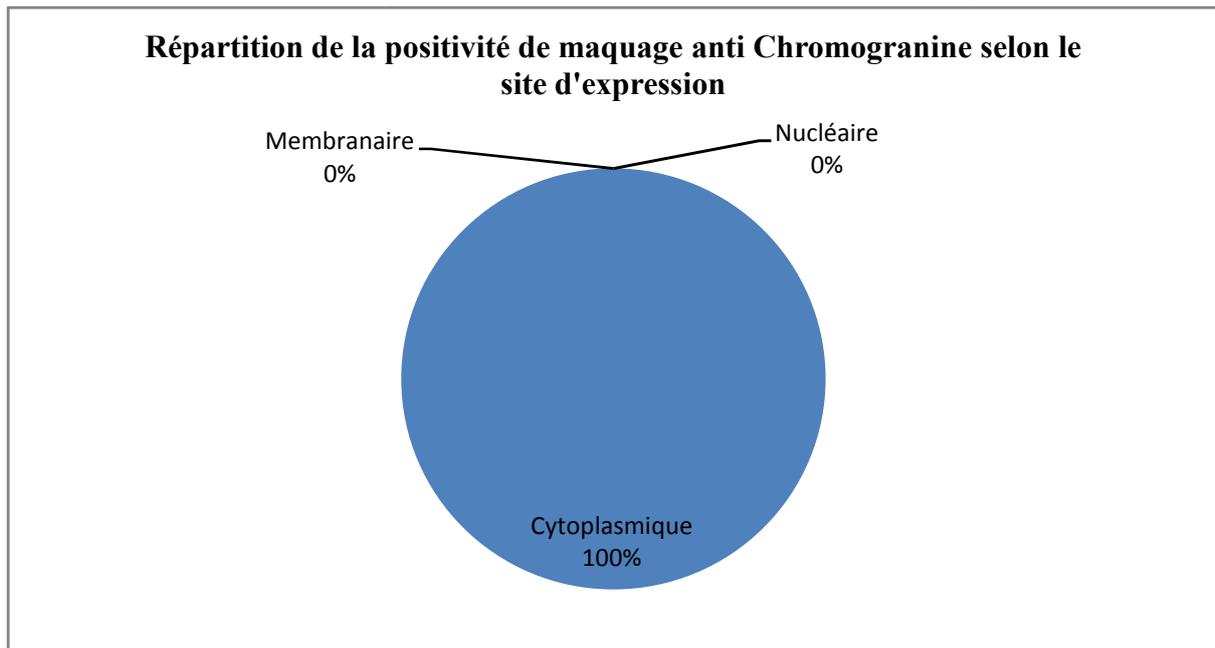


Figure 27 : Répartition de la positivité du marquage anti Chromogranine selon le site d'expression.

D'après les résultats de la figure 27, il ressort qu'il y a une positivité cytoplasmique de la Chromogranine dans les 2 cas avec un pourcentage de 100%, alors qu'il y a aucune expression nucléaire ou membranaire de la Chromogranine.

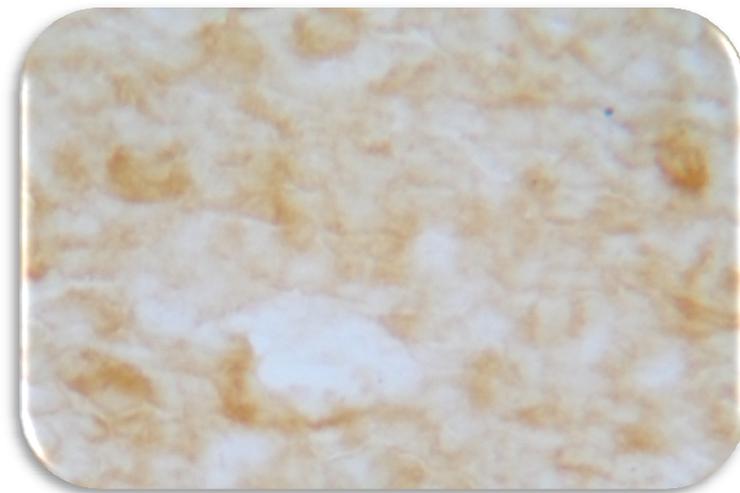


Figure 28 : Coupe histologique du sarcome d'Ewing après immunomarquage cytoplasmique granulaire de la chromogranine observée au microscope optique à grossissement $\times 40$.

III-1-5-d-Répartition des patients porteurs du sarcome d’Ewing / Immunomarquage Vimentine (Tableau XVIII, ANNEXE II)

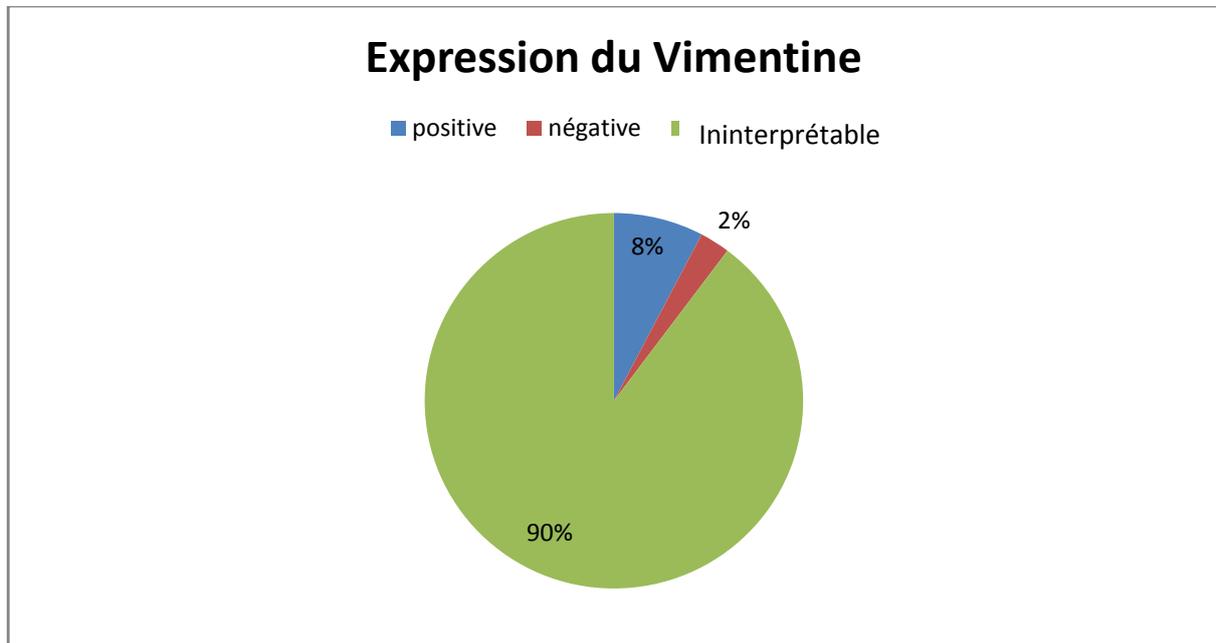


Figure 29 : Répartition des patients porteurs du sarcome d’Ewing / Immunomarquage Vimentine.

D’après les résultats de la figure 29, il ressort qu’il y a une positivité de Vimentine dans 3cas porteurs du sarcome d’Ewing, une négativité dans un seul cas soit respectivement les pourcentages 8% et 2%, alors que dans les 90% qui restes l’immunomarquage de la Vimentine est ininterprétable.

✓ **Répartition de la positivité de marquage anti Vimentine selon le site d’expression**

Expression de Vimentine	Cytoplasmique	Membranaire	Nucléaire	Total
Nombre	3	0	0	3
%	100	0	0	100

Tableau XIX : Répartition de la positivité du marquage anti Vimentine selon le site d’expression.

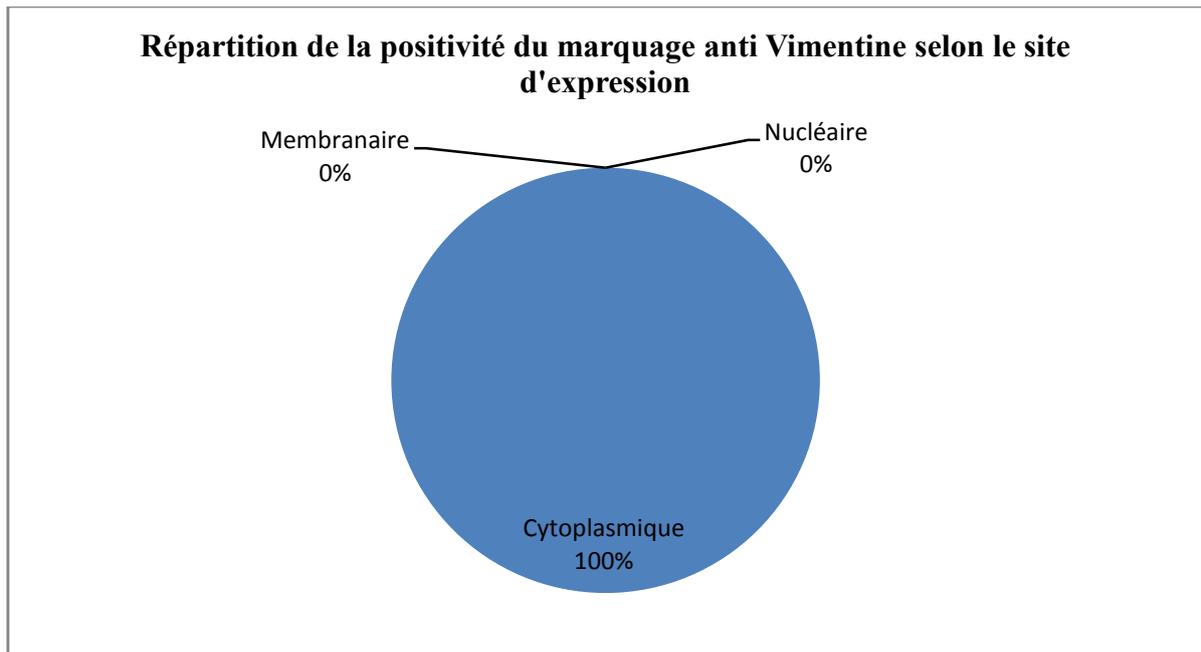


Figure 30 : Répartition de la positivité du marquage anti Vimentine selon le site d'expression.

D'après les résultats de la figure 30, il ressort qu'il y a une positivité cytoplasmique de la Vimentine dans les 3 cas avec un pourcentage de 100%, alors qu'il y a aucune expression nucléaire ou membranaire.

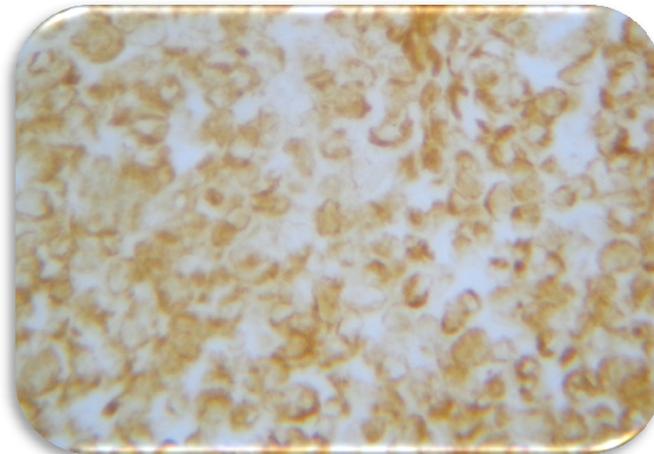


Figure 31 : Coupe histologique du sarcome d'Ewing après immunomarquage cytoplasmique du Vimentine observée au microscope optique à grossissement $\times 40$.

III-2-Discussion

Le sarcome d'Ewing est une tumeur maligne primitive qui appartient à la forme indifférenciée des PNET (peripheral Neuro Ectodermal Tumors) (Maheshwari *et al*, 2010).

Notre étude consiste en une réévaluation de 39 cas de SE colligés dans le service de Pathologie du CHU Mustapha durant une période allant de 2005 à 2013.

L'analyse des résultats obtenues en fonction de l'âge montre que la tranche d'âge la plus touchée par le sarcome d'Ewing se situe entre 0-20 ans avec un pourcentage de 82 %, ces résultats sont en corrélation à ceux de Esiashvili *et al*, 2008 qui ont décrit que le SE apparaisse dans la 2^{ème} décennie de la vie. Cette Période de puberté, au début de l'adolescence correspond à une poussé de croissance, ce qui démontre bien le lien avec la formation de la tumeur dans les tissus osseux néo-formés (Beaulieu *et al*, 2011) puisque le SE touche préférentiellement l'os.

Les résultats obtenues à partir de la répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing en fonction du sexe montre qu'il à une légère prédominance masculine avec un pourcentage de 59% que le sexe féminin avec un pourcentage de 41%, avec un sex-ratio de 1,43. Ces résultats sont en accord à ceux de D'Andon *et al*, 2004.

Selon la répartition des patients en fonction du siège il ressort que le sarcome d'Ewing est souvent localisé au niveau de l'os avec un pourcentage de 69% contrairement aux parties extra-osseux qui présentent 31% ce qui s'oppose aux résultats retrouvés dans les travaux de Applebau *et al*, 2011 qui disent que les parties molles ne sont atteints par le SE que très rarement.

Le SE peut toucher tous les os du squelette, préférentiellement les os long (Fémur dans 15% des cas), contrairement aux autres parties des os long (tibia, péroné, Humérus qui ne sont touché que dans 5%, 3%, 8% respectivement), ce qui s'oppose avec les résultats de littérature (Huvos 1991 et Bernstein *et al*, 2006).

La localisation préférentielle du sarcome d'Ewing sur l'os peut être expliqué par l'origine mésenchymateuse de cette tumeur, ces cellules mésenchymateuses sont capables de donner naissance à de nombreux tissus d'ont l'os, et cartilage et les tissus adipeux, et que l'on retrouve dans l'os. Les cellules mésenchymateuses sont inhibées par la protéine de fusion EWS-FLI1.

Sur le plan histologique, Le SE est dans sa forme classique, constitué de petites cellules tumorales agencées en larges travées séparés par un abondant tissu fibreux. Les cellules sont monotones, arrondies, mesurant 12 à 15 micromètre, avec un rapport nucléo-cytoplasmique élevé. Elles ont également un aspect basophile, d'architecture plus ou moins lobulée, dense, d'aspect uniforme, l'arrangement est circulaire autour d'une formation vasculaire en pseudo-rosettes. Les noyaux sont relativement à membrane nucléaire cernée, à chromatine finement granitée homogène enfermant un petit nucléole. Les cytoplasmes sont pales, mal limités, peu abondants (Mazabraud, 1994). Comparé à la forme classique, le SE atypique présente des cellules tumorales plus volumineuses, aux noyaux irréguliers en forme et en taille, à chromatine plus dense, à cytoplasme abondant et bien limité (Mazabraud, 1994).

Les résultats de l'étude immunohistochimique permet de mettre en évidence l'expression membranaire de CD99 dans 100% des cas, aucun cas de notre série de 39 patients ne présentaient une négativité du CD99, ces résultats se rapprochent de ceux rapportés par Camilio *et al*, 2010 ; Randall *et al*, 2011 qui ont décrit que cette protéine est exprimée par la plupart des cellules tumoral du SE. Les résultats obtenues a partir de l'expression du CD99 dans les PNET démontre une positivité diffuse dans 83% alors que dans le sarcome d'Ewing à petites cellules, elle est à 100% contrairement à ceux de grandes cellules où elle est exprimée focalement avec un pourcentage de 100%, ce qui s'oppose aux résultats des travaux de Coindre, 2010 qui ont trouvés que l'expression de CD99 est en relation avec le degré de différenciation , et elle est plus exprimée dans les PNET que dans les sarcome d'Ewing. Les résultats de Coindre, 2010 se rapproche légèrement à ceux de notre étude qui où on a trouvé que le sarcome d'Ewing à grandes cellules présente une expression focale par rapport à la forme de petites cellules et des PNET. Dans le cas normal cette protéine est impliquée dans plusieurs fonctions cellulaires tel l'adhérence cellulaire, la différenciation, l'activation et la prolifération des lymphocytes et l'extravasation, l'agrégation homolytique des lymphocytes T, la régulation à la hausse des récepteurs des lymphocytes T et des molécules du CMH, l'apoptose des thymocytes immatures et diapédèse des leucocytes (Byun *et al*, 2006), une surexpression de cette protéine induit par le gène de fusion EWS-FLI1 aboutit à une dis régulation de ces fonctions.

La répartition des grades selon l'immunomarquage révèle que le sarcome d'Ewing présente des grades de malignité, ces résultats se rapprochent de ceux retrouvés par Blay et Ray-Coquard 2006, qui ont décrit que le sarcome d'Ewing est une tumeur très agressive et mal limité.

L'expression positive de NSE dans notre série statistique est de 13% qu'on le retrouve exprimé au niveau cytoplasmique, et dans 5% des cas la NSE est exprimée négativement. Ces résultats sont concordent avec les résultats de David, 2008 ; qui apporte dans son étude que l'expression de NSE est focalement positive dans les SE. L'NSE (Neuron Specific Enolase) est une enzyme glycolytique normalement présente dans les neurones, les tissus nerveux périphériques et les tissus neuroendocrines. La NSE est un marqueur très spécifique et se retrouve à des taux sériques élevés dans les tumeurs d'origine neuroectodermique ou neuroendocrine. La détermination du taux du NSE au moment du diagnostic permet d'orienter la qualification anatomopathologique de ces tumeurs. Plusieurs études ont montré la relation entre le taux du NSE et l'extension de la maladie : les taux élevés sont associés aux maladies évolutives. Les dosages répétés de NSE pendant le traitement cytotoxique, permettent d'en apprécier l'efficacité et de prédire un éventuel échappement.

La chromogranine est exprimée dans 5% des cas du SE au niveau cytoplasmique, la même valeur pour l'expression négative de Chromogranine. La chromogranine est une glycoprotéine de 439 aminoacides, est ubiquitaire dans les tissus neuro-endocrines et est caractérisée par sa co-expression avec les neurotransmetteurs et les hormones polypeptidiques, notamment les catécholamines, elle est impliquée dans divers processus biologiques intra et extra-cellulaires, mais leur rôle physiologique reste mal connu : au niveau intra- cellulaire, elle interviendrait dans la régulation du stockage et de la sécrétion d'hormones et de peptides ; au niveau extra cellulaire elle serait (après clivage) un précurseur de différents composés hormonaux. La chromogranine est un marqueur biologique utilisé pour le diagnostic et le suivi thérapeutique des tumeurs neuroendocrines, en particulier celles localisées au niveau du tractus digestif ou au niveau bronchique, ainsi que les phéochromocytomes et les cancers médullaires de la thyroïde.

Selon les résultats de notre étude seulement 2% des patients porteurs de sarcome d'Ewing présente une positivité à la vimentine, et 8% des cas sont négatifs. La vimentine est un constituant majeur de la famille des protéines de filaments intermédiaires, est exprimé de façon ubiquitaire dans les cellules mésenchymateuses normales et est connu pour maintenir l'intégrité cellulaire et fournir une résistance contre le stress. La surexpression de la vimentine dans le cancer est bien corrélée avec la croissance accélérée de la tumeur, l'invasion et de mauvais pronostic; Cependant, le rôle de la vimentine dans la progression du cancer reste obscur. Au cours des dernières années, la vimentine a été reconnue comme un marqueur de transition épithélio-mésenchymateuse (EMT) et sert de cible potentielle attractive pour le

traitement du cancer. la recherche orientée vers l'élucidation du rôle de la vimentine dans différentes voies de signalisation de révéler de nouvelles approches pour le développement d'agents thérapeutiques.

CONCLUSION ET PERSPECTIVE

Le sarcome d'Ewing est une tumeur maligne primitive appartenant à la forme indifférenciée des tumeurs neurectodermiques primitives. L'étude rétrospective, histologique et Immunohistochimique menée sur des prélèvements des patients atteints de sarcome d'Ewing à permis de ressortir les faits suivants :

Le sarcome d'Ewing touche le plus souvent les enfants et les adolescents avec un pic d'incidence qui se situe entre 0 et 20 ans (82%) et une prédominance pour le sexe masculin (59%) que le sexe féminin de 1,43 sex-ratio. Le sarcome d'Ewing peut toucher tout les os du squelette (69%) avec une prédominance pour les os long et plus particulièrement le fémur (15%), mais peut également toucher des parties sans aucune connexion squelettique (31%).

Il n'existe pas un lien entre de degré de différenciation du sarcome d'Ewing et l'expression du CD99. Le sarcome d'Ewing à enregistré un haut grade de malignité dans 100% des cas.

L'étude histologique du sarcome d'Ewing à montré que ce dernier présente une prolifération cellulaire avec peu ou pas de stroma tumoral, caractérisée par un polymorphisme architectural, diffuse, lobulaire et alvéolaire. Les cellules tumorales sont rondes, de petites tailles, à noyau rond indenté doté d'une chromatine et d'un ou deux petits nucléoles. Le cytoplasme est réduit, pâle vacuolisé. L'index mitotique est habituellement élevé. Des plages de nécrose tumorale sont fréquentes. L'Immunomarquage de la protéine CD99 a enregistré une positivité diffuse et membranaire dans la grande proportion de sarcome d'Ewing. C'est un marqueur important pour le diagnostic de ce type de tumeur, il a été montré que sa sensibilité est supérieure à celles des autres marqueurs. L'évolution de l'expression de la NSE, Chromogranine et la Vimentine chez les patients montre que leurs positivité est focal dans le sarcome d'Ewing. Cependant il est encore difficile d'établir avec certitude la valeur pronostique réelle d'une expression du CD99 dans l'évolution tumorale parce qu'elle reste non spécifique pour cette tumeur.

En perspective, La biologie moléculaire est un élément essentiel au diagnostic car elle permet la recherche du transcrit de fusion, par analyse des bandes chromosomiques qui peut être réalisée par Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR), par Fluorescent In Situ Hybridization (FISH) ou par l'association de ces deux techniques. De nombreuses études in vitro ont montré que l'inhibition d'EWS-FLI1, que ce soit grâce à des oligonucléotides anti-sens de l'ARN interféron ou des dominats négatifs est capable d'induire une inhibition de la croissance des lignées cellulaires de sarcome d'Ewing. Egalement l'utilisation d'autres

CONCLUSION ET PERSPECTIVE

molécules pouvant servir de cibles pour le traitement des sarcomes d'Ewing tel que l'Anti CD99 et l'Anti IGF1-R.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ **Aurias, A., Rimbaut, C., Buffe, D., Zucker J.M., Mazabraud, A.,** 2009- Translocation involving chromosome 22 in Ewing's sarcoma. A cytogenetic study of four fresh tumors. *Cancer Genet Cytogenet.* (pp. 21-5).
- ❖ **Ambros, I.M., Anbros, P.F., Strehl, S.,** 2006- MIC2 is a specific marker for Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumors. Evidence for a common histogenesis of Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumors from MIC2 expression and specific chromosome aberration. (pp. 1886-93).
- ❖ **Applebaum, M.A., Worch, J., Matthay, K.K., Goldsby, R., Neuhaus, J., West, D.C., Dubois, S.G.,** 2011- Clinical features and outcomes in patients with extraskeletal Ewing sarcoma. (pp.3027-32).
- ❖ **Baunin, C., Rubi, H., Sales de gauzy, J.,** 2001- Sarcome d'Ewing. *Encycl. Méd. Chir. Radiodiagnostic – Neuroradiologie – Appareil locomoteur.* (pp.31-520).
- ❖ **Beaulieu, M., Cloutier, A.C., Cuerrier Leblanc, C. Rivard, R., Brosseau, R., Condé, A.,** 2011- Le déconditionnement en oncologie pédiatrique. L'approche physiothérapique basée sur les évidences scientifiques. Université de Montréal faculté de médecine. Programme de physiothérapie. Ecole de réadaptation. CHU Sainte-Juntine. (pp. 50-66).
- ❖ **Belarbi, A.,** 2008- Tumeurs malignes des tissus mous, Etude anatomopathologique et immunohistochimique. Identification de groupes Histologiques.
- ❖ **Bernstein, M.L., Devidas, M., Lafrenière, D., Souid, A., Meyers, P.A., Gebhardt, M., Stine, K., Nicholas, R., Perlman, E.J., Dobwy, R., Wainer, I.W., Dickman, P.S. Link, M.P., Goorin, A., Grier, H.E.,** 2006- *Clin. Oncol.* (pp. 24-152).
- ❖ **Bernstein, M.L., Kovar, H., Paulussen, M., Randall, L., Schuck, A., Lisa A., Juergensg, H.,** 2006- Ewing's sarcoma family of tumors. current managemen. (PP.503-519).
- ❖ **Bertolotti, A., Melot, T., Acker J., Vigneron M., Delattre O., Tora L.,** 1998- but not EWS-FLI-1. is associated with both TFIID and RNA polymerase II. interactions between two members of the TET family. EWS and hTAFII68 and subunits of TFIID and RNA polymerase II complexes. (pp. 1489-97).
- ❖ **Blay, J.Y., Ray-Coquard.,** 2006- Cancers osseux primitifs. ostéosarcomes. Polycopie nationale de cancérologie. Université Médical Virtuelle Francophone.
- ❖ **Bollini, G., Kalifa, C., Panuel, M.,** 2006- Tumeurs osseuses malignes de l'enfant et de l'adolescent. *Arch.* (pp. 667-671).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ **Blau, O., 2012-** Molecular investigation of Ewing sarcoma. about detecting translocations. *EMBO Mol. Med.* (pp. 449-450).
- ❖ **Borgne, A., Meijer, L., 1999-** Inhibiteurs chimiques des kinases dépendantes des cyclines. recherche et applications thérapeutiques potentielles. *Med Sci.* (pp.496-503).
- ❖ **Byun, H.J., Hong, I.K., Kim, E., Jin, Y.J., Jeoung, D.I., Hahn, J.H., Kim, Y.M., Parc, S.H., Lee, H., 2006-** Un variant d'épissage de CD99 augmente la motilité et de la MMP-9 expression de cellules de cancer du sein humain à travers les-AKT, ERK-, et les voies de signalisation AP-1 d'activation de JNK-dépendante.(pp. 34833-47).
- ❖ **Camara, C.H., 2006-** Etude des tumeurs osseuses dans le service de chirurgie orthopédique et traumatologie de l'hôpital Gabriel Touret. Thèse de doctorat. Université de Bamako, Faculté de médecine de pharmacie et d'Odonto-Stomatologie. Mali. (pp. 86).
- ❖ **Cayrol, C., Ducommun, B., 1997-** Interaction entre l'inhibiteur des kinases dépendantes des cyclines p21 et le PCNA. un lien entre un cycle cellulaire. la réplication et la réparation de l'ADN. *Med Sci.* (pp. 1259-65).
- ❖ **Chen, J., Jackson, P.K., Kirschner, M.W., Dutta, A., 2003-** Separate domains of p21 involved in the inhibition of Cdk kinase and PCNA. *Nature.* (pp. 386-8).
- ❖ **Coinre, J.M., 1997-** Ewing'ssarcoma. In *Forest Meditor orthopedic surogi-col pathology.* Edinburgh:churcil livingstome. (pp. 441-59).
- ❖ **Cotterill, S.J., Ahrens, S., Paulussen, M., Ju`rgens, H.F., Vou`te, P.A., H. Gadner, H., et Craft, A.W., 2000-** Prognostic factors in Ewing's tumor of bone. analysis of 975 patients from the European Intergroup Cooperative Ewing's Sarcoma Study Group. *J. Clin. Oncol.* (pp. 3108-3114).
- ❖ **D'Andon, A., Gilles Vassa, Odile Oberlin, Olivier Hartmann, 2004-** Institut Gustave-Roussy. Les tumeurs osseuses.
- ❖ **David, E., 2008-** Rôle de l'oncostatine M dans la biologie de chondrosarcomes et sarcome d'Ewing. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Nantes. Faculté de pharmacie. (pp. 10).
- ❖ **De Alava, E., Panizo, A., Antonescu, C.R., Huvos, A.G., Pardo-Mndan, F.J., Barr, F.G., Ladanyi, M., 2000-** Association of EWS-FLI1 type 1 fusion with lower proliferative rate in Ewing'sarcoma. *Am. J. Pathol.* (pp. 849-855).
- ❖ **Delattre, O., 2008-** Tumeurs d'Ewing, aspects génétiques et cellulaires. *Pathologie Biologie.* (pp.257-259).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ **Delloye, C.,** 2000- Les tumeurs osseuses. Louvain Med. (pp. 518-524).
- ❖ **Deng, C., Zhang, P., Harper, J.W., Elledge, S.J., Leder, P.,** 2014- Mice lacking p21 undergo normal development. but are defective in G1 checkpoint control. Cell. (pp. 675-84).
- ❖ **Delattre, O., Aurias, A., Stern, M.H., Camonis, J., Mehta-Grigori, F., Moreau-Gachelin, F.,** 2007- Génétique et Biologie des Tumeurs de l'Enfant. GENETIQUE ET BIOLOGIE DES CANCERS.
- ❖ **Dubousset, J., Forest, M., Tomeno, B.,** 2001- Tumeurs des os. Généralités diagnostiques (biopsie et anatomie pathologique). (pp. 14-700).
- ❖ **Esiashvili, N., Goodman, M., Marcus, RB Jr.,** 2008- Changes in incidence and survival of Ewing sarcoma patients over the past 3 decades. Surveillance Epidemiology and End Results data. J Pediatr Hematol Oncol. (pp. 425-30).
- ❖ **Fellinger, E.J., Garin-Chesa, P., Triche T.J., Huvos, A.G., Rettig, W.J.,** 2009- Immunohistochemical analysis of Ewing's sarcoma cell surface antigen p30/32(mic2). (pp.317–25).
- ❖ **Fellinger E.J., Garin-Chesa, P., De angelis, P., Lane, J.M., Rettig, W.J.,** 2009- Biochemical and genetic characterization of the HBA71 Ewing sarcoma. Cancer Res. (pp. 336-340).
- ❖ **Folpe, A.L ., Goldblum, J.R., Rubin, B.P., Shehata, B.M., Liu, W., Dei Tos, A.P., Weiss, S.W.,** 2005- Morphologic and immunophenotypic diversity in Ewing family tumors. a study of 66 genetically confirmed cases. (pp. 1025-33).
- ❖ **Gu, M., Antonescu, C.R., Guiter, G., Huvos, A.G., Ladanyi, M., Zakowski, M.F.,** 2000- Cytokeratin immunoreactivity in Ewing's sarcoma. prevalence in 50 cases confirmed by molecular diagnostic studies. Am J Surg Pathol. (pp. 410-6).
- ❖ **Gomez, B., Bouvier, C., Decouvlaere, V., Larousserie, F., Aubert, S., Leroy, X., Guinebretiere, J.M., Coulomb, A., Cassagnau, E., De muret, Audard, V., Marie, B., De pinieux, G.,** 2011- Rôle du pathologiste dans la prise en charge des tumeurs osseuses primitives malignes. ostéosarcomes et tumeurs de la famille Ewing après traitement néoadjuvant = Place of the pathologist in the management of primary bone tumors (osteosarcoma and Ewing's family tumors after neoadjuvant treatment. (pp. 69).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ **Grier, H., Krailo, M.D., Tarbell, N.J., Link, M.P., Frayer, C.J.H., Pritchard, D.J., Gebhardt, M.C., Dickman, P.S., Perlman, E.J., Meyers, P.A., Donalson, S.S., Moore, S., Rausen, A.R., Vietti, T.J., Miser, J.S.,** 2003- Addition of ifosfamide and etoposide to standard chemotherapy for Ewing's sarcoma and primitive neuroectodermal tumor of bone. *N. Engl. J. Med.* (pp. 348-694).
- ❖ **Hahm, K.B., Cho, K., Lee, C., Im, Y.H., Chang, J., Choi, S.G., Sorensen, P.H., Kim, S.J.,** 1999- La répression du gène codant pour le récepteur de TGF- β de type II est un objectif majeur de l'EWS-FLI1 oncoprotéine. (pp. 222-7).
- ❖ **Huvos, A.G.,** 1991- Ewing's sarcoma. In *Huvos AG*. Philadelphie. WB Sanders. (pp. 523-52).
- ❖ **Horbelt, D., Denkis, A., Knaus, P.,** 2012- A portrait of Transforming Growth Factor β superfamily signalling. *Background matters. Biochem. Cell Biol.* (pp. 469-474).
- ❖ **Jawad, MU., Cheung, MC., Min, ES., Schneiderbauer, MM., Koniaris, LG., Scully, SP.,** 2009- Ewing sarcoma demonstrates racial disparities in incidence-related and sex-related differences in outcome. an analysis of 1631 cases from the SEER database. (pp. 1973-2005).
- ❖ **Juergens, C., Weston, C., Lewis, I., Whelan, J., Paulussen, M., Oberlin, O., Michon, J., Zoubek, A., Juergens, H., Craft, A.,** 2006- Safety assessment of intensive induction with vincristine, ifosfamide, doxorubicin, and etoposide (VIDE) in the treatment of Ewing tumors in the EURO-E.W.I.N.G. 99 clinical trial. (pp. 22-9).
- ❖ **Jurgens, H., Exner, U., Gardner, H., Harms, D., Michaelis, J., Sauer, R., Treuner, J., Voute, T., Winklmann, W., Winkler, k.,** 2014- Proton Radiotherapy for Pediatric Sarcoma. *Cancer.* (pp. 61-32).
- ❖ **Kumar, S., Pack, S., Kumar, D., Walker, R., Quezado, M., Zhuang, Z., Meltzer, P., Tsokos, M.,** 2003- Detection of EWS-FLI-1 fusion in Ewing's sarcoma/peripheral primitive neuroectodermal tumor by fluorescence in situ hybridization using formalin-fixed paraffin-embedded tissue. (pp. 324-30).
- ❖ **Kovar, H., Aryee, D.N., Jug, G., Henöckl, C., Schemper, M., Delattre, O., Thomas, G., Gardner, H.,** 1996- EWS/FLI-1 antagonists induce growth inhibition of Ewing tumor cells in vitro. *Cell Growth Differ.* (pp. 429-37).
- ❖ **Libbey, J.,** 2010- les cibles membranaires de la cellule tumorale .Thérapie ciblée des cancers.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ **Leflot, L., Ducou le pointe, H., Lenoir, M., Ariche-Maman, S., Montagne, J.P.,** 2005- Bonnes pratiques en imagerie dans les tumeurs osseuses EMC-Rhumatologie Orthopédie. (pp. 59–79).
- ❖ **Llombart-Bosch, A., Machado, I., Navarro, S., Bertoni, F., Bacchini, P., Alberghini, M., Karzeladze, A., Savelov, N., Petrov, S., Alvarado-Cabrero, I., Mihaila, D., Terrier, P., Lopez-Guerrero, J.A., Picci, P.,** 2009- Histological heterogeneity of Ewing's sarcoma/PNET. an immunohistochemical analysis of 415 genetically confirmed cases with clinical support. (pp. 397–411).
- ❖ **Mascard, E., Gaspar, N., Guinebretiere, J.M.,** 2012-Sarcome d'Ewing. *Encycl. Méd. Chir. Appareil locomoteur.* (pp. 1-13).
- ❖ **Mackintosh, C., Madoz-Gúrpide, J., Ordóñez, J.L., Osuna, D., Herrero-Martin, D.,** 2010- The molecular pathogenesis of Ewing's sarcoma. *Cancer Biol.* (pp.655-667).
- ❖ **Maheshwari, A.V., Cheng, E.Y.,** 2010- Ewing sarcoma family of tumors. *J Am Acad Orthop Surg.* (pp. 94-107).
- ❖ **Marec-berard, P., Delafosse, C., Foussat, C.,** 2005-Douleurs et tumeurs osseuses malignes de l'enfant et de l'adolescent. *Arch, Pédiatr.* (pp. 191-198).
- ❖ **Mascard, E., Gaspar, N., Guinebretiere, J.M.,** 2012- Sarcome d'Ewing. *Encycl.Méd. Chir. Appareil locomoteur.* (pp. 1-13).
- ❖ **Mazabraud, A.,** 1994- Sarcome d'Ewing, neuroépithéliome et tumeur d'Askin. In: *Anatomie pathologique osseuse tumorale. experience personnelle.* Springer-Verlag. (pp. 199-217).
- ❖ **Merieb, E.N.,** 2000- Biologie humaine. anatomie et physiologie. édition du nouveau pédagogique. Inc. Canada. (pp.111-151).
- ❖ **Muscolo, D.L., Campaner, G., Aponte-Tinao, L.A., Ayerza, M.A., Santini-Araujo, E.,** 2003- Epiphyseal primary location for osteosarcoma and Ewing sarcoma in patients with open physis. (pp. 542-5).
- ❖ **Oberlin, O.,** 2003- Euro-E.W.I.N.G 99 European Ewing tumor Working Initiative of National Groups.
- ❖ **Peersman, B., Vanhoenacker, F.M., Heyman, S., Van Herendael, B., Stam, M., Brys, P., Verstraete, K.L., Samson, I., Sybers, J., Van Dyck, P., Parizel, P.M., De Schepper, A.M.,** 2007-Ewing's sarcoma. imaging features. *JBR-BTR.* (pp. 368-76).
- ❖ **Randall, L., Calvert, G., Spraker, H., Lessnick, S.,** 2011-MD. Les Sarcomes d'Ewing ESUN.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ **Riggi, N., Suval, M.L., De vito, C., Provero, P., Stehle, J.C., Baumer, K., Cironi, L., Janiszwska, M., Petricevic, T., Suva, D., Tarcier, S., Joseph, J.M., Guillo, L., Stamenkovic, I., 2010-** EWS-FLI-1 modulated m_i RNA₁₄₅ and SOX₂ expression to initiate mesenchymal stem cell reprogramming to word Ewing sarcoma cancer stem cells. *Genes Dev.* (pp. 916-32).
- ❖ **Randall, L., George, C., Spraker, H., Lessick, Stephen, 2011-** Sarcome ‘Ewing, Cancer Institue Center , University of Utah.
- ❖ **Ross, K.A., Smyth, N.A., Murawski, C.D., Kennedy, J.G., 2013-** The biology of Ewing sarcoma. (pp. 759-725).
- ❖ **Sales de gauzy, J., Darodes, Ph., Cahuzac, J., Lebarbier, P., 2004-** Les tumeurs malignes de l'enfant. Tumeurs osseuses malignes. Tumeurs des tissus mous malignes et agressives. (pp. 55-60).
- ❖ **Saylors, R.L., Stewart, C.F., Zomboni, W.C., Wall, D.A., Bell, B., Stine, K.C., Vietti, T.J., 2005-** Has chemotherapy reached its limits in pediatric cancers?.*Clin Oncol.* (pp. 16-945).
- ❖ **Saylors, R.L., Stine, K.C., Sullivan,J., Kepner,J.L., Wall, D.L., Bernstein, M.L., Harris, M.B., Hayashi, R., Vietti,T.J., 2001-**J.Clin.Oncol. (pp.19-3463).
- ❖ **Scotlandi, K., Baldini, N., Cerisano ,V. , Manara, M.C., Benini, S., Serra, M., Lollini, P.L., Nanni, P., Nicoletti, G., Bernard G , Bernard, A. , Picci, P ., 2000-** CD99 engagement: une stratégie thérapeutique efficace pour les tumeurs d'Ewing. (pp. 5134-42).
- ❖ **Shian, Y., Massagué, J., 2003.** Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus. *Cell.* (pp. 685–700).
- ❖ **Simon, M., 2006-**Tumeurs osseuses malignes.Faculté de médecine de strasbourg. Polycopie. module 10-Cancérologie Clinique Onco-Hématologie. (pp.260-266).
- ❖ **Stewart, Z.A., Mays, D., Pientenpol, J.A., 2012-**Defective G1-S cell cycle checkpoint function sensitizes cells to microtubule inhibitor-induced apoptosis. *Cancer Res.* (pp. 3831-7).
- ❖ **Toomey, E.C., Schiffman, J.D., Lessnick, S.L., 2010-**Recent advances in the molecular pathogenesis of Ewing's sarcoma. (pp. 4504-4516).
- ❖ **Waldman, T., Lengauer, C., Kinzler, K.W., Vogelstein, B., 2010-** Uncoupling of S phase and mitosis induced by anticancer agents in cells lacking p21. *Nature.* (pp.713-6).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ **Whang-Peng, J., Triche, T.J., Knutsen, T., Miser, J., Kao-Shan, S., Tsai, S., Israel, M.A., 2009-** Cytogenetic characterization of selected small round cell tumors of childhood. *Cancer Genet Cytogenet.* (pp. 185–208).
- ❖ **Zhao, L., Hayes, K., Van Fleet, T., 2003-** Detection of a novel reciprocal $t(16;22)(q11.2;q12)$ in a Ewing sarcoma. *Cancer Genet. Cytogenet.* (pp. 55-57).

ANNEXE I



Automate



Appareille de l'inclusion



Etuve



Microtome



Bain marrie



Cassettes et moules

Congélateur de type ENIEM



Microscope



Plaque chauffante



Porte lames et lamelles



Colorations, Anticorps et réactifs



Micropipette



Dako pen

ANEXE II

Tableau I : Principales cibles du facteur de transcription EWS-FLI1

D'après : Mackintosh *et al*, 2010.

Cibles directes	Surexpression	UPP1, ID2, TERT, PTPN13, PLD2, MK-STYX, GLI1, Aurora A et B.
	Inhibition	P21/CDKN1A, TGFβR2, IGFBP3.
Cibles indirectes	Surexpression	MFNG, UBE2C, CCND1, NEK2, MYC, PIM3, NKX2-2, CCK, CAV1, CD99, VEGF-A, IGF1/IGF1R, PBK, DAX1/NROB1.
	inhibition	P27/CDKN1B, CDKN1C, ZYX, NOTCH-P53, Trombospondin 1et 2.

Tableau IV : Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing en fonction de l'âge

Classes d'âge	[0-20]	[21-40]	[41-60]	[61-80]	Total
Effectifs	32	6	1	0	39
Pourcentage (%)	82,05	15,38	2,56	0	100

Tableau V : Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing en fonction du sexe

Sexe	F	H	Total
Effectifs	16	23	39
Pourcentage (%)	41	59	100

Tableau VI : Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing en fonction du siège

Siège	Eminence	molles	Fémur	Poumon	cage thoracique	Hémi-façon gauche	Cubitus	Iliaque	Tibia	péroné	bassin	Péritoine	Lombaire	Humérus	Cotes	Epaule droite	Clavicule	Crane	Total		
Nombre des cas	1	8	6	3	1	1	1	2	2	2	1	4	1	1	1	1	3	1	1	1	39
(%)	2,60	20,50	15	8	2,56	2,56	2,56	5	5	2,56	10	2,56	2,56	8	2,56	2,56	8	2,56	2,56	20,5	100

Tableau VII : Répartition du sarcome d'Ewing selon sa localisation osseuse et extra-osseuse

Localisation	SUR L'OS																		Extra-Osseux			
Siège	Eminence	Fémur	cage thoracique	Hémi-façon gauche	Cubitus	Iliaque	Tibia	péroné	bassin	Lombaire	Humérus	Cotes	Epaule droite	Clavicule	Crane	Poumon	Péritoine	molles	Total			
Nombre des cas	1	6	1	1	1	2	2	1	4	1	3	1	1	1	1	3	1	8	39			
(%)	2,6	15	2,56	2,56	2,56	5	5	2,56	10	2,56	8	2,56	2,56	2,56	2,56	8	2,56	20,5	100			

**Tableau VIII : Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing/
Immunomarquage CD99**

CD99	positive	négative	ininterprétables	total
nombre	22	0	17	39
Pourcentage (%)	56	0	44	100

**Tableau XIV : Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing/
immunomarquage NSE**

NSE	positive	négative	ininterprétables	total
nombre	5	2	32	39
Pourcentage (%)	13	5	82	100

**Tableau XVI : Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing/
immunomarquage Chromogranine**

Chromogranine	positive	négative	ininterprétables	total
nombre	2	2	35	39
Pourcentage (%)	5	5	90	100

**Tableau XVIII : Répartition des patients porteurs du sarcome d'Ewing/
immunomarquage Vimentine**

Vimentine	positive	négative	interprétables	total
nombre	3	3	35	39
Pourcentage (%)	2	8	90	100

GLOSSAIRE

Anatomie pathologique : (ou anatomo-pathologie) est la discipline médicale qui permet la reconnaissance des anomalies des cellules et des tissus d'un organisme, appelées lésions, pour effectuer le diagnostic des maladies, porter un pronostic et, plus généralement, en comprendre les causes et les mécanismes

Antigène : toute substance étrangère à l'organisme capable de déclencher une réponse immunitaire visant à l'éliminer.

Apoptose : ou la mort cellulaire programmée est le processus par lequel des cellules déclenchent leur auto-destruction en réponse à un signal.

Bassin : partie la plus inférieure du squelette du tronc du corps; appelé aussi pelvis.

Biologie moléculaire : étude des molécules porteuses du message héréditaire (ADN, ARN), de leur structure, synthèse, altérations (mutations) ou transformation.

Biopsie : consiste à prélever une toute petite partie d'un organe ou d'un tissu afin d'effectuer des examens médicaux. Elle peut être effectuée au moyen d'une aiguille, par frottis ou par endoscopie sur tout type de tissu humain.

Cancer : néoplasie malin et invasif qui peut se propager dans tout l'organisme et à toutes les structures.

Cancérogénèse : ensemble de phénomènes ou d'événements qui conduisent à la transformation d'un tissu physiologique (normal) en tissu cancéreux.

Cellule : unité de base biologique des organismes vivants ; comprend un noyau et divers organites délimités par une membrane.

Cellules mésenchymateuses : sont des cellules souches présentes dans le mésenchyme de l'embryon. Elles sont capables de se différencier en de nombreux types cellulaires.

Cubitus : est un os long de l'avant-bras, situé au niveau de sa face interne.

Chirurgie : une spécialité de la médecine, et est pratiquée par un chirurgien, regroupe toutes les disciplines médicales qui nécessitent une incision ou une suture, elle est pratiquée en bloc

opératoire stérile, par une équipe composée d'un chirurgien, d'un médecin anesthésiste, d'une infirmière anesthésiste et d'autres professionnels de santé.

Chimiothérapie adjuvante : est destinée à augmenter ou stimuler les effets positifs d'une autre forme de traitement, comme la chirurgie ou la radiothérapie.

Chimiothérapie néo-adjuvante : est un prétraitement administré afin de réduire la taille d'une tumeur cancéreuse (maligne) avant une intervention chirurgicale (et donc limiter l'exérèse) ou une radiothérapie (augmenter l'efficacité).

C-Myc : est un gène de catégorie proto-oncogène qui est sur-exprimé dans certains cancers humains. Quand il est soumis à des mutations ou à une sur-expression, il stimule la prolifération des cellules et se conduit comme un oncogène. Le gène MYC produit un facteur de transcription qui régule l'expression de 15 % de tous les gènes en se liant aux séquences Enhancer Box (les E-boxes) et en recrutant des enzymes capables d'acétyler les acides aminés lysine des histone (histone acetyltransferase). Myc appartient à la famille de facteur de transcription myc, qui contient aussi les gènes n-myc et l-myc.

Crâne : ensemble d'os entourant et protégeant l'encéphale.

Crête neurale : est une population de cellules transitoires et multipotentes générées à partir de la région la plus dorsale du tube neural. Ces cellules migrent dans l'ensemble de l'embryon au cours du développement et donnent naissance à une grande diversité de types cellulaires chez l'adulte.

Diagnostic : est le raisonnement menant à l'identification de la cause (l'origine) d'une défaillance.

Diaphyse : partie médiane d'un os long.

Diapédèse : est le mécanisme par lequel un leucocyte s'insinue entre les cellules endothéliales d'un capillaire sanguin en réponse à des signaux chimiques inflammatoires.

Endothélium : est la couche la plus interne des vaisseaux sanguins.

Epiphyses : sont les extrémités d'un os long.

Exérèse : est une intervention chirurgicale consistant à retirer de l'organisme un élément qui lui est nuisible ou inutile (organe, tumeur, corps étranger, etc.).

Étiologie : (ou étiopathogénie) désigne l'étude des causes et facteurs d'une maladie et l'ensemble de ces causes elles-mêmes.

Fémur : est l'os le plus long du squelette humain, il se situe au niveau de la cuisse entre le bassin et le genou, constitué de deux épiphyses, rejointes par une longue diaphyse.

Gène : unité de transmission héréditaire de l'information génétique. Un gène est un segment d'ADN (ou d'ARN chez les virus), situé à un locus précis sur un chromosome, qui comprend la séquence codant pour une protéine, et les séquences qui en permettent et régulent l'expression.

Glie : Les cellules gliales se situent dans le système nerveux. Elles entourent les neurones.

Hématine-éosine : coloration histologique de routine associant un colorant nucléaire (l'émateine qui colore en violet les noyaux) et un colorant cytoplasmique (l'éosine qui colore en rose les cytoplasmes et la matrice extra cellulaire).

Histologie : analyse des tissus au microscope.

Humérus : est un os du bras.

Immunothérapie : Utilisés en cancérologie, les traitements par immunothérapie n'agissent pas directement sur les cellules malignes. Ils ciblent au contraire le système immunitaire dans son ensemble. Objectif : le stimuler pour renforcer les défenses du malade contre les cellules cancéreuses.

Insulin-like growth factor binding protein-3 : également connu sous le nom **IGFBP3**, est une protéine qui, chez l'homme, est codée par le gène IGFBP3. Ce gène est un membre du facteur de croissance de liaison à la protéine (insuline-like IGFBP) et code pour une protéine avec un domaine d'IGFBP et un domaine de type I de la thyroglobuline. La protéine forme un complexe ternaire avec le facteur de croissance de la sous-unité acide-labile de type insuline (IGFALS) et, soit le facteur de croissance analogue à l'insuline (IGF) I et II. Sous cette forme, il circule dans le plasma, ce qui prolonge la demi-vie des IGF et la modification de leur interaction avec les récepteurs de surface cellulaire.

Mandibule : est un os impair formant la mâchoire inférieure, sa localisation est étroitement liée au crâne avec lequel elle s'articule

Mésenchyme : désigne un tissu de soutien embryonnaire à l'origine de diverses formes de ces tissus chez l'adulte.

Métastase : est une croissance d'un organisme pathogène ou d'une cellule tumorale à distance du site initialement atteint par voie sanguine ou lymphatique.

Métaphyses : sont des régions intermédiaires des os situées entre la diaphyse et les épiphyses.

Mutation : modification brusque et irréversible du matériel génétique aboutissant à une variation de la séquence d'ADN.

NKX2-2 : Un gène situé sur le chromosome 20p11.22 qui code pour un activateur de transcription requis pour le maintien de l'expression NEUROD1 dans le pancréas endocrine. NKX2-2 peut être impliqué dans la spécification des limites neuromériques diencephaliques et le contrôle de l'expression des gènes pendant le guidage axonal. Il associe à la chromatine au niveau des régions promotrices NEUROD1.

NROB1 : Ce gène code pour une protéine qui contient un domaine de liaison à l'ADN. La protéine codée agit comme un dominant négatif régulateur de transcription, qui est médiée par le récepteur de l'acide rétinoïque.

Lomoplastes : sont les deux os, larges, plats et de forme vaguement triangulaire, se trouvant dans la partie supérieure du dos, derrière les épaules.

Ostéosarcome : est une tumeur cancéreuse se développant au niveau d'un os.

Parties molles : tissus situés autour des os comme la peau, la graisse située sous la peau, les muscles et les tissus qui les entourent, les vaisseaux, ... par opposition aux os.

Proxymase : est une enzyme de type oxydase qui typiquement catalyse une réaction de la forme : $AH_2 + H_2O_2 \rightarrow A + 2 H_2O$. Dans l'organisme, les peroxydases décomposent notamment les composés peroxydases toxiques. En chimie et biochimie, les peroxydases sont très utilisées comme objet d'étude et réactifs pour des synthèses. La peroxydase du raifort (HRP) est notamment largement utilisée en biotechnologie comme réactif de détection dans les immuno-essais.

Péroné : est le plus petit des deux os de la jambe. Il s'articule à chaque extrémité avec le tibia, qui lui est parallèle.

Radius : constitue un élément du squelette de l'avant-bras, localisé au niveau de la partie externe.

Radiothérapie : est une méthode de traitement locorégional des cancers, utilisant des radiations pour détruire les cellules cancéreuses en bloquant leur capacité à se multiplier. L'irradiation a pour but de détruire toutes les cellules tumorales tout en épargnant les tissus sains périphériques.

Récidive : Apparition d'un nouveau cancer identique à une première maladie qui avait été guérie. La rechute ou la récurrence indique plus précisément une reprise de la maladie avant qu'elle n'ait été déclarée guérie.

Régions pseudo-autosomiques : sont des portions des chromosomes sexuels (ou gonosomes) homologues entre les deux chromosomes sexuels. Il existe deux régions pseudo-autosomiques chez chaque individu XX ou XY puisqu'elles se trouvent sur le chromosome Y et sur le chromosome X. Cette région permet la ségrégation correcte lors de la méiose chez les mâles.

Sarcome : tumeur embryonnaire développée à partir d'un tissu issu du mésoderme (tissu conjonctif, tissu de soutien présent dans l'organisme), donc de localisation ubiquitaire, possédant la caractéristique d'être composée de cellules en prolifération (multiplication) très active et ne donnant naissance qu'à des éléments qui ne sont pas complètement développés, à l'image du tissu embryonnaire.

Sarcome synoviale : cancer qui se produit habituellement près des articulations du bras, du cou ou de la jambe. Il est l'un des sarcomes des tissus mous.

Scintigraphie : est une technique d'imagerie utilisant des substances radioactives que l'on injecte à l'intérieur d'un organisme en quantité infime, et qui ont la propriété de se fixer sur les organes ou les tissus du patient.

Thorax osseux : os qui forment la charpente du thorax ; comprenant le sternum, les côtes et les vertèbres thoraciques.

Tissus conjonctif : sont des tissus dont les cellules sont séparées par de la matrice extracellulaire, possède une origine mésodermique.

Tibia : os long du devant de jambe.

Tumeur primitive : la naissance et la prolifération de cellules cancéreuses dans un organe.

Tumeur maligne : ou un cancer est une maladie caractérisée par une prolifération cellulaire anormalement importante au sein d'un tissu normal de l'organisme.

Tumeur indifférenciée : est une tumeur dans laquelle on ne reconnaît pas la morphologie des cellules du tissu originel.

Tumeur neuro-ectodermique : tumeur dérivée des cellules des crêtes neurales. Son point de départ est la moelle osseuse ce qui explique sa répartition topographique, essentiellement les os plats (squelette axial) qui sont les sites physiologiquement les plus riches en moelle, et la partie diaphysaire des os longs.

Translocation : est une mutation génétique caractérisée par l'échange réciproque de matériel chromosomique entre des chromosomes non homologues n'appartenant pas à la même paire.