

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la recherche Scientifique

Université SAAD DAHLEB -BLIDA

Faculté Des Sciences Agro-vétérinaires et Biologiques

Département de Biologie



MÉMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue d'obtention du Diplôme de MASTER en biologie

Option : Biosignalisation Cellulaire et Moléculaire – Immunologie

Thème

Place de l'immunohistochimie dans le diagnostic des sarcomes

Présenté par :

NABTI ihsen

Soutenu le : 26/09/2013 devant le jury :

Mr. BESSAAD A.	MAA	USDB	President
Mme AMOKRANE A.	MAA	USDB	Examinatrice
Mme DJAZOULI F/Z.	MAA	USDB	Examinatrice
Mme LAMOUTI	Professeur	CHUFB	Promotrice

Promotion 2012-2013

Remerciement



Avant toute chose, nous remercions « ALLAH » le tout puissant, le clément, le Miséricordieux qui nous a permis de réaliser ce modeste travail, qui nous a ouvert les portes du savoir et qui nous a donné la force et la volonté et la patience de poursuivre nos études.

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au laboratoire d'anatomopathologie au niveau de centre Franz fanon CHU de Blida.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos remerciements à :

***Pr LAMOUTI**, notre promotrice, de nous avoir proposé cet intéressant sujet ainsi nous a fait l'honneur de bien vouloir encadrer et diriger ce travail et pour sa compréhension, ses orientations instructives, sa disponibilité tout au long de notre travail qui ont été à la base de la réalisation de ce projet et cela malgré ces nombreuses occupations. Nous lui exprimons notre connaissance et respectueuse gratitude.*

***Monsieur BESSAAD A.** d'avoir accepté de présider le jury de notre travail.*

***Madame AMOKRANE A.** pour l'honneur qu'elle m'a fait d'avoir bien voulu accepter d'examiner ce travail.*

***Madame DJAZOULI F/Z.** pour l'honneur qu'elle m'a fait d'avoir bien voulu accepter d'être mon examinatrice.*

***Dr IFAIDI, Dr AHMED ALLAL** pour leurs aide, leurs conseils tant au niveau professionnel que personnel, et leurs bonnes humeurs. Merci de votre disponibilité et de votre écoute.*

A tous mes professeurs qui m'ont aidé à m'instruire durant toute ma vie scolaire et universitaire

Mes remerciements vont également à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce mémoire





Dédicace

A mes chers parents Je ne trouverai de mots assez forts pour vous exprimer mon amour et ma gratitude. Pour leur encouragement, leur amour, leur tendance durant toute ma vie.

A mes chers cousins Aimad, Abdelmalek, Islem

A ma chère cousine Maroua

A mes tantes F.Zohra, Nabila, Dahbia

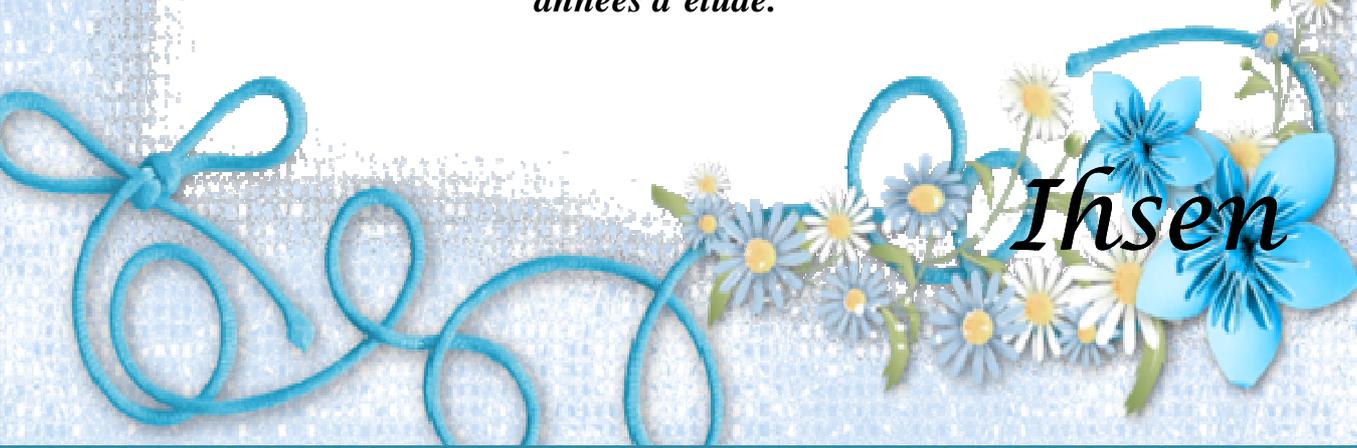
A mes oncles Ahmed, Abdelkader, El Amri

A mes chères amies, Islem, Nassima, Ilhem, Nessrin, Soumia

A mes chères amies du groupe de BCMI Chérifa, Chafia,

Feriel, Radia, Zineb, Sarra, Meriem, Lamia, Sabrin, Sabrina, Lilia

Et à tous ceux qui me sont chers,... Sans lesquels rien n'aurait été possible. Que ce mémoire soit le signe d'amour et de reconnaissance infinie pour leur affection leur soutien précieux, leur encouragement au cours de toutes mes années d'étude.



Ihsen

RESUME

Les sarcomes forment un groupe hétérogène de cancers issus de la transformation néoplasique des cellules de tissu conjonctif, sont des tumeurs rares, de diagnostic difficile. dans ce contexte, nous nous sommes proposé de mettre en évidence l'intérêt de l'immunohistochimie dans le diagnostic des sarcomes par l'utilisation de différents type d'anticorps tel que : anti vimentine, anti desmine, anti-CD117, anti actine muscle lisse, anti-CD99 etc..... ,

De Janvier 2013 à Mai 2013, nous avons exploité 48 cas de sarcomes diagnostiqués dans le service d'anatomie cytopathologie du CHU Franz Fanon à Blida. L'étude réalisée sur les 48 patients a montré que les sarcomes touchent le sexe masculin (52,08%) plus que le sexe féminin (48,92%). La répartition de nos patients montre deux pics de fréquence entre 0 et 39 chez les hommes, et entre 60 et 69 ans chez les femmes, avec prédominance masculine.

L'étude anatomopathologique réalisé sur les prélèvements des 48 patients a révélé que les sarcomes osseux sont moins fréquent =48,92% par rapport aux sarcomes de tissu mous qui sont plus fréquent =52,08% , la localisation de ce type de cancer est varies, la principale localisation était au niveau des membres inferieurs avec 30 cas (60,41%), tandis que les sous types les plus fréquents sont l'ostéosarcome (22,91%) suivi par le liposarcome et le chondrosarcome (18,75%).

L'étude immunohistochimique a montré que chaque type exprime des marqueurs spécifiques.

Mots clés : sarcome ; marquage immunohistochimique ; histologie.

ABSTRACT

Sarcomas are a heterogeneous group of cancers arising from the neoplastic transformation of cells of connective tissue, are rare tumors, that the diagnosis is difficult and the prognosis is traditionally deplorable, In this context, we have proposed to bring out the value of immunohistochemistry in the diagnosis of sarcoma by using different type of antibody such as: anti-vimentin, anti-desmin, anti-CD117, anti actin smooth muscle, anti-CD99.

From January 2013 to May 2013, we operated 48 cases of sarcomas diagnosed in service of anatomy cyto pathology CHU Frantz Fanon in Blida. The study was performed on 48 patients showed that sarcomas affect the male (52.08%) than females (48.92%). The distribution of our patients shows two peaks in frequency between 0 and 39 for men and between 60 and 69 years for women, with a male predominance.

The anatomopathological study formed on the levies of 48 patients revealed that bone sarcomas are less frequent = 48.92%) compared to soft tissue sarcomas are more frequent =52.08%, the location of this type of cancer is varied, the main location was at lower member with 30 cases (60.41%), while the most common subtypes are osteosarcoma (22.91%) followed by liposarcoma and chondrosarcoma (18, 75%).

Immunohistochemical study showed that each type expresses specific markers.

Keywords: sarcoma, Immunohistochemical marking, histology

الملخص

أورام الانسجة الضامة هي مجموعة غير متجانسة من السرطانات الناجمة عن التحول من الخلايا الورمية من النسيج الضام، هي أورام نادرة، في هذا السياق اقترحنا تسليط الضوء على القيمة المظهر الهستولوجي المناعي في تشخيص الأورام اللحمية باستخدام أنواع مختلفة من الأجسام المضادة مثل: ضد فيمانتين، ضد دسمين، ضد س د-117، ضد س د-99، ضد اكتين العضلة الملساء.

من يناير 2013 إلى مايو 2013، قمنا بدراسة 58 حالة مصابة بأورام لحمية والتي تم تشخيصها في قسم التشريح الباثولوجي للمركز الاستشفائي الجامعي فرانتز فانون بالبلدية . الدراسة على اجريت علي ال 48 مريض اظهرت ان الاورام اللحمية تمس الجنس الذكري (52.08%) اكثر من الجنس الانثوي (48.92%). توزيع مرضانا يظهر قمتين تردد ما بين 0 و 39 سنة بالنسبة للرجال و ما بين 60 و 69 سنة بالنسبة للنساء، مع غلبة الذكور .

الدراسة النسيجية التي أجريت على عينات ال 48 مريضا كشفت أن الأورام اللحمية العظمية هي أقل شيوعا =48.92% مقارنة مع الأورام اللحمية لانسجة الرخوة =52.08% و لهذا النوع من السرطان موقع متنوع ، و الموقع الرئيسي في الأطراف السفلى مع 30 حالة (60.41%)، بينما الانواع المنتشرة هي اوستيوسركوما (22.91%)، يتبعه الليبوسركوما و الكوندروسركوما (18.75%).

وقد أظهرت دراسة المظهر الكيميائي الهستولوجي المناعي ان كل نوع يظهر ملطخ محدد .

كلمات المفتاح : الأورام اللحمية، الوسم المناعي ، التشريح النظري .

LISTE DES ABREVIATIONS

Ac: Anticorps.

Ag: Antigène.

CD: Cluster de différenciation.

CDK: Cyclin-dependent kinase

CGH: l'hybridation génomique comparative par micro-array.

E2F: Factor binding E2 promoter

FISH: Fluorescence *in situ* hybridization

FNCLCC: Fédération nationale des centres de lutte contre le cancer

FS: Fibrosarcome

GIST: Gastro-intestinal stromal tumors

GR: Grossissement

H&E: Hématoxyline-Eosine.

IHC: Immunohistochimie.

LMS: léiomyosarcome.

LPS: Liposacome.

MDM2: Murine double minute 2

MFH: Malignant fibrous histiocyoma.

MPNST: Malignant peripheral nerve sheath tumor.

Nf1: Neurofibromin 1.

OS: Ostéosacome

PDGFRA: Alpha-type platelet-derived growth factor receptor

PNET: Primitive neuroectodermale tumeur

RB1: gène du rétinoblastome

RMS: Rhabdomyosarcome.

RT-PCR: reverse transcription-polymerase chain reaction

SO: Sarcome osseux

STM: Sarcome de tissu mous.

GLOSSAIRE

Anatomie pathologique : branche de la médecine qui se consacre à l'étude de la morphologie des processus morbides. **(Kernbaum et grunfeld, 2008).**

Angiosarcome : tumeur due à la prolifération de tissus dans les parois des vaisseaux sanguins ou lymphatiques. **(Kernbaum et grunfeld, 2008)..**

Biopsie : correspond au prélèvement d'un échantillon de tissus de l'organisme vivant dans le but de réaliser un examen microscopique. **.(Kernbaum et grunfeld, 2008)..**

Chondrosarcome : sarcome du tissu cartilagineux, qui siège surtout au voisinage du genou, formé d'une prolifération tumorale plus ou moins différenciée dont les cellules néoplasiques se dispersent dans une substance chondoïde, myxoïde ou œdémateuse. **(Kernbaum et grunfeld, 2008).**

Gènes suppresseurs de tumeur : gène dont le dysfonctionnement provoque l'apparition d'un cancer ; il s'agit généralement de gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire. **(Cailliez et Verreman ,2004)**

Léiomyosarcome : sarcome de tissu musculaire lisse.**(Kernbaum et grunfeld, 2008).**

Liposarcome : sarcome du tissu adipeux, rarement développé sur un lipome préexistant et généralement situé en profondeur.**(Kernbaum et grunfeld, 2008).**

Neurofibromatose de von Recklinghausen : est une maladie génétique, due à la présence d'une mutation (anomalie) dans le gène NF1, ce gène situé sur le chromosome 17, commande la production de neurofibromine, une protéine impliquée dans le contrôle de la prolifération des cellules.**(Panel et al., 2001)**

Ostéosarcome : tumeur primitive des os, survenant essentiellement pendant la période de croissance et siégeant préférentiellement sur la métaphyse des os longs.**(Kernbaum et grunfeld, 2008).**

Rétinoblastome bilatéral : Le rétinoblastome est une tumeur maligne de la rétine, d'origine génétique, RB1 est le gène du rétinoblastome, situé sur le bras long du chromosome 13. Il code pour une protéine suppresseur de tumeur qui contrôle le cycle cellulaire. Lorsque le gène est inactivé par mutation des deux allèles, la croissance cellulaire n'est plus contrôlée, ce qui mène à une prolifération cellulaire.**(Panel et al., 2001)**

Rhabdomyosarcome : sarcome de tissu musculaire strié, susceptible, dans certains cas donne des métastases ganglionnaires (contrairement aux autres sarcomes).(**Kernbaum et grunfeld, 2008**).

Sarcome d'Ewing : est une tumeur essentiellement osseuse correspondant à la forme indifférenciée des tumeurs neurectodermiques primitives périphériques.(**Taylor et al., 2005**)

Schwannome malin : est une tumeur du système nerveux périphérique qui se développe dans La gaine nerveuse (au dépend des cellules de Schwanne) formant une prolifération macroscopiquement lisse, arrondie et encapsulée. Il atteint habituellement les grands troncs nerveux, en particulier du membre supérieur.(**Kernbaum et grunfeld, 2008**).

Syndrome de Li-Fraumeni : est une forme héréditaire de cancer touchant l'enfant et l'adulte jeune, il est caractérisé par des mutations constitutionnelles du gène suppresseur de tumeur *TP53*.(**Panel et al., 2001**).

Syndrome de Werner : (SW) est un syndrome héréditaire rare caractérisé par un vieillissement précoce, caractérisé par Des mutations dans le gène WRN. Ce gène fournit des instructions pour la production de la protéine Werner, qui joue un rôle dans l'entretien et la réparation de l'ADN .(**Panel et al., 2001**)

Translocation : est une mutation génétique caractérisée par l'échange réciproque de matériel chromosomique entre des chromosomes non homologues, c'est-à-dire n'appartenant pas à la même paire. Elle se produit généralement lors de la méiose cellulaire.

Tumeur stromale : sont les tumeurs conjonctives les plus fréquentes du tube digestif.. Elles correspondent à des tumeurs mésenchymateuses exprimant la protéine KIT et associées dans la plupart des cas à une mutation activatrice de ce gène.(**Laurent ., 2006**).

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
<u>CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</u>	
I.1. Généralité.....	2
I.2. L'origine de la cellule sarcomateuse.....	2
I.3. Les facteurs de risques.....	6
I.4. Classifications histologique et moléculaire des sarcomes.....	7
I.5.Diagnostic.....	11
I.5.1. Les marqueurs les plus utilisés dans le diagnostic	11
I.6. Le grade	15
I.7. Traitement.....	16
<u>CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES</u>	
II.1.MATERIEL.....	17
II.1.1.Matériel non biologique.....	17
II.1.2.Matériel biologique.....	18
II.2.METHODES.....	18
II.2.1.Technique histopathologique.....	19
II.2.2.Technique immunohistochimique.....	20
<u>CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION</u>	
III.1.RESULTATS.....	24
III.1.1.Caractéristiques de la série.....	24
III.1.2.Résultat de l'histologie.....	28
III.1.3.Résultat de l'immunohistochimie.....	34

III.2.DISCUSSION..... 39

CONCLUSION..... 45

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : la pluripotence des cellules souches mésenchymateuses.....	2
Figure 02 : La phosphorylation du pRb par la cycline D1/Cdk4.....	4
Figure 03 : les différentes fonctions du MDM2.....	5
Figure 04 : La voie induite par p53 menant à l'apoptose.....	6
Figure 05 : rôles de MDM2 et de CDK4 dans la genèse tumorale.....	11
Figure 06 : Montage entre lame et lamelle.....	20
Figure 07 : Principe de l'immunohistochimie.....	21
Figure 08 : Répartition des cas en fonction de l'âge.....	24
Figure 09 : Répartition des cas selon le sexe.....	25
Figure 10 : Répartition des cas selon le siège anatomique du sarcome.....	25
Figure 11 : Répartition des cas selon le type histologique des sarcomes.....	26
Figure 12 : Répartition des cas selon le sous type histologique des sarcomes.....	27
Figure 13 : Aspect histopathologique d'un Rhabdomyosarcome .Coloration HE ; Gr×40 (Photo originale).....	28
Figure 14 : Aspect histopathologique d'un Ostéosarcome ostéoblastique .Coloration HE ; Gr×40 (photo originale).....	29
Figure 15 : Aspect histopathologique d'un Léiomyosarcome .Coloration HE ; Gr×40 (photo originale).....	29
Figure 16 : Aspect histopathologique d'un liposarcome myxoïde .Coloration HE ; Gr×10 (photo originale).....	30
Figure 17 : Aspect histopathologique d'un Angiosarcome .Coloration HE ; Gr×40 (photo originale).....	30
Figure 18 : Aspect histopathologique d'un liposarcome dédifférencier. Coloration HE ; Gr×40 (photo originale).....	31

Figure 19: Aspect histopathologique d'un schwannome malin .Coloration HE ; Gr×40 (photo originale).....	31
Figure 20: Aspect histopathologique d'un sarcome d'Ewing .Coloration HE ; Gr×40 (photo originale).....	32
Figure 21: Aspect histopathologique d'un chondrosarcome .Coloration HE ; Gr×40 (photo originale).....	32
Figure 22: Aspect histopathologique d'un Myxofibrosarcome .Coloration HE ; Gr×40 (photo originale).....	33
Figure 23: Aspect histopathologique d'un Dermatofibrosarcome de Darier et Ferrand .Coloration HE ; Gr×40 (photo originale).....	33
Figure 24 : Les résultats individuels pour chaque marqueur.....	34
Figure 25 : Immunomarquage des cellules lipoblastiques par l'utilisation d'anticorps anti MDM2 au niveau d'un liposarcome de haut grade, (A): Gr× 10 ; (B): Gr×40 (photo originale).....	36
Figure 26 : Immunomarquage des cellules tumorale par l'utilisation l'anticorps anti CD99 au niveau d'un sarcome d'Ewing Gr×10 . (Photo originale).....	36
Figure 27 : Immunomarquage des cellules tumorale par l'utilisation d'anticorps anti AML au niveau d'un Léiomyosarcome pléiomorphe Gr×10 (photo originale).....	37
Figure 28 : Immunomarquage des cellules tumorale par l'utilisation d'anticorps anti h-caldesmon au niveau d'un Léiomyosarcome Gr×10 (photo originale).....	37
Figure 29 : Immunomarquage des cellules tumorale par l'utilisation d'anticorps anti ps100 au niveau d'une tumeur stromale Gr×10 (photo originale).....	38
Figure 30: Immunomarquage des cellules tumorale par l'utilisation d'anticorps anti c-KIT (CD117) au niveau d'une tumeur stromale Gr×10 (photo originale).....	38

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Facteurs génétiques associés au développement des sarcomes.....	7
Tableau II : classification histologique des sarcomes selon l’OMS.....	8
Tableau III : Translocations des différents types de sarcomes.....	10
Tableau IV : Système de grade histologique de la FNCLCC.....	16

INTRODUCTION

Un tissu se définit comme un ensemble de cellules de même constitution et exerçant une même fonction. Les tissus conjonctifs sont des tissus qui ont pour principale fonction de servir de soutien et de protéger les autres tissus corporels. Ils sont localisés entre les différents organes et représentent une très grande partie du tissu cellulaire de l'organisme

Le tissu conjonctif est d'origine mésodermique, la cellule souche mésenchymateuse est une cellule pluripotente, elle est capable de se différencier en de nombreux types cellulaires : les adipocytes, les ostéoblastes, les chondrocytes, les fibroblastes, les tumeurs qui se développent à partir de cette cellule mésenchymateuse, on les appelle tumeurs d'origine mésenchymateuse ou « sarcome ».

Les sarcomes rassemblent un groupe de tumeurs rares et hétérogènes qui représentent environ 1 à 2 % de l'ensemble des tumeurs malignes (**Clark et al., 2005**). différents facteurs et différentes altération dans les voies de signalisation intervenants dans la formation de ce cancer (**Igor Matushansky et al., 2005**)

Cependant, au cours des dix dernières années, de nombreuses anomalies génétiques spécifiques ont été décrites, permettant une classification moléculaire, Cette classification a un impact important sur le pronostic et le traitement des patients. (**Coindre., 2010**), les nouvelles stratégies thérapeutiques développées pour le traitement de ces tumeurs suivent toutes ce même principe de ciblage spécifique des différents sous-types moléculaires et histologiques (**Blayet et al., 2006**).

L'objectif de notre travail est :

- Déterminer les différents types et sous types histologiques des sarcomes.
- Préciser la place des techniques d'immunohistochimie dans l'étude de ces cancers, assez rares, en pratique courante et en recherche.
- Mettre en évidence les marqueurs spéciaux pour chaque type de sarcome en utilisant l'analyse histologique de routine et l'analyse immunohistochimique.

La première partie de notre étude, les données bibliographiques, synthétise des notions générales sur les sarcomes.

La deuxième partie présente la méthodologie utilisée pour la réalisation de l'étude.

Les résultats obtenus sont présentés dans une troisième partie. Ils sont ensuite discutés, soulevant de nouvelles problématiques menant à l'établissement de nouvelles perspectives de recherche.

CHAPITRE I
DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

I.1. Généralité

Les sarcomes constituent un groupe hétérogène de tumeurs mésenchymateuses malignes qui se développent à partir des cellules du tissu conjonctif. (Ducimetière *et al.*, 2010). La cellule souche mésenchymateuse, est une cellule pluripotente, qui donne lieu à de nombreuses cellules différenciées, notamment les adipocytes, les cellules musculaires, des fibroblastes, les ostéocytes, les chondrocytes, des cellules neuronales et les cellules stromales, cellule est la plus probable de l'origine ultime de sarcome (Beverly, 2012). Les sarcomes sont des tumeurs rares ayant une répartition particulière par âge, représentant de 1 à 2 % des cancers de l'adulte et 15 % des cancers de l'enfant, et par sexe. Les types et sous-types histologiques sont variés avec plus de 50 catégories dans la dernière classification de l'OMS (Coindre, 2010).

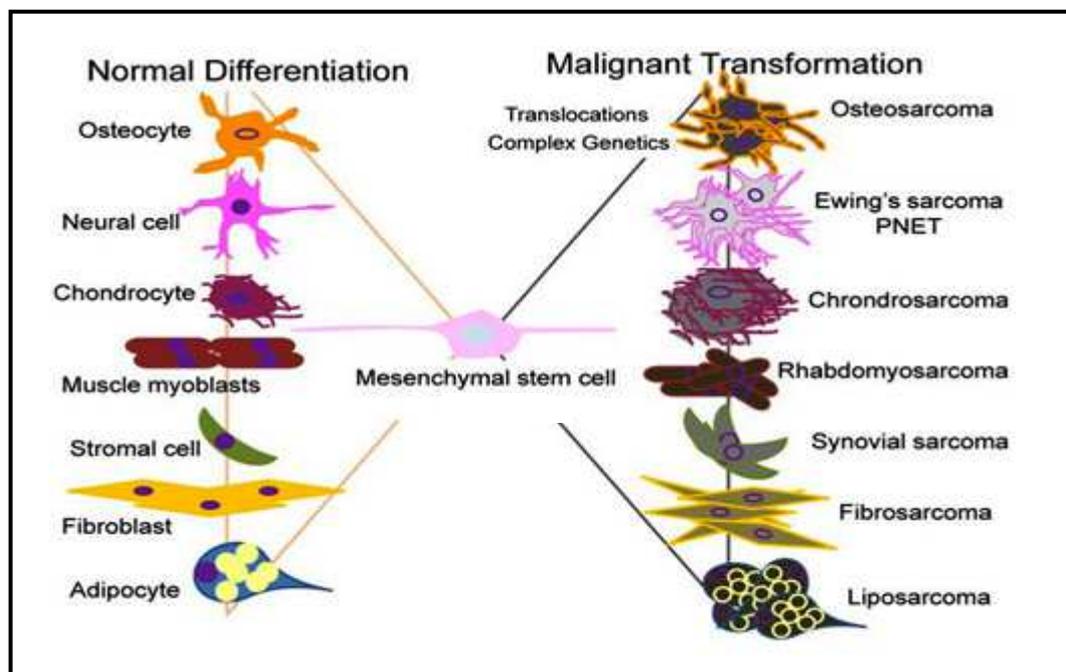


Figure 01 : la pluripotence des cellules souches mésenchymateuses (Beverly., 2012)

I.2. L'ORIGINE DE LA CELLULE SARCOMATEUSE

I.2.1. Sarcomes et les protéines régulatrices du cycle cellulaire

La perturbation dans les gènes de contrôle de la régulation du cycle cellulaire affecte au moins trois différents types de gènes responsables des sarcomes. Le premier type concerne les gènes qui assurent le transfert des signaux de la surface cellulaire vers le noyau de la cellule. Une cascade de signalisation active de manière constitutive, a été observée dans plusieurs sous-types de sarcomes, conduit à une prolifération cellulaire continue, prédisposant probablement ces cellules à de nouvelles mutations génétiques qui entraînent la

transformation des cellules mésenchymateuses à une phase précoce de différenciation et la formation des sarcomes (**Bovee et al., 2010**). Le second type concerne des mutations dans des gènes qui contrôlent la progression dans le cycle cellulaire et qui sont les bras effecteurs de la cascade de signalisation. Ce groupe de gènes est plus particulièrement représenté par la protéine suppresseur de tumeur rétinoblastome (pRb). Le troisième type implique des mutations dans les gènes responsables du maintien de l'intégrité de l'ADN dans la réplication. Ce groupe de gènes est plus particulièrement représenté par la protéine suppresseur de tumeur p53 (**Beck et al., 2009**).

I.2.2. La voie de la protéine suppresseur de Tumeur rétinoblastome pRb

Plusieurs éléments de preuve mettent en cause la protéine suppresseur de tumeur rétinoblastome (PRB) dans la formation des sarcomes. La majorité des sarcomes ont des altérations dans la voie de Rb; les patients atteints de rétinoblastome héréditaire présentent un risque accru de développer un sarcome (**Abramson et al., 1998**). Les patients atteints de malformations du pRb monogéniques ont un risque de développer un sarcome lors de l'exposition aux radiations (**Wong et al., 1997**). Le produit codé par le gène RB (PRB) a été identifié comme un régulateur critique du cycle cellulaire. La pRb est le régulateur clé de la transition G1 / S, agissant comme un répresseur transcriptionnel lorsqu'il est lié à des protéines de la famille E2F. La phosphorylation du pRb est étroitement contrôlée par cycline D1/Cdk4 et secondairement par les inhibiteurs de kinases cycline-dépendantes (**Sherr et al., 2002**).

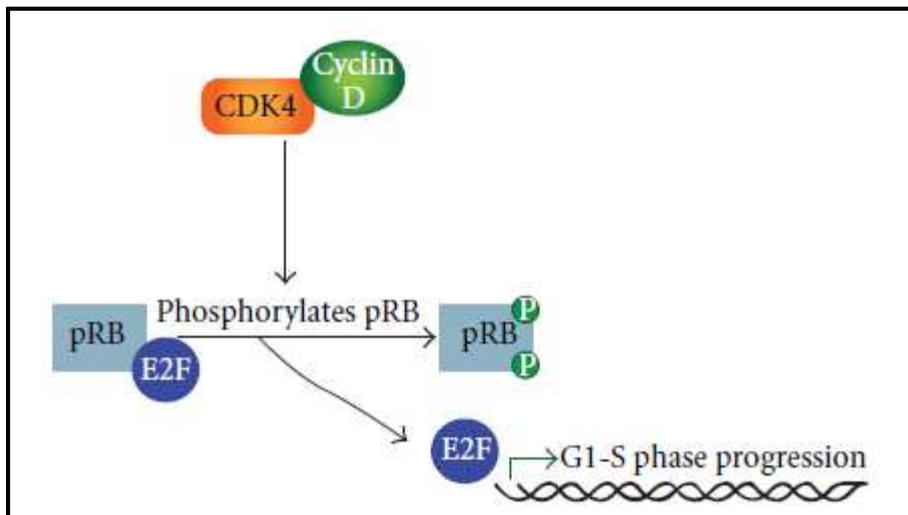


Figure 02 : La phosphorylation du pRb par la cycline D1/Cdk4 (**Rachel et al., 2011**)

Dans les cellules transformées, les modèles animaux et les cancers humains, des altérations, manifestées soit par des mutations ponctuelles (activation ou inhibition) ou modifications

chromosomiques (amplification ou délétion) (**Macleod et al., 2000**). Chacun de ces événements contribue à l'hyperphosphorylation de pRb et la perturbation de la transition G1 / S d'une manière analogue à une mutation de Rb. la surexpression de la cycline D1 est un événement fréquent dans les sarcomes des tissus mous chez l'adultes et, est associée à des tumeurs de haut grade et un faible taux de survie (**Kim et al., 2001**). L'Amplification et la surexpression de la CDK4, cartographie à 12q13-14, une région fréquemment amplifiée dans les tumeurs humaines, est un événement commun dans l'ostéosarcome et le liposarcome bien différencié et dédifférencié et, est associé à un potentiel métastatique (**Wei et al., 1999**). De plus, l'inhibiteur de la kinase p16 cycline-dépendante est souvent inactivé dans les sarcomes, un phénomène associé à un comportement biologique agressif et un mauvais pronostic (**Orlow et al., 1999**).

I.2.3. La Voie de la protéine suppresseur de tumeur p53

Le facteur de transcription p53 a été appelé le gardien du génome (**Sigal et al., 2000**). et cela a été observé dans 60% de tous les sarcomes (**Creager et al., 2001**). Essentiellement, il sert à deux fonctions :

P53 corrige le dommage de l'ADN et joue le rôle d'un médiateur de prolongement d'arrêt de G1 pour fournir un temps suffisant pour réparer les dommages d'ADN. et, est un médiateur de l'apoptose, lorsque les dommages de l'ADN devienne irréparable (**Wang et al., 2004**).

Les cibles transcriptionnelles de la protéine p53 comprend les régulateurs intrinsèques de l'apoptose tel que Bax, Noxa, Puma et Bid aussi les régulateurs extrinsèques comme Fas (**Fingerman et al., 2004**). De plus, il a été récemment démontré que la p53 est capable d'induire l'apoptose d'une manière indépendante de la transcription.

Ce processus est initié dans le cytosol, susceptible d'être contrôlé par le Hdm2, et nécessite la localisation de p53 dans la mitochondrie (**Regula et al., 2001**). L'amplification de HDM2 (MDM2 humain) est fréquemment observée dans les liposarcomes bien différencié et dédifférenciés et dans l'histiocytomes fibreux malins (**Leach et al., 1998**).

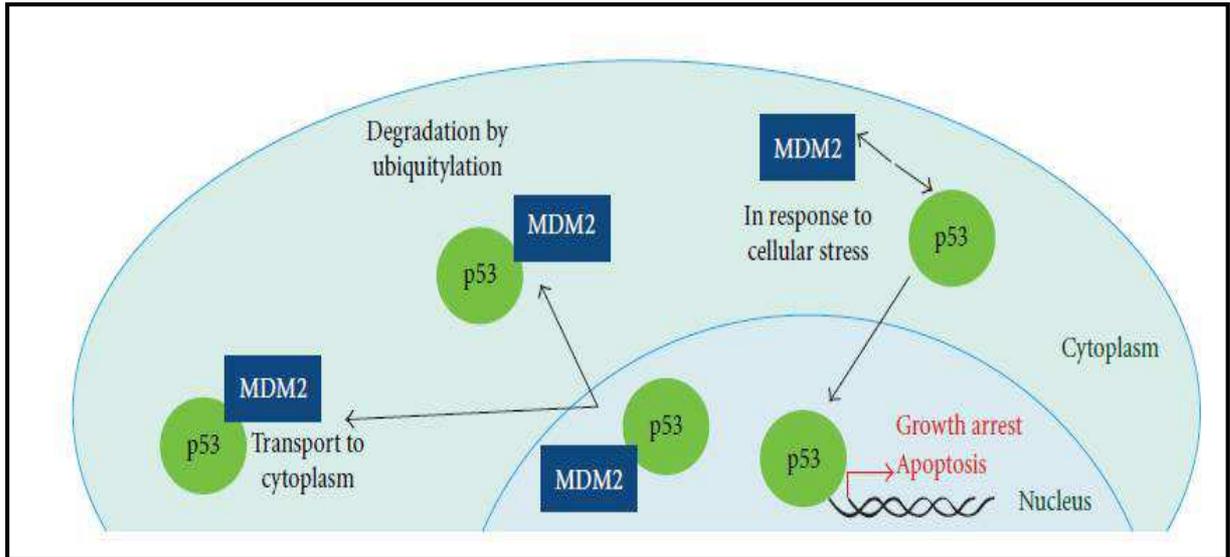


Figure 03 : les différentes fonctions du MDM2 dans la nature (Rachel et al., 2011)

Après dommage d'ADN, la p53 est mobilisé vers la mitochondrie et se lie aux Bcl-XL, ainsi libérer des protéines pro-apoptotiques comme Bid. Cette localisation mitochondriale de la p53 déclenche également la l'oligomérisation de Bax. Qui à son tour provoque la libération le cytochrome c conduisant à l'apoptose. Le Bcl-2, est un antagoniste de la fonction pro-apoptotique de Bax, est surexprimé et associé à une agressivité clinique des sarcomes synoviaux (Oda et al., 2000).

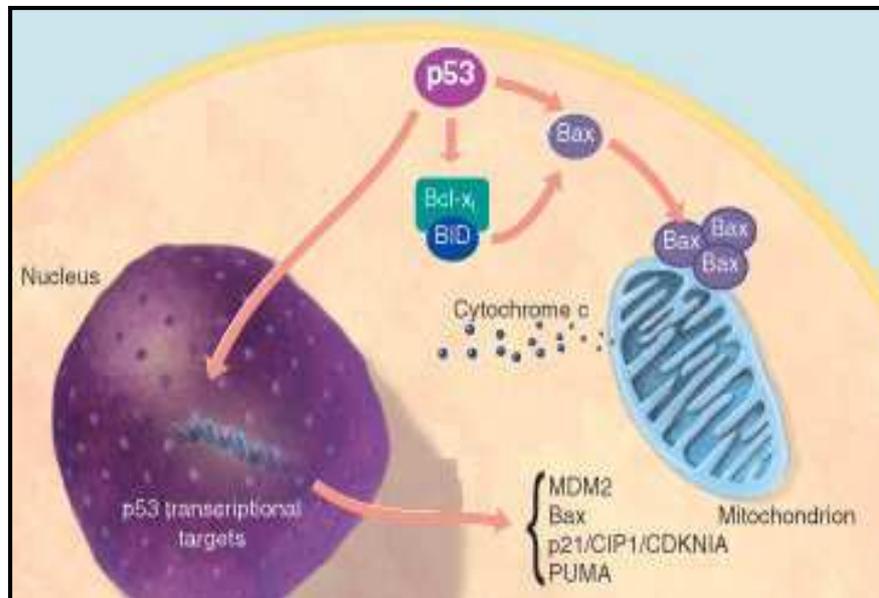


Figure 04 : Activation directe de Bax par p53 (Chipuk et al., 2004)

Dans une série d'analyse, a été montré que l'accumulation nucléaire de la p53 pourra être un facteur pronostique dans les sarcomes des adultes (**Hieken et al., 1996**). Spécifiquement, les tumeurs desmoid et les fibrosarcomes font partie d'un large éventail d'une croissance désordonnée des fibroblastes. Il y avait une tendance pour une augmentation de l'expression anormale de p53 en parallèle de l'agressivité des tumeurs desmoides de fibrosarcomes de bas grade et les fibrosarcomes de haut grade (**Kawaiet al., 1994**).

I.3. Facteurs de risque

I.3.1. Facteurs génétiques

Quatre maladies génétiques sont associées à la survenue des sarcomes : le syndrome de Li-Fraumeni, la neurofibromatose de von Recklinghausen, le rétinoblastome bilatéral et le syndrome de Werner (**Penel et al., 2001**).

Syndrome	syndrome de Li-Fraumeni	Neurofibromatose de von Recklinghausen	rétinoblastome héréditaire	Syndrome de Werner
Transmission	Autosomique dominante	Autosomique dominante	Autosomique dominante	Autosomique récessive
Gene	P53	nf1	Rb1	wrn
Fonction	Anti-oncogène	Neurofibrine	Anti-oncogène	Réparation des lésions d'ADN
Locus	17p13	17q 11-12	13q14	8p
Phénotype	Développements de diverses tumeurs malignes	Syndrome polymalformatifs Tumeurs cutanée Tumeurs de système nerveux Taches café au lait	rétinoblastome bilatérale	Vieillesse prématuré
Syndrome	syndrome de Li-Fraumeni	Neurofibromatose de von Recklinghausen	rétinoblastome héréditaire	Syndrome de Werner

Tableau I : facteurs génétiques associés au développement des sarcomes (**panel et al., 2001**)

I.3.2. Facteurs environnementaux

I.3.2.1. Radiations ionisantes

L'exposition aux radiations ionisantes augmente le risque de sarcomes typiquement sept à dix ans (rangs 2 à 67 ans) après l'exposition, notamment pour les patients irradiés pour un cancer cervical, du sein ou un lymphome (**Karlsson et al., 1996**).

1. 3.2.2. Infections virales

Le risque de développer un sarcome est très élevé dans la population infectée par le VIH ; les virus Herpès, Epstein Barr. Pourraient être impliqués dans la genèse de certains sarcomes (**Zahru et al., 1997**).

I.4. Classifications histologique et moléculaire des sarcomes

I.4.1. Classification Histologique

Cette classification de référence éditée pour la première fois en 1969 à été profondément remaniée et modifiée en 1994, en 1996, puis en 2002. Il s'agit d'une classification histogénétique fondée sur l'aspect morphologique (ou type) des cellules qui prolifèrent en comparaison avec les cellules normales. Plus de 50 sous-types histologiques sont décrits dans la classification réactualisée de la World Health Organization (**Fletcher et al., 2002**). Et de nouvelles reclassifications ont été décrites grâce aux analyses moléculaires récentes (**Blackstein et al., 2006**). (voir tableau II)

Sarcome des tissus mous	
Type	Sous type
Tumeurs adipeuses	Tumeur lipomateuse atypique/liposarcome bien différencié Liposarcome dédifférencié Liposarcome myxoïde Liposarcome pléomorphe
Tumeurs fibroblastiques/myofibroblastiques	Tumeur fibreuse solitaire Tumeur myofibroblastique inflammatoire Sarcome myofibroblastique de bas grade Sarcome fibroblastique myxo inflammatoire Sarcome fibroblastique Fibrosarcome infantile Fibrosarcome adulte Myxofibrosarcome Sarcome fibromyxoïde de bas grade Fibrosarcome épithélioïde sclérosant Dermatofibrosarcome de Darier et Ferrand
Tumeurs dites fibrohistiocytiques	MFH pléomorphe/sarcome pléomorphe indifférencié MFH à cellules géantes/sarcome pléomorphe indifférencié à cellules géantes MFH inflammatoire/sarcome pléomorphe indifférencié inflammatoire
Tumeurs des muscles lisses	Léiomyosarcome
Tumeurs des muscles squelettiques	Rhabdomyosarcome embryonnaire Rhabdomyosarcome alvéolaire Rhabdomyosarcome pléiomorphe
Tumeurs vasculaires	Sarcome de Kaposi Hémangioendothéliome épithélioïde Angiosarcome
Tumeurs chondro-osseuses	Chondrosarcome mésenchymal Ostéosarcome extrasquelettique
Tumeurs de différenciation incertaine	Synoviosarcome Sarcome épithélioïde Sarcome alvéolaire des tissus mous Sarcome à cellules claires des tissus mous Chondrosarcome myxoïde extrasquelettique Sarcome d'Ewing/PNET Sarcome d'Ewing extrasquelettique Tumeur desmoplastique à cellules rondes Tumeur rhabdoïde extrarénale Mesenchymome malin PECome Sarcome intimal GIST (tumeur stromale gastro-intestinale)

Sarcomes osseux	
Tumeurs cartilagineuses	Chondrosarcome central, primaire ou secondaire Chondrosarcome périphérique Chondrosarcome dédifférencié Chondrosarcome mésoenchymateux Chondrosarcome à cellules claires
Tumeurs ostéogéniques	Ostéosarcome conventionnel (chondroblastique, fibroblastique ou ostéoblastique) Ostéosarcome télangiectasique Ostéosarcome à petites cellules Ostéosarcome central de bas grade Ostéosarcome secondaire Ostéosarcome parostéal Ostéosarcome périostéal Ostéosarcome de surface de haut grade
Tumeurs fibrogéniques	Fibrosarcome
Tumeurs fibrohistiocytaires	Histiocytome fibreux malin
Sarcome d'Ewing/PNET	Sarcome d'Ewing
Tumeurs à cellules géantes	Tumeur maligne à cellules géantes
Tumeurs notochordales	Chordome Tumeurs vasculaires Angiosarcome
Tumeurs des muscles lisses	Léiomyosarcome
Tumeurs lipogéniques	Liposarcome

Tableau II : classification histologique des sarcomes selon l'OMS (**Ducimetière et al., 2010**)

I.4.2. Classification moléculaire

Les sarcomes peuvent aussi être caractérisés par les anomalies moléculaires auxquelles ils sont associés et qui sont diagnostiquées soit de façon globale par caryotype ou l'hybridation génomique comparative par micro-array (CGH), soit par analyse ciblée en cytogénétique par FISH (fluorescent *in situ* hybridation) ou par RT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction). Ces anomalies sont représentées par différents groupes (**Coindre., 2010**)

I.4.2.1. sarcomes avec translocation spécifique :

Représentent environ 10 à 15 % de l'ensemble des sarcomes. Les plus fréquents sont le dermatofibrosarcome de Darier et Ferrand, le liposarcome myxoïde, le sarcome d'Ewing et le Synovialosarcome (**Aurias et al., 1983 ; Turc-Carel et al., 1983**). Ces translocations aboutissent à un gène de fusion que l'on suppose être directement responsable du développement tumoral, La plupart de ces gènes de fusion codent pour un facteur de transcription (**Riggi et al., 2007**) , un facteur de croissance autocrine (**Suvà et al., 2007**) ; Ou impliquant des gènes à action de type récepteur tyrosine kinase (**Tanas et al., 2009**).

Type	Translocation
Sarcome d'Ewing/PNET	t (11;22) ; t (21;22)
Liposarcome myxoïde	t (12;16) et t (12;22)
Synovialosarcome	t (X;18)
Rhabdomyosarcomes alvéolaires	t (2;13) et t (1;13)
Chondrosarcome myxoïde	t (9;22) ; t (9;17) ; ...
Sarcome à cellules claires	t (12;22)
T. desmoplastique à cellules rondes	t (11;22)
Darier-Ferrand (DFS)	t (17;22)
Fibrosarcome infantile	t (12;15)
Sarcome alvéolaire	t (X;17)
Sarcome fibromyxoïde bas grade	t (7;16)

Tableau III : Les translocations dans différents types de sarcomes (**Letson et al., 2001**)

I.4.2.2. sarcomes avec un profil génomique simple

Caractérisé par la présence d'amplifications. Les liposarcomes bien différenciés, les liposarcomes dédifférenciés et les sarcomes intimaux montrent un tel profil caractérisé par une amplification des gènes MDM2 et CDK4 associée à une amplification d'autres gènes dans le liposarcome dédifférencié (**Coindre ., 2010**).

I.4.2.3. sarcomes avec une mutation activatrice

Il s'agit des tumeurs stromales du tube digestif qui présentent des mutations activatrices, environ 90 % des tumeurs stromales gastro-intestinales montrent une mutation d'un gène codant pour un récepteur à activité tyrosine-kinase, soit KIT, soit PDGFRA. Les mutations les plus fréquentes impliquent l'exon 11 de KIT suivi par l'exon 9 de KIT et l'exon 18 de PDGFRA (**Rubin ., 2006**).

I.4.2.4. sarcomes avec mutation inactivatrice

Il s'agit principalement de la tumeur rhabdoïde maligne avec une inactivation biallélique du gène INI1, qui est un gène suppresseur de tumeur situé sur le bras long du chromosome 22 (**Bourdeaut et al., 2007**).

I.4.2.5. les autres sarcomes avec un profil génomique complexe

50% à 60 % des sarcomes montrent un profil génomique complexe avec de nombreux gains et pertes géniques avec fréquemment perte du gène RB1 et altération de p53 (**Guillou et al.,**

2010). Ces tumeurs sont principalement représentées par les léiomyosarcomes, les myxofibrosarcomes, les liposarcomes pléomorphes, les rhabdomyosarcomes pléomorphes et les sarcomes peu différenciés, Une perte de PTEN est également souvent observée, en particulier dans les léiomyosarcomes, On trouve aussi plus rarement les angiosarcomes, les ostéosarcomes, les schwanomes malins et les sarcomes épithélioïdes. (Beyaert *et al.*, 1994).

I.5. Diagnostic

L'analyse histologique est la première étape du diagnostic des sarcomes, consiste à observer au microscope, le tissu tumoral afin d'identifier la nature des cellules composant la lésion. Cet examen représente l'étape cruciale de l'analyse anatomopathologique, cette étude histologique doit être complétée par une analyse immunohistochimique. Cette analyse a pour objectif d'identifier les molécules produits ou exprimé par les cellules tumorales afin de mieux classer la tumeur ou définir son potentiel évolutif. Lors de l'analyse immunohistochimique, différents marqueurs sont impliqués sur les fragments tumoraux afin de mettre en évidence l'expression de certaines protéines impliquées dans le développement tumoral (Carbone *et al.*, 1992).

I.5.1. Marqueurs les plus utilisés dans le diagnostic des sarcomes

I.5.1.1. Murine double minute 2 (MDM2)

C'est un oncogène impliqué dans un certain nombre de processus tumoraux, de nature épithéliale, ou conjonctive (Momand *et al.*, 1998). L'amplification de ce gène est constante dans les sarcomes (Pseudotour *et al.*, 1994). La transcription de ce gène est contrôlée par p53 (Pseudotour *et al.*, 1993). MDM2 a ainsi un rôle facilitateur du passage G2,M et un rôle inhibiteur de l'apoptose (Coindre *et al.*, 2004). L'anticorps anti MDM2 constitue un instrument pratique pour l'identification des liposarcomes.

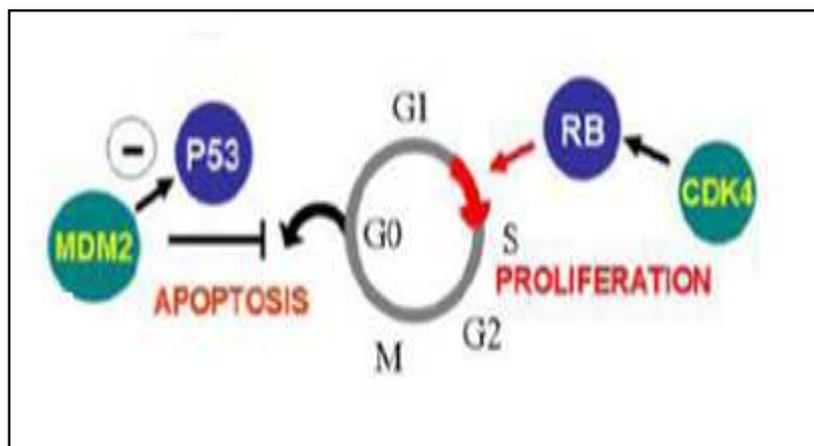


Figure 05 : rôle de MDM2 et de CDK4 dans la genèse tumorale (Chibon *et al.*, 2004)

I.5.1.2. Actine muscle lisse

Les actines cytoplasmique, qui appartiennent au système microfilamentaire des protéines cytosquelettiques, font partie des protéines eucaryotes les mieux conservées. La protéine d'actine est constituée de six isoformes, différentes par la séquence de leurs acides aminés, mais qui ont toutes une même masse moléculaire de 42 kDa (**Rizeq et al., 1994**). Il existe des isoformes α spécifique des tissus musculaire par exemple α actine des muscles squelettiques, α actine du muscle cardiaque et α actine du muscle lisse, respectivement (**Brennan et al., 2000**). L'anticorps anti-actine muscle lisse marque les cellules des muscles lisses, les myofibroblastes, les cellules myoépithéliales, et constitue un instrument pratique pour l'identification des léiomyosarcomes (**Skalli et al., 1989 ; Brennan et al., 2000**), et des adénomes pléomorphes (**Alberts et al., 1999**).

I.5.1.3. Vimentine

La vimentine est une protéine de 57 kDa de filament intermédiaire (IF). Parmi les cinq classes d'Ifs, comprenant neuf groupes, la vimentine appartient à la classe III, montrant un haut degré de spécificité pour les cellules d'origine mésenchymateuse. La spécificité du type de cellule, révélée par chacun des sous-types de l'IF, était d'abord considérée comme étant conservée dans les cellules malignes ainsi que dans les cellules normales équivalentes (**Herrmann et al., 2000**). L'anticorps anti-vimentine marque les cellules principalement d'origine mésenchymateuse dans les tissus normaux et néoplasiques, et est utile dans le diagnostic des tumeurs. (**Azumi et al., 1987**).

I.5.1.4. Desmine

La desmine appartient à la classe III des filaments intermédiaires, c'est une protéine de 53 kDa encodée par neuf exons d'un gène situé à 2q35. La desmine forme un réseau cytosquelettique à travers le fibre musculaire au bord du plasma et la membrane nucléaire et est particulièrement localisée dans la zone sous plasmalemmale et la bande Z (**Goebel et al., 2000**). L'anticorps anti-desmine marque les cellules musculaires lisses et striées ainsi que les cellules mésothéliales, et est un moyen utile pour la détermination des rhabdomyosarcomes (**Chang et al 1989 ; Pollock et al., 1995**), des léiomyomes (**Miettinen et al., 2000 ; Oliva et al., 1995**) et des mésothéliomes (**Hurlimann et al., 1994**).

I.5.1.5. Myogénine

La myogénine fait partie de la famille des gènes de régulation myogénique qui comprend MyoD, myf5 et MRF4. Ces gènes codent pour un ensemble de facteurs de transcription qui sont essentiels au développement musculaire. La transfection de myogénine dans des cellules

mésodermiques pluripotentes transforme les cellules mésodermiques en myoblastes (**Wright et al., 1989 ; Weintraub et al., 1995**). L'expression de la myogénine est limitée aux cellules d'origine musculaire squelettique (**Wright et al., 1989**). Anticorps anti-myogénine marque les tissus sains et néoplasiques tels que le rhabdomyosarcome et la tumeur de Wilms (**Wright et al., 1996**).

I.5.1.7. Caldesmon

La caldesmone est une protéine à régulation embryonnaire impliquée dans les contractions musculaires lisses et non musculaires, elle est codée par le gène CALD1 (**Sobue et al., 1991 ; Glukhova et al., 1990**). Deux variants très proches de la caldesmone humaine ont été identifiés : le variant *h*-caldesmone (120-150 kDa) est exprimé essentiellement dans le muscle lisse, tandis que la *l*-caldesmone (70-80 kDa) est présente dans les tissus et cellules non musculaires. Aucun des deux variants n'a été détecté dans le muscle squelettique (**Sobue et al., 1991**). Anticorps anti caldesmon marque les cellules musculaires lisses des vaisseaux sanguins. Elle est positive dans les léiomyosarcomes (**Lazard et al., 1993**).

I.5.1.8. Ki67 (MIB-1)

L'antigène Ki-67 est une protéine nucléaire définie par sa réactivité avec l'anticorps monoclonal provenant du clone Ki-67. Deux isoformes de 345 et 395 kDa ont été identifiées (**Gerdes et al., 1991**). L'antigène Ki-67 est exprimé de façon préférentielle au cours de toutes les phases actives du cycle cellulaire (phases G1, S, G2 et M), mais il est absent dans les cellules en repos (phase G0) (**Gerdes et al., 1984**). Au cours de l'interphase, l'antigène est exclusivement détecté dans le noyau, alors que pendant la mitose il se situe à la surface des chromosomes. L'antigène est rapidement dégradé dès que la cellule passe dans un état non-prolifératif (**Scholzen et al., 2000**), et il semble n'y avoir aucune expression du Ki-67 pendant les processus de réparation de l'ADN (**Key et al., 1994**). L'anticorps anti Ki67 marque les cellules normales et néoplasiques, les sarcomes des tissus mous (**Huuhtanen et al., 1999**), les adénocarcinomes prostatiques (**Borre et al., 1998**), et les cancers du sein (**Seshadri et al., 1996**).

I.5.1.9. CD99 (MIC2)

Le gène MIC2 est un gène pseudo-autosomique situé dans les bras courts des chromosomes X et Y. Les produits du gène sont des glycoprotéines de même poids moléculaire appelées p30 et p32 (**Herron et al., 1989 ; Fellingner et al., 1991**). Les protéines encodées par le gène MIC2 sont sensibles à la neuraminidase et à la protéase. Dans les érythrocytes, le gène MIC2 est régulé par le gène XG lié au chromosome X. Il en résulte un polymorphisme quantitatif des niveaux de produit du gène MIC2 (**Goodfellow et al., 1981**). L'utilisation de l'anticorps anti MIC2 facilite la classification des glioblastomes et des épendymomes du système nerveux central et de certaines tumeurs des îlots de Langerhans pancréatiques, en particulier

le sarcome d'Ewing (SE) et les tumeurs primitives neuro-ectodermiques périphériques (PNET) (Ambros *et al.*, 1981).

I.5.1.10. Ps100

Ps100 est une famille multigénique de protéines de liaison Ca²⁺ de faible poids moléculaire (Mr = entre 9000 et 13 000). La famille est composée de 19 membres à l'expression différentielle dans un grand nombre de types cellulaires. Par conséquent, la S100B (anciennement S100i) est plus abondante dans les cellules gliales du système nerveux central et périphérique, dans les mélanocytes, les chondrocytes et les adipocytes, tandis que la S100A1 est plus abondante dans les cardiomyocytes, les cellules du muscle squelettique lent, les cellules épithéliales salivaires et les cellules rénales. De plus, la S100B est présente dans les cellules tumorales et les sous-populations de neurones, alors que la S100A1 a également été détectée dans les neurones de l'hippocampe. La S100A6 est exprimée par les fibroblastes et les cellules musculaires lisses et cardiaques (Gould *et al.*, 1986). Les membres de la famille S100 ont été impliqués dans la régulation dépendant du Ca²⁺ de diverses activités intracellulaires, par exemple la phosphorylation des protéines, la prolifération cellulaire (y compris la transformation néoplasique), et la différenciation (Donato *et al.*, 1999). Cet anticorps marque les cellules exprimant la S100 et facilite l'identification des néoplasmes positifs à la S100, comme le mélanome malin (Orchard *et al.*, 2000 ; Wick *et al.*, 1988), l'histiocytose à cellules de Langerhans (Ye *et al.*, 1990), le chondroblastome, le chondrosarcome (Edel *et al.*, 1992) et le schwannome (Gould *et al.*, 1986).

I.5.1.11. CD117 (c-kit)

Le proto-oncogène *c-kit*, situé sur le chromosome 4 humain (Yarden *et al.*, 1987), code un récepteur transmembranaire. CD117/*c-kit*, appartenant à la famille des récepteurs tyrosine kinase de classe III, Il a été montré que, généralement, la voie du récepteur tyrosine kinase *c-kit* est importante dans la croissance tumorale et la progression de plusieurs cancers (Smithey *et al.*, 2002), ainsi que dans les mutations du gène *c-kit* amenant à la phosphorylation (activation) du ligand-libre du tyrosine kinase *c-kit*, et sont considérés avoir un rôle pathogène central dans par ex. les tumeurs stromales gastro-intestinales (Miettinen *et al.*, 2001). L'anticorps marque le récepteur tyrosine kinase transmembranaire CD117/*c-kit*, situé dans les cellules souches hématopoïétiques, les mélanocytes, les mastocytes, est un moyen approprié pour l'identification de plusieurs cancers y compris les maladies du mastocyte, la leucémie myéloïde aiguë (LMA), le carcinome pulmonaire à petite cellule (CPPC), et le sarcome d'Ewing, et il peut faciliter la différenciation entre des tumeurs stromales gastro-intestinales (TSGI) et d'autres tumeurs mésenchymales intra-abdominales (Tsuura *et al.*, 1994 ; Smithey *et al.*, 2002).

I.5.1.12. MMP13

Collagénase 3 est une enzyme qui chez l'Homme est codée par le gène MMP13 (**Freije et al., 1994**), Collagénase 3 est un membre de la famille métalloprotéinase matricielle (MMP). Dans les situations pathologiques, il est fortement surexprimé, dans les cancers humains, la polyarthrite rhumatoïde et l'arthrose. Les protéines de la famille métalloprotéinase matricielle (MMP) sont impliquées dans la dégradation de la matrice extracellulaire, le développement embryonnaire, la reproduction et le remodelage des tissus, ainsi que dans certaines maladies, telles que l'arthrite et les métastases. (**Johansson et al., 2000**). Anticorps anti MMP13 est un marqueur spécifique au chondrosarcome (**Uria et al., 1998**).

I.6. Le grade :

Le type histologique du sarcome n'apporte pas toujours d'informations suffisantes pour prédire l'évolution clinique, et ainsi guider la thérapeutique.

Le grade histologique, basé uniquement sur des paramètres histologiques, permet d'évaluer le degré de malignité et le risque métastatique.

C'est le facteur pronostique le plus important pour la survie globale et la survie sans métastases. La classification de l'OMS recommande d'utiliser un système validé. (**Coindre, 2006**)

Le système de Grading de la FNCLCC est le plus utilisé. Il prend en compte trois critères : Le degré de différenciation, la quantité de nécrose et l'index mitotique.

- Le degré de différenciation est hautement dépendant du type et sous-type histologique.
- Le nombre de mitoses est soigneusement évalué sur 10 champs microscopiques consécutifs au fort grossissement (x 400 ; surface du champ : 0,174 mm²) dans la zone la plus mitotique de la tumeur.
- Seule la nécrose tumorale « vraie » doit être appréciée.
- Un score est attribué à chaque paramètre et le grade est obtenu en additionnant les trois scores obtenus.(voir tableau III).

<p>1/ Différenciation tumorale :</p> <p>score 1 : sarcomes qui ressemblent à un tissu adulte normal ex : liposarcomes bien différenciés, Léiomyosarcome bien différenciés</p> <p>score 2 : sarcomes pour lesquels le diagnostic de type histologique est certain et incontestable ex : liposarcomes myxoïde, chondrosarcomes myxoïde, Myxofibrosarcome,</p> <p>score 3 : sarcomes embryonnaires, Synovialosarcome, ostéosarcomes, sarcomes peu différenciés ou indifférenciés et sarcomes pour lesquels le type histologique est incertain et donc contestable</p>
<p>2/ Index mitotique</p> <p>score 1 : 0 à 9 mitoses / 10 champs au Gr x 400</p> <p>score 2 : 10 à 19 mitoses / 10 champs au Gr x 400</p> <p>score 3 : > 19 mitoses / 10 champs au Gr x 400</p>
<p>3/ Nécrose tumorale (évaluation histologique complétée par l'examen macroscopique)</p> <p>score 0 : pas de nécrose</p> <p>score 1 : nécrose occupant moins de 50% de la surface tumorale</p> <p>score 2 : nécrose occupant plus de 50% de la surface tumorale</p>
<p>Le grade est obtenu par la somme des scores attribués aux trois critères</p> <p>Grade I : total de 2 ou 3</p> <p>Grade II : total de 4 ou 5</p> <p>Grade III : total de 6, 7 ou 8</p>

Un champ mesure 0,1734 mm², Grade : sommes des scores [différenciation, index mitotique, nécrose]

Tableau IV : Système de grade histologique de la FNCLCC (Coindre., 2006 ; Fletcher et al., 2002)

I.7. Traitement

Le traitement standard associe chirurgie et radiothérapie adjuvante (Casali et al., 2008 ; Pisters et al., 1996). Les nouvelles stratégies thérapeutiques développées pour le traitement de ces tumeurs suivent toutes ce même principe de ciblage spécifique des différents sous-types moléculaires et histologiques (Blay., 2006). Le ciblage de KIT par des inhibiteurs spécifiques de tyrosine kinase est le premier traitement ciblé ayant démontré un gain de survie chez des patients par ailleurs résistants à la chimiothérapie et à la radiothérapie (Demetri et al., 2002 ; Blanke et al., 2008). Certaines molécules ciblant le récepteur de l'IGF1 (IGF1R), la cible moléculaire de la rapamycine (mTOR), les récepteurs erbB (EGFR, HER2), certains facteurs angiogéniques ou des protéines de choc thermique (heat shock protein, HSP) ont fait l'objet d'essais cliniques ou sont en cours d'évaluation dans d'autres sous-types histologiques (Olmos et al., 2008 ; Sydor et al., 2006). En ce qui concerne les cytotoxiques, certains agents ont une efficacité spécifique reconnue dans les léiomyosarcomes et les liposarcomes (Le Cesne et al., 2005 ; Maki et al., 2007), les taxanes, et les drogues ciblant les microtubules dans les angiosarcomes (Penel et al., 2007 ; Fata et al., 1999).

Notre étude a été effectuée au niveau du laboratoire d'anatomie cytopathologie du centre hospitalier universitaire Franz Fanon de Blida. Cette étude a porté sur 48 malades atteints d'un sarcome sur un intervalle de cinq mois entre janvier et mai 2013, Histologiquement diagnostiqués durant notre période d'étude.

L'objectif essentiel de ce travail est d'étudier l'expression des marqueurs dans chaque type en utilisant comme moyen l'immunohistochimie. les paramètres étudiés sont :

- ◆ L'âge du malade.
- ◆ Le sexe.
- ◆ Le siège anatomique du sarcome.
- ◆ L'étude histologique.
- ◆ L'expression des marqueurs tumoraux.

II.1.MATERIEL :

Deux matériels ont été nécessaires. L'un biologique représentant les prélèvements tissulaires et l'autre matériel est représenté par les instruments et réactifs utiles.

II.1.1. Matériel non biologique :

II.1.1.1. Appareillages :

Microscope photonique

Appareil d'inclusion en paraffine

Bain marie ou plaque chauffante

Appareil de circulation

Étuve thermostatif

Microtome

Plaque de refroidissement

Automate de coloration

II.1.1.2. Autre matériel utilisé :

Chambre humide

Micropipettes réglables et cônes adéquats

Buvard ou essuie tout

Minuterie

Tubes à hémolyse

Portes lames

Bacs et paniers à coloration

Lames + lames silanisées et lamelles

Dakopen

II.1.2.Le matériel biologique :

Représenter par des biopsies et des pièces d'exérèse tumorale. Ainsi le tissu tumoral prélevé sera soumis aux techniques histologiques usuelles pour la confection des blocs d'inclusion en paraffine.

Les coupes effectuées sur des blocs seraient colorées par l'hématéine /Eosine pour l'étude histologique de routine, puis imprégner par des anticorps spécifiques pour l'étude immunohistochimique.

II.2.METHODES

II.2.1.Technique histopathologique

***Fixation**

Permet la présentation du tissu à un état aussi proche que possible de l'état vivant à savoir conservation des structures (morphologie du tissu, épitopes) et le durcissement des pièces.

- ↻ Immobiliser les antigènes in situ.
- ↻ S'oppose à l'autolyse tissulaire et l'action des micro-organismes.

Les échantillons sont fixés rapidement dans le formaldéhyde à 10%. La durée de fixation dépend de la taille de prélèvement (5 à 24 heures).

***Préparation des blocs de paraffine :**

❖ Déshydratation

C'est la première étape de circulation qui consiste à débarrasser le tissu de l'eau qu'il contient. Elle consiste à faire passer l'échantillon contenu dans les cassettes d'inclusion dans 5 (cinq) bains d'alcool à concentration croissante 70°, 75°, 90°, 95°, et 100° respectivement. Les échantillons sont par la suite passés deux (2) bains de xylène pour subir l'éclaircissement. La durée pour chaque bain est de deux (2) heures.

❖ Imprégnation

A cette étape l'espace qui était occupé par l'eau éliminé lors de la déshydratation va être remplacé par la paraffine liquéfiée ; donnant par conséquent une rigidité au tissu qui lui permet de garder sa forme interne au moment de la coupe.

L'imprégnation se fait par le passage des échantillons dans deux (2) bains de paraffine liquéfiée à 60°C à une durée de deux (2) heures pour chacun.

❖ Inclusion

L'enrobage du tissu imprégné permet la confection des coupes.

Une quantité de paraffine est versée dans le moule. L'échantillon imprégné est déposé délicatement puis la partie de la cassette qui va servir de support sur le microtome est déposée au dessus par la suite une autre quantité de paraffine est rajouté a travers les grilles de la cassette .la paraffine une fois solidifiée après refroidissement sur la plaque; le bloc est démoulé. Voir annexe I

❖ Confection est étalement des coupes

Après avoir placé la cassette sur le support du microtome ; les blocs vont d'abord subir un dégrossissement afin d'éliminer le surplus de la paraffine (20 μ) . L'épaisseur de la coupe est réglée à 3 μ pour obtenir un ruban de paraffine contenant le tissu. Le ruban est par la suite étalé dans un bain marie à 37°C pour éviter les pliures.

Les coupes dépliées sont récupérées du bain marie sur des lames ; ces dernières sont mises à sécher dans l'étuve à 66°C pendant 15 min.

❖ Coloration à l'hématéine-éosine

Cette coloration est dite usuelle ou de routine, elle concerne tous les prélèvements sans distinction des tissus.

Résultat :

-l'Hématéine : colore les noyaux en bleu violacé.

-l'Eosine : colore le cytoplasme en rose.

Principe : fiche technique (voir annexe II).

***Montage entre lames/lamelles avec utilisation d'une colle spéciale l'Eukitt :**

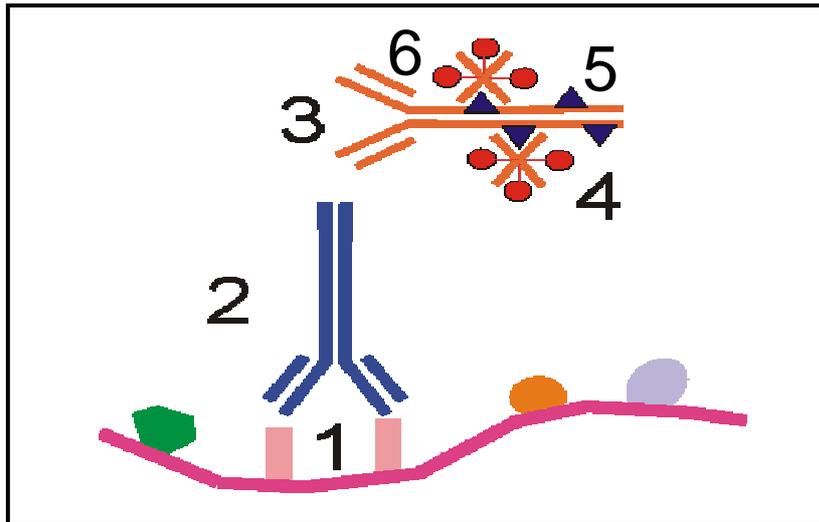


Figure 06: montage entre lame et lamelle

II.2.2. Technique immunohistochimique (IHC)

Principe :

L'immunohistochimie est une méthode morphologique permettant de localiser des antigènes dans les tissus ou les cellules, par des anticorps (immunoglobulines) dirigés de façon spécifique contre ces antigènes recherchés. À l'aide d'une réaction antigène – anticorps, le complexe formé étant rendu visible, donc localisable, par un marqueur coloré. Ses applications sont innombrables. Parmi les plus importantes, citons le diagnostic différentiel des tumeurs indifférenciées (carcinome, sarcome, mélanome, ou lymphome malin).



- 1) Antigène ; 2) Anticorps primaire ; 3) Anticorps secondaire ;
 4) Complexe Avidine-biotine-péroxydase ; 5) biotine ; 6) péroxydase

Figure 07 : Principe de l'immunohistochimie

Les antigènes recherchés peuvent être des Ag membranaires, cytoplasmiques ou nucléaires ou des protéines extracellulaires. Nous avons utilisé sur des coupes de tissus fixés et inclus en paraffine par une méthode enzymatique indirecte streptavidine biotine qui consiste à l'utilisation d'un premier Ac (primaire).

Dans notre cas nous avons utilisé essentiellement l'anti-CD117, anti-CD99, anti-AML, anti-vimentine,, anti-myogénine, anti-desmine, anti-MDM2, anti-caldesmon , anti-PS100, qui reconnaissent l'ag à rechercher, puis un deuxième Ac (secondaire) se fixe sur l'Ac primaire, ce deuxième Ac est couplé à la biotine, qui se lie à des molécules d'Avidine ou de Streptavidine ; celles-ci peuvent fixer plusieurs molécules d'enzymes, puis enfin le DAB révèle la réaction en brun foncé qui est visualisé sous microscope.

Mode opératoire

Confection des coupes sur des lames sélanisées puis placées à l'étuve à 37° pendant 24h pour l'élimination de l'excès de la paraffine.

1-Déparaffinage et réhydratation :

- ♣ Xylène 2x5 min.

- ♣ Alcool 90° 5 min.
- ♣ Alcool 96° 5 min.
- ♣ Alcool 70° 5 min.
- ♣ 1 bain de l'eau distillée 5 min.

- 2- Démasquage antigénique par la chaleur au bain marie pendant 40 min.
- 3- Sortir le bac du bain marie et laisser refroidir sur la paillasse pendant 20 min.
- 4- Transférer le portoir dans un bac d'eau distillée pendant 5 min.
- 5- Lavage en TBS 5 min.

***Immunomarquage**

- Préparation d'une chambre humide (plateau+ la gaze humide).
- Cerclage des fragments avec un gel hydrophobe. (Dako Pen) pour empêcher les anticorps de diffuser sur toute la lame.
- Blocage des peroxydases endogènes en utilisant de l'eau oxygénée (H₂O₂) à 3% (10 min).
- Rinçage à l'eau distillée, puis plonger les lames dans un bain TBS (5 min).
- Tapotage pour éliminer le tampon en excès.
- Rinçage dans deux bains de tampon en excès.
- Incubation avec l'anticorps secondaire biotinylé 10 min.
- Rinçage dans deux bains de tampon TBS (5 min).
- Tapotage pour éliminer le tampon en excès.
- Système d'amplification à la streptavidine (10 min).
- Rinçage dans un bain de tampon de TBS 5 min.
- Tapotage pour éliminer le tampon en excès.
- Révélation en utilisant le chromogène de la peroxydase qui est le DAB (3,3-Diaminobenzidine) 10 min.
- Rinçage en eau distillée.

***Contre coloration à l'Hématoxyline Mayer :**

- Incuber les lames dans une solution hématoxyline Mayer pendant 5 min.
- Rinçage à l'eau courante puis dans 3 bain d'alcools (70°, 90° ,100°).
- Un bain de xylène.
- Montage avec une colle aqueuse Faramount.

- Les grandes étapes de cette technique sont résumées dans l'annexe III.

III.1. RESULTATS

Notre étude a porté sur 48 patients âgés entre 13 et 84 ans représentant les sarcomes diagnostiqués durant notre période d'étude. Les prélèvements (biopsies et pièces opératoires) ont subi une étude histologique suivie par une étude immunohistochimique, cette dernière a pour but de mettre en évidence les marqueurs spéciaux de chaque type de sarcome.

III.1.1. Caractéristiques de la série

1.1.1. Répartition des cas selon le sexe :

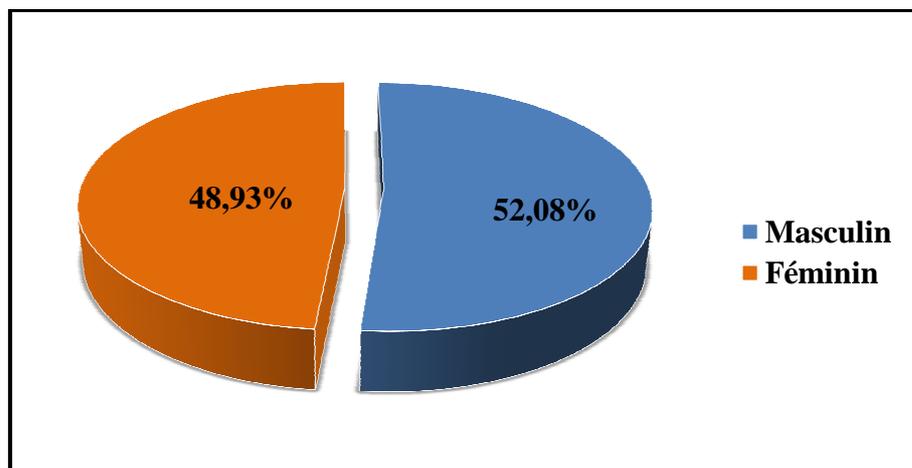


Figure 08 : Répartition des cas selon le sexe

La sex-ratio : totale des hommes/total des femmes : $25/23 = 1,08$

Les résultats obtenus montrent que les sarcomes sont plus fréquents chez le sexe masculin (52,08%) que chez le sexe féminin (48,92%).

1.1.2. Répartition des cas selon l'âge chez les deux sexes

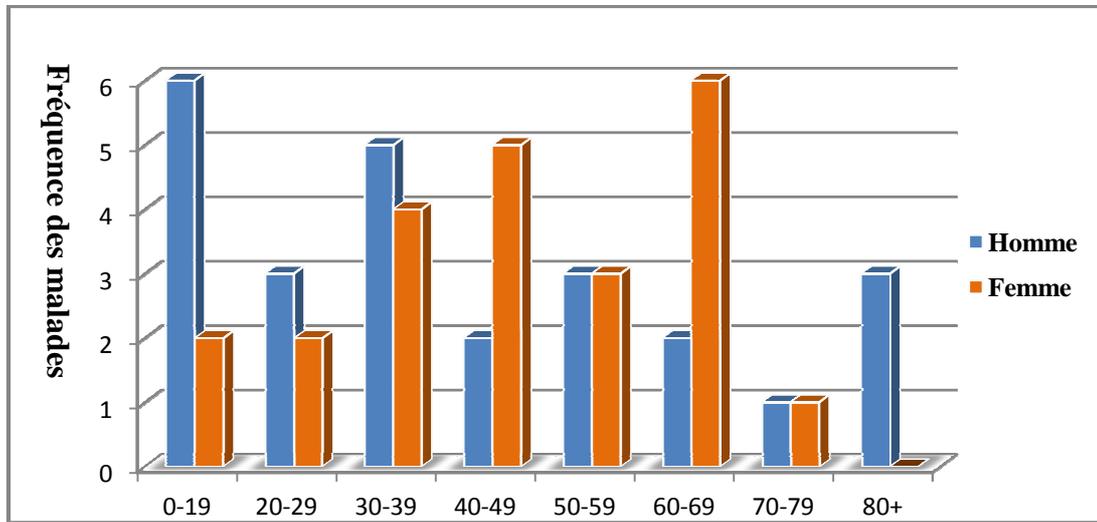


Figure 09 : Répartition des cas en fonction de l'âge chez les deux sexes.

Le diagramme montre que les hommes âgés entre 0 et 39 ans (12,50%) sont les plus touchés par les sarcomes par rapport à ceux ayant un âge supérieur à 19 ans, par contre les femmes âgées entre 40 ans et 69 ans (12,50%) sont plus touchées par rapports à ceux ayant un âge inférieur et/ou supérieur à 69 ans.

1.1.3. Répartition des cas selon le siège anatomique (localisation) du sarcome.

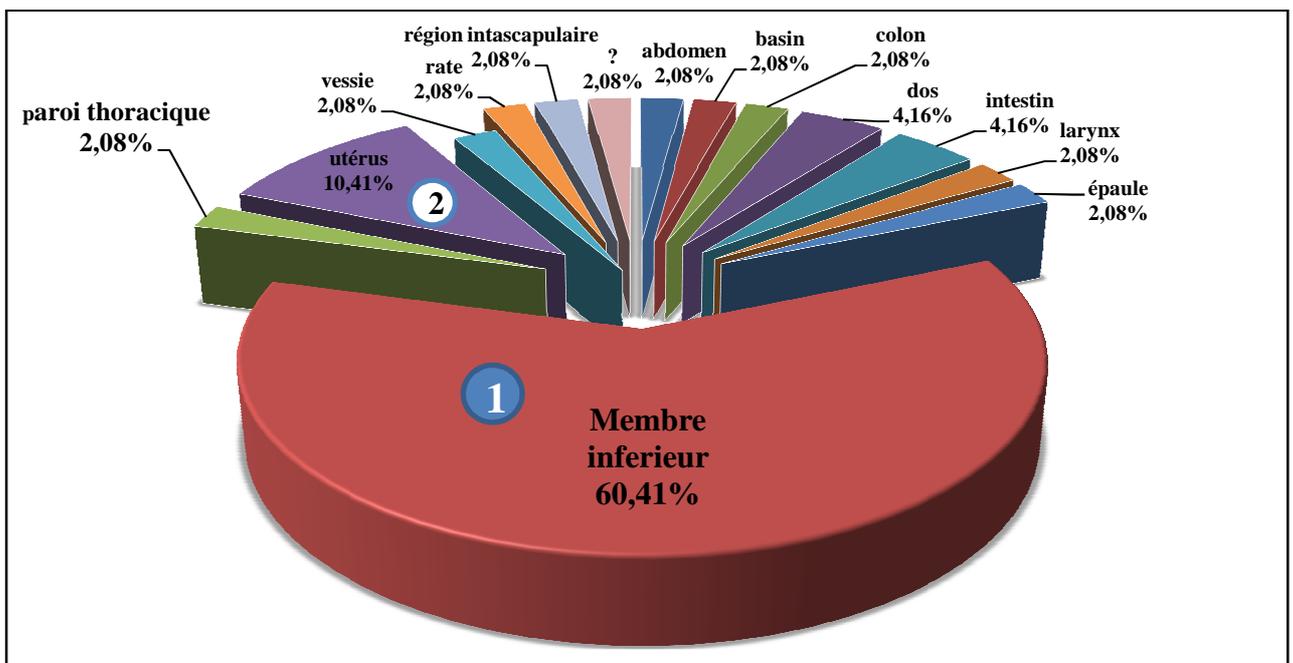


Figure 10 : Répartition des cas selon le siège anatomique du sarcome

La localisation la plus fréquente était au niveau du membre inferieur avec 29 cas soit 60,41% ensuite 5 cas au niveau de l'utérus (10,41), par contre le pourcentage le plus faible à été trouvé au niveau du larynx, vessie, dans la région intrascapulaire, dans la paroi thoracique, et au niveau de la rate (2,08%).

1.1.4. Répartition des cas selon les types histologiques des sarcomes :

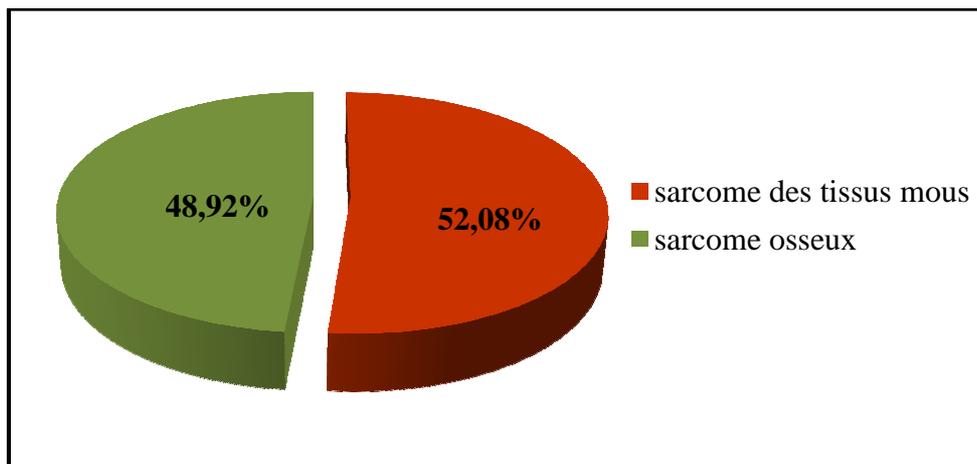


Figure 11: Répartition des cas selon le type histologique des sarcomes

D'après les résultats obtenus on remarque que les patients qui atteints d'un sarcome des tissus mous (55,31 %) sont les plus fréquents par rapport à ceux qui ont un sarcome osseux (46,80%).

1.1.5. Répartition des cas selon les sous types histologiques des sarcomes :

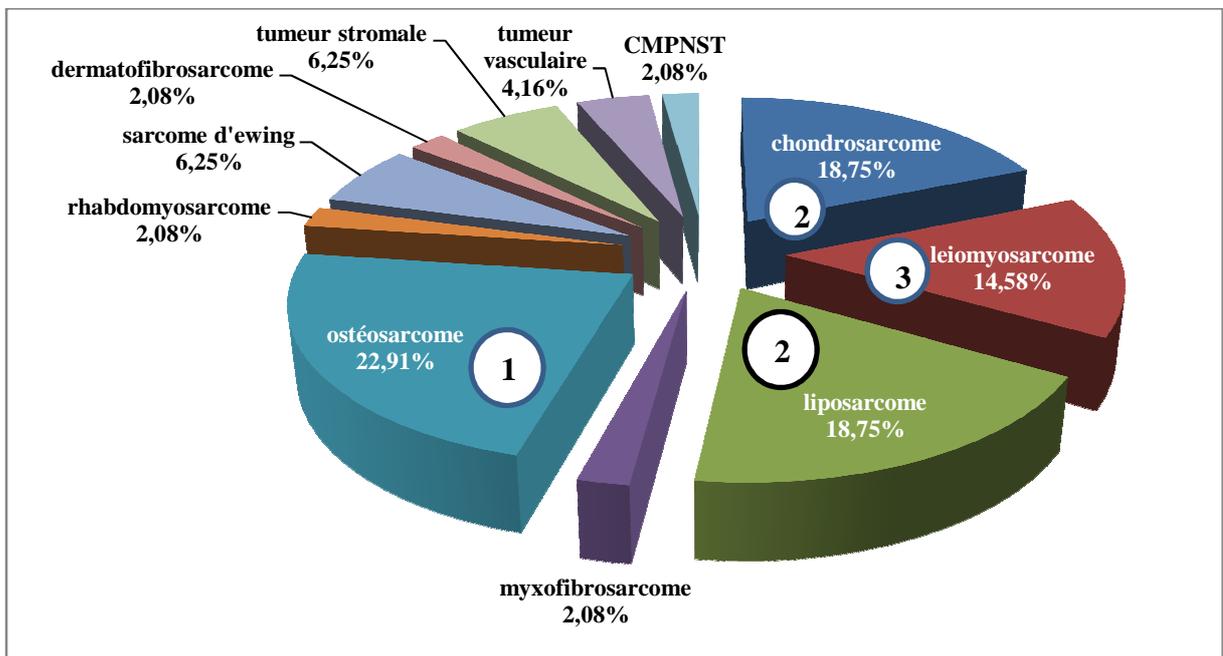


Figure 12 : Répartition des cas selon le sous type histologique des sarcomes

D'après les résultats obtenus, les sarcomes les plus répondus sont les ostéosarcomes qui touchent 11 patients de notre échantillon (22,91%), suivis par les liposarcomes et les chondrosarcomes (18,75%) qui prennent la deuxième place. Tandis que les léiomyosarcomes se classent à la troisième place (14,89%).

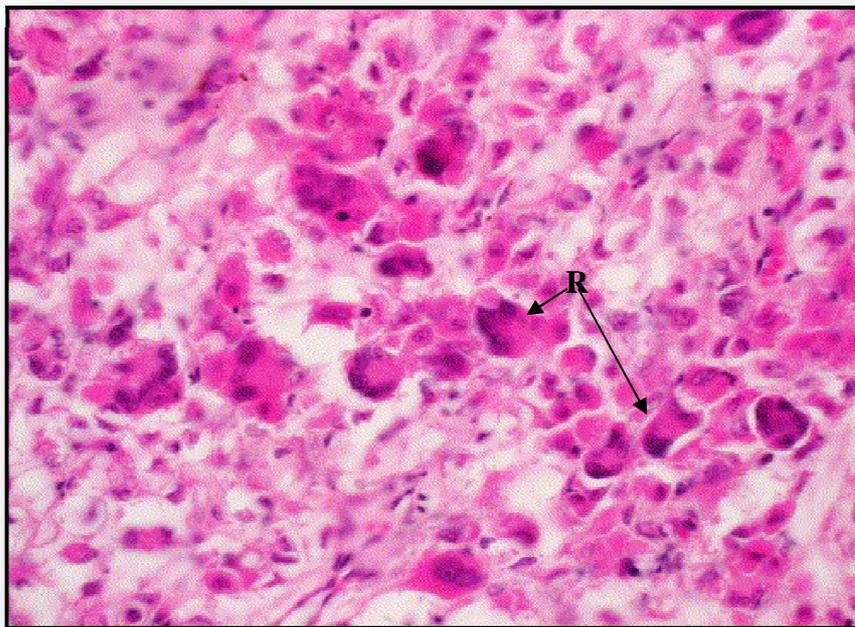
III.1.4. Résultat de l'histologie :

L'analyse histologique de routine des coupes tissulaires de notre série a permis d'arriver au diagnostic dans la majorité des cas.

Pour L'examen au faible grossissement : souvent le plus important, il permet de recueillir des informations sur la taille, le siège de la tumeur, ses rapports avec les tissus normaux, l'aspect de ses bords, sa cellularité, la substance interstitielle, la vascularisation, et de rechercher à l'échelon microscopique d'éventuelles zones de nécrose.

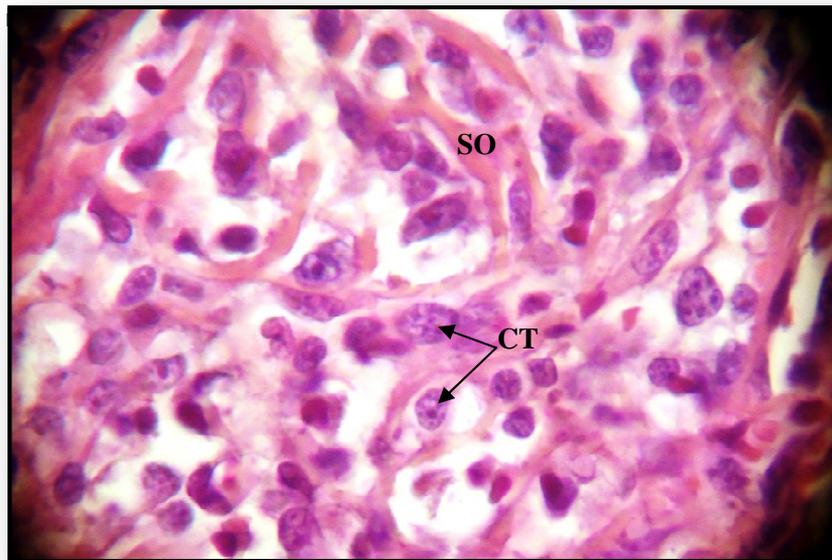
L'examen au fort grossissement apporte lui aussi des informations importantes :

- permet souvent de préciser le degré et le type de différenciation par l'examen attentif du cytoplasme et du noyau. C'est souvent à ce grossissement que l'on peut identifier de manière formelle la présence de lipoblastes, de cellules tumorales musculaires striées ou musculaires lisses, la présence de myofibroblastes, de cellules nerveuses. Cet examen permettra également d'apprécier l'activité mitotique et la mise en évidence éventuelle de mitoses atypiques orientant très fortement vers le diagnostic de malignité.



R :Rhabdomyoblaste (Cellule tumorale en raquette)

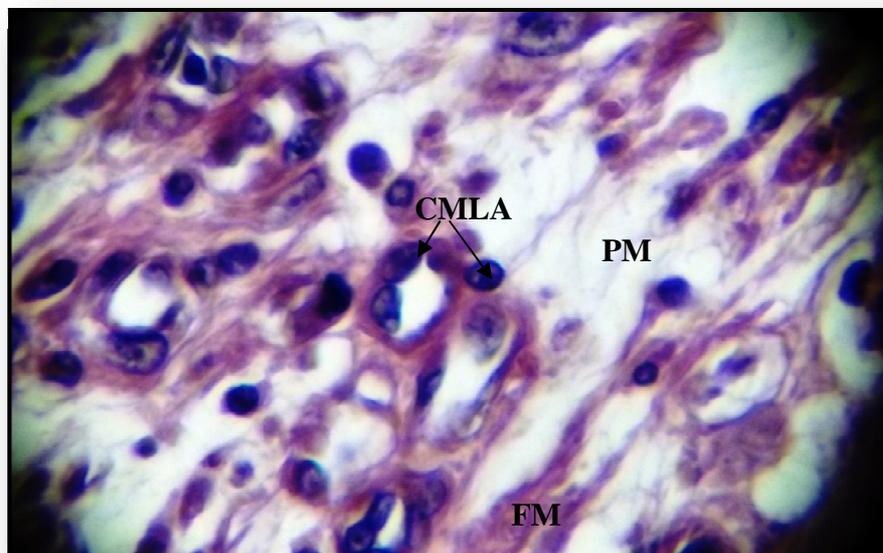
Figure 13 : Aspect histopathologique d'un Rhabdomyosarcome .Coloration H&E; Grx40 (photo originale)



SO: Substance ostéoïde

CT: Cellules tumorales

Figure 14: Aspect histopathologique d'un Ostéosarcome ostéoblastique .Coloration **HE**; Gr×40 (photo originale)

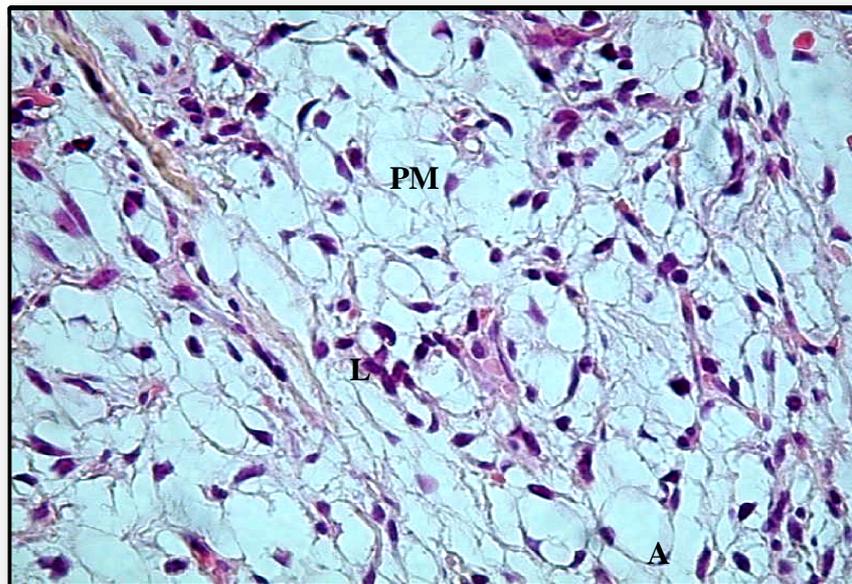


CMLA : Cellules musculaires lisses atypiques

FM : Fibres musculaires

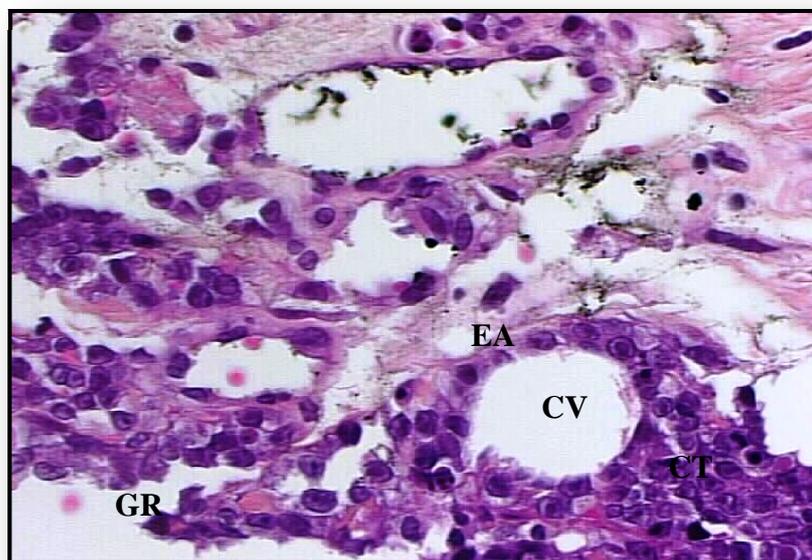
PM: Plaque myxoïde

Figure 15: Aspect histopathologique d'un Léiomyosarcome .Coloration **HE**; Gr×40 (photo originale)



L : Lipoblaste (cellule tumorale) PM : plage myxoïde A : Adipocyte

Figure 16: Aspect histopathologique d'un liposarcome myxoïde .Coloration **HE**; Gr×10 (photo originale)



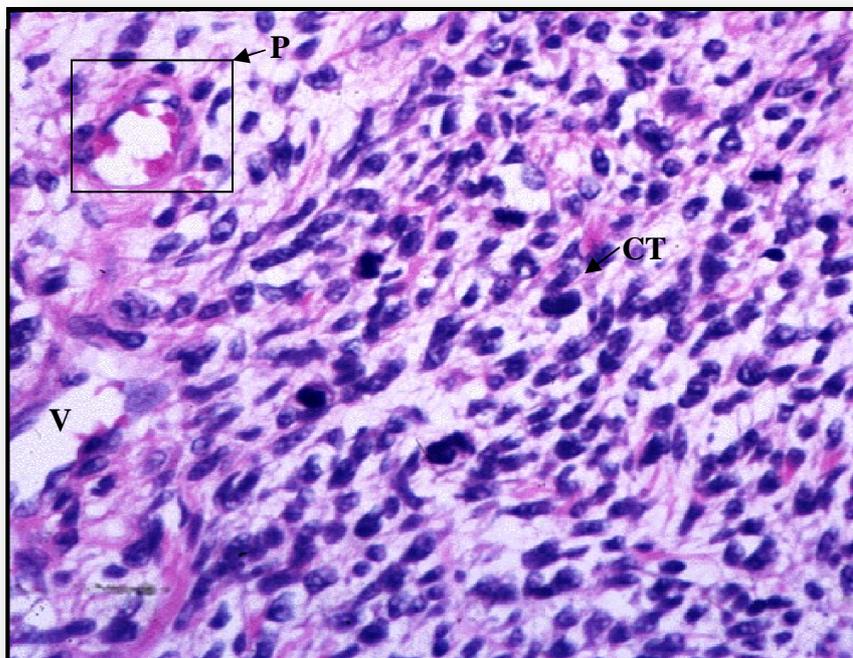
CT : cellule tumorale EA : endothélium atypique CV: cavité vasculaire
GR: Globule rouge

Figure 17: Aspect histopathologique d'un Angiosarcome .Coloration **HE**; Gr×40 (photo originale)

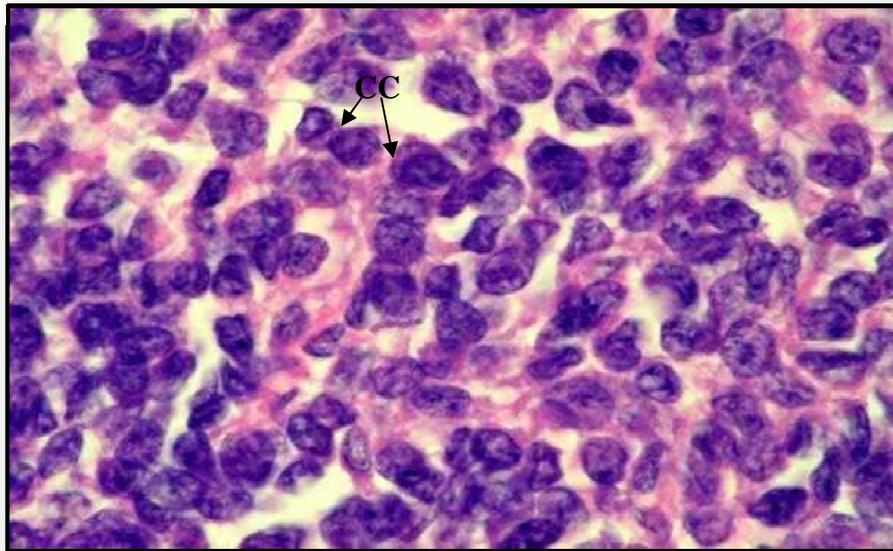


L: Lipoblaste A: Adipocyte

Figure 18: Aspect histopathologique d'un liposarcome d'édifférencier .Coloration HE; Grx40 (photo originale)

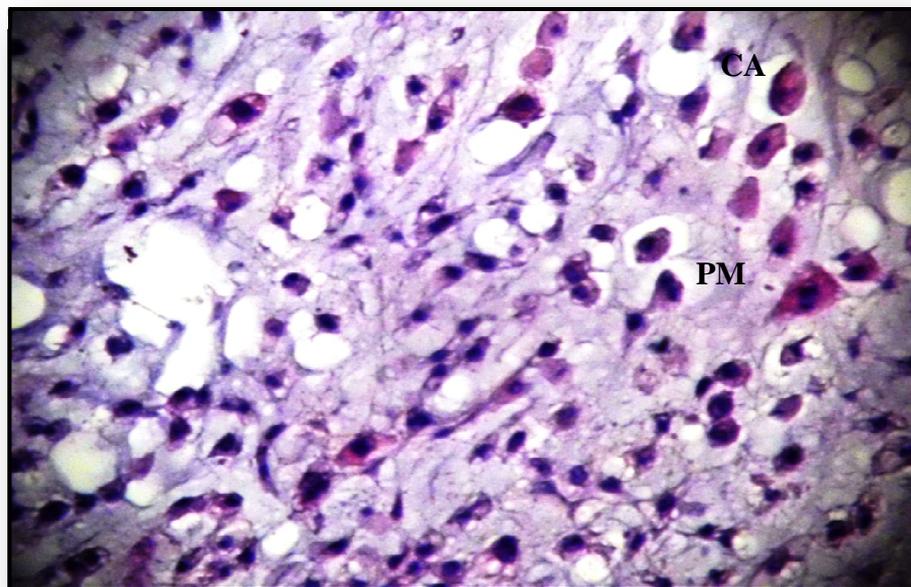


P: Prolifération au tour des vaisseaux V : vaisseaux CT : cellule tumorale
Figure 19 : Aspect histopathologique d'un Schwannome malin .Coloration HE; Grx40 (photo originale)



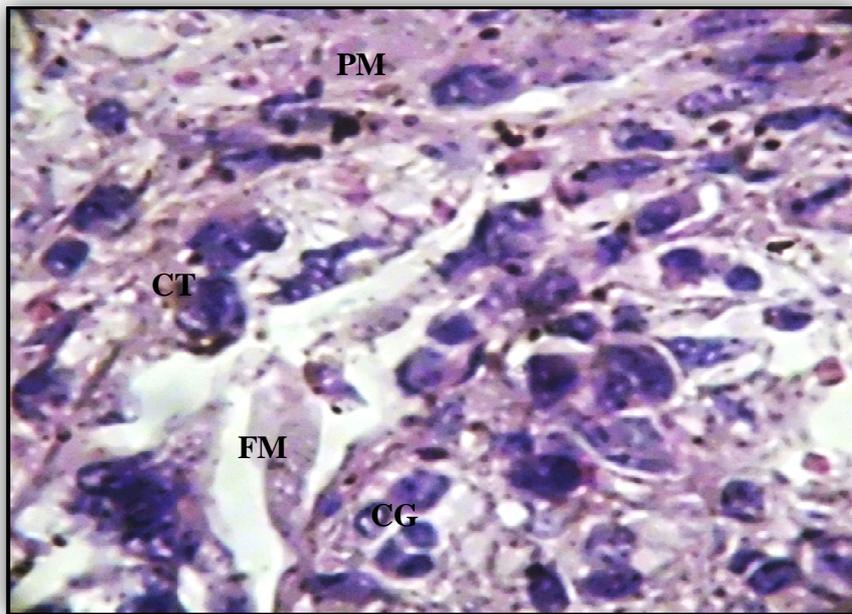
CC : cellules cancéreuses rondes et monomorphes avec un cytoplasme réduit et un noyau vésiculeux et largement basophile.

Figure 20 : Aspect histopathologique d'un sarcome d'Ewing .Coloration HE; Grx40 (photo originale).



CA : chondrocytes atypique avec un noyau atypique et un cytoplasme basophile
PM : plage myxoïde

Figure 21 : Aspect histopathologique d'un chondrosarcome .Coloration HE; Grx10 (photo originale).



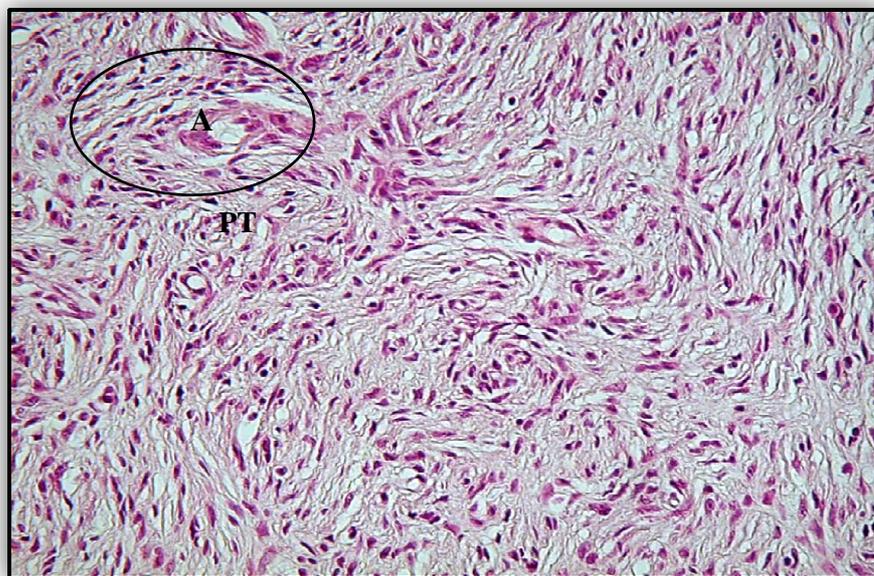
PM: plage myxoïde

FM: Fibre musculaire atypique

CG : cellule géante

CT : Cellule tumorale

Figure 22 : Aspect histopathologique d'un Myxofibrosarcome .Coloration **HE**; Grx**40** (photo originale).



A : Adipocyte

PT : prolifération tumorale agencée en rayon de roue englobant la graisse

Figure 23 : Aspect histopathologique d'un dermatofibrosarcome de Darier et Ferrand .Coloration **HE**; Grx**10** (photo originale)

III.1.5. Résultats de l'immunohistochimie:

L'étude immunohistochimique a été réalisée sur 19 Prélèvements tumoraux parmi les 48 cas. Soit 39% de nos échantillons, font l'objectif de l'étude des marqueurs spéciaux pour chaque type de sarcome.

III.1.5.1. Les résultats individuels pour chaque marqueur :

Les marqueurs étudiés sont :

- MDM2 dans 4 cas
- AML dans 8 cas
- PS100 dans 7 cas
- Desmine dans 8 cas
- Myogénine dans 3 cas
- Vimentine dans 3 cas
- h-caldesmone dans 5 cas
- CD99 dans 4 cas
- CD117 dans 3 cas

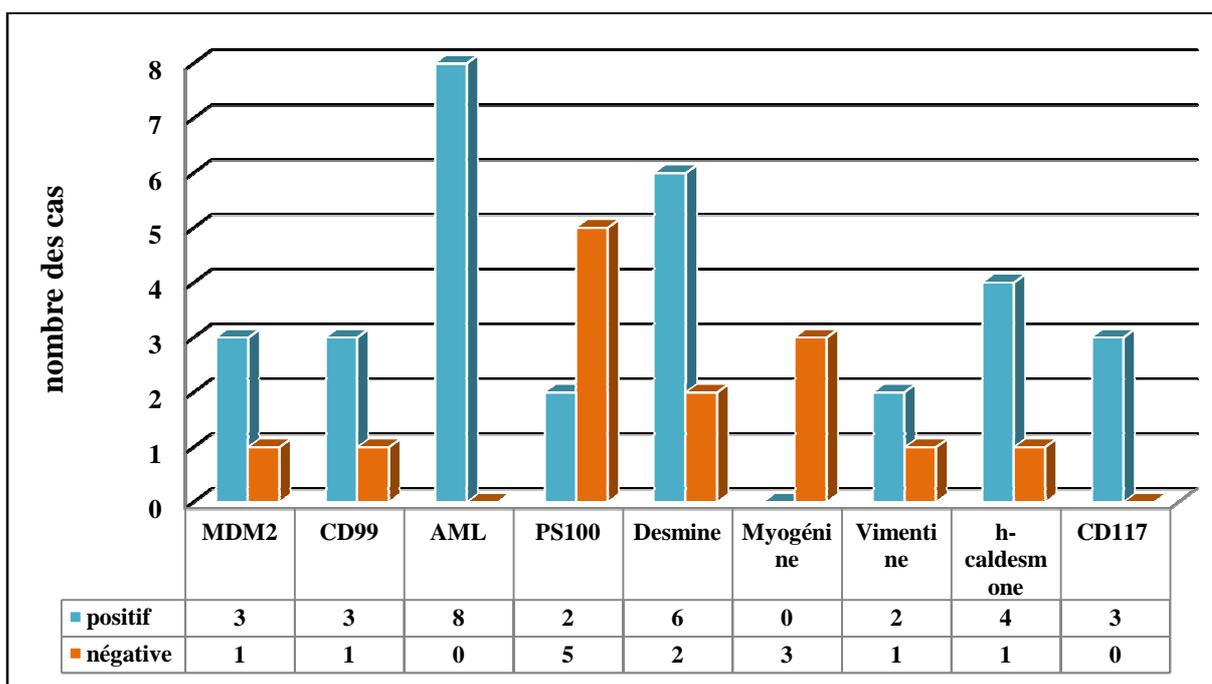


Figure 24 : Les résultats individuels pour chaque marqueur

On remarque que l'Ac les plus fréquemment exprimés sont l'AML, CD117, desmine, Alors que myogénine était négatifs dans tous les cas où il a été utilisé, ceci est parfaitement compréhensible du fait que cet Ac est surtout utilisé pour éliminer des tumeurs spécifiques.

III.1.5.2. Les résultats de l'IHC en fonction du type histologique :

L'étude immunohistochimique est réalisée dans :

- 7 cas de LMS
- 6 cas de LPS
- 3 cas de tumeur stromale
- 3 cas de sarcome d'Ewing

Pour le reste des types histologiques, l'IHC n'était pas réalisée en aucun cas. Les 11 cas d'ostéosarcome nécessitant pas la technique d'immunohistochimie, et les 9 cas de chondrosarcomes : les anticorps ne sont pas disponible au niveau de notre l'aboratoire, tandis que pour les autres types histologiques y'a un manque d'effectif.

LMS : les résultats sont donnés par rapport au nombre de cas où l'Ac est utilisé.

- AML : positifs chez 6 cas.
- h-caldesmon : positif dans les 4 cas.
- PS100 : négatifs au niveau de deux cas.
- Desmine : positif au niveau de 5 cas.
- Vimentine : positif chez deux cas.
- Myogénine : négatif sur un seul cas.

LPS

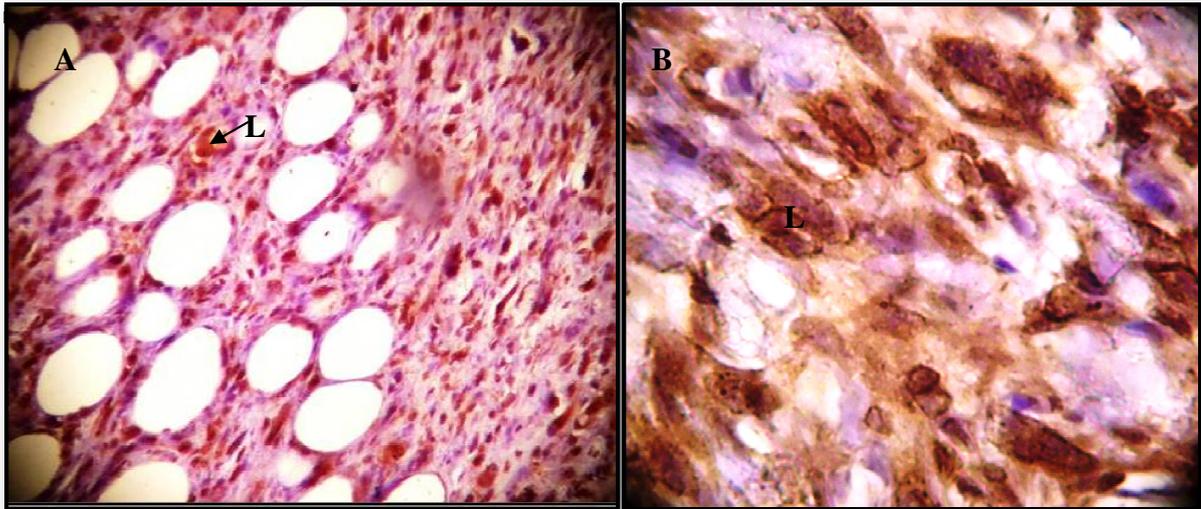
- MDM2 : positif dans 3 cas et négatif dans un seul cas.
- CD99 : négatifs chez un seul cas.
- Desmine : négatifs chez deux cas.
- Myogénine : négatifs chez deux cas.
- PS100 : négatifs chez un seul cas.

Tumeur stromale

- CD117 : positif sur tout les cas.
- Desmine : positif chez un seul cas.
- AML : positif chez deux cas.
- PS100 : positif dans chez un deux cas.
- h-caldesmon : positif chez un seul cas.

Sarcome d'Ewing

- CD99: positifs sur tout les cas.
- PS100 : négatif chez un seul cas.
- Vimentine : négatif chez un seul cas.



L : Lipoblaste

Figure 25 : Immunomarquage des cellules lipoblastiques par l'utilisation d'anticorps anti MDM2 au niveau d'un liposarcome de haut grade, (A): **Gr**× 10 ; (B):**Gr**×40. (**Photo originale**)

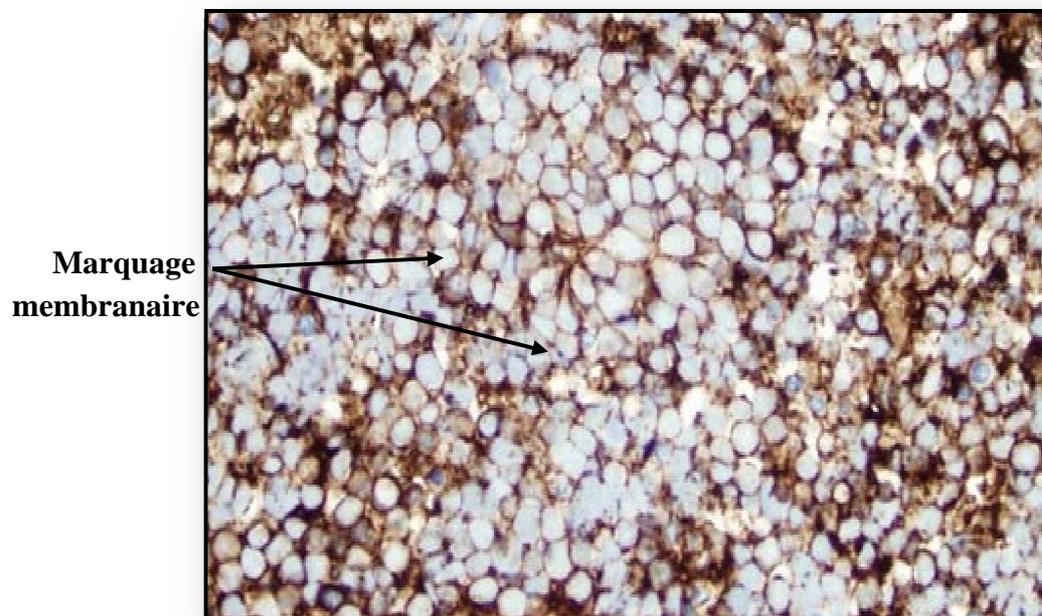


Figure 26 : Immunomarquage des cellules tumorale par l'utilisation d'anticorps anti CD99 au niveau d'un sarcome d'Ewing **Gr**×10 (**photo originale**).

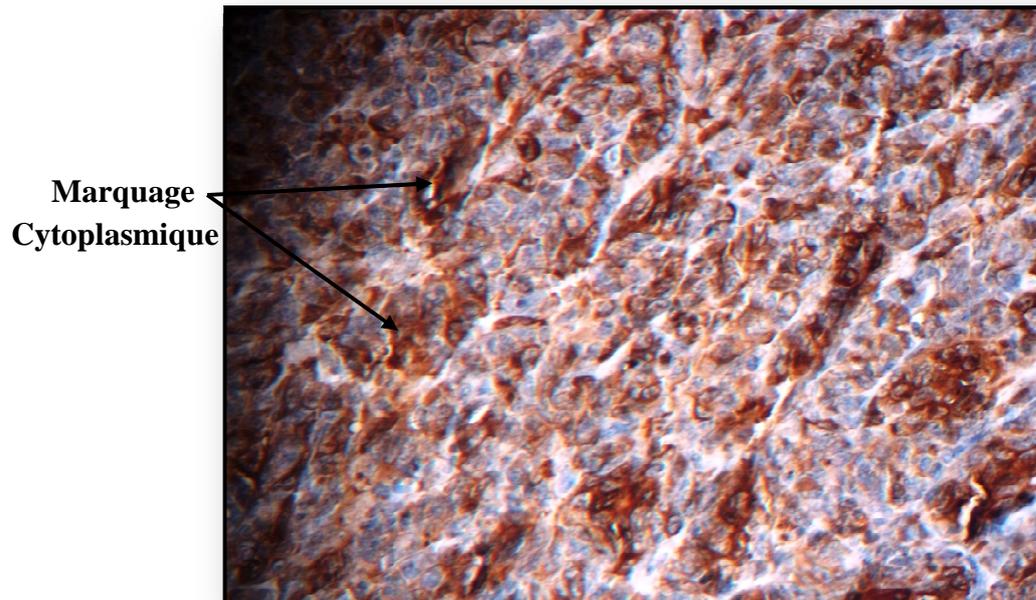


Figure 27 : Immunomarquage des cellules tumorale par l'utilisation d'anticorps anti AML au niveau d'un Léiomyosarcome pléiomorphe **Gr**×10. (**Photo originale**)

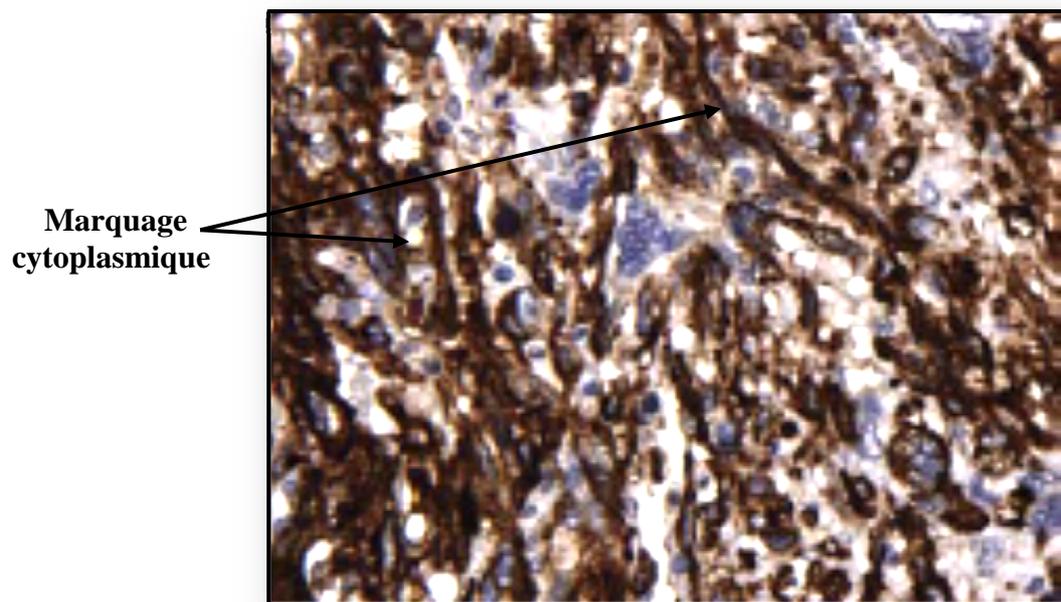


Figure 28 : Immunomarquage cytoplasmique des cellules tumorale par l'utilisation l'anticorps anti h-caldesmon au niveau d'un Léiomyosarcome **Gr**×10. (**Photo originale**)

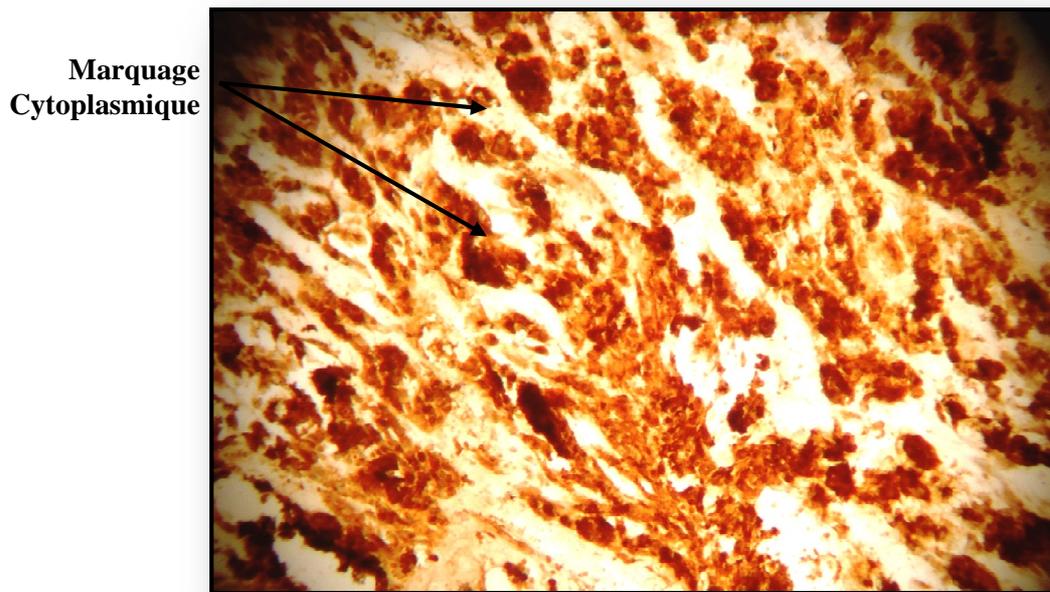


Figure 29 : Immunomarquage des cellules tumorale par l'utilisation d'anticorps anti ps100 au niveau d'une tumeur stromale Gr \times 10. (Photo originale)

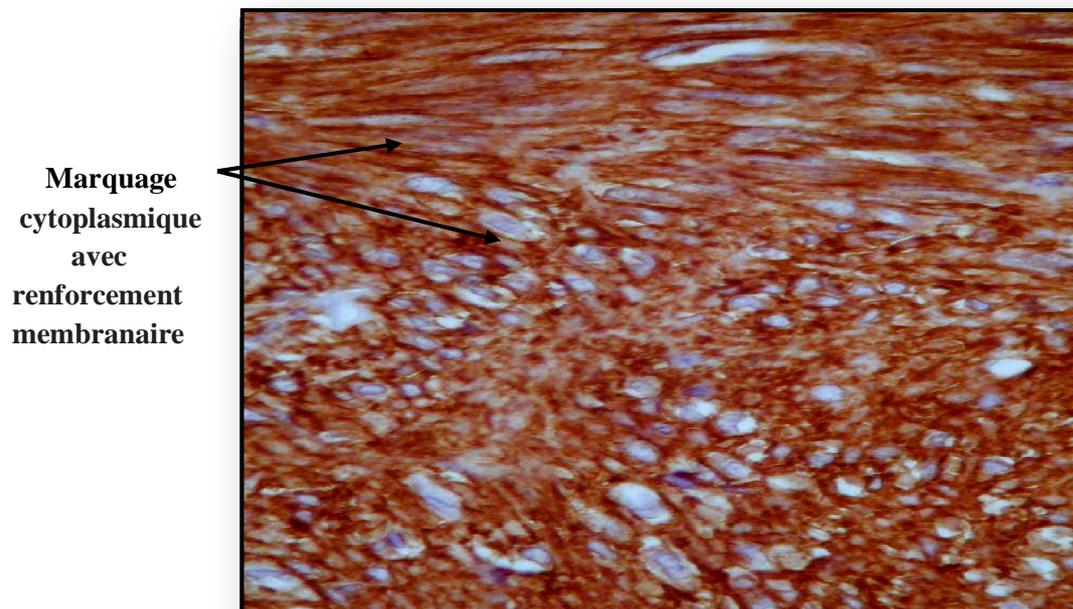


Figure 30: Immunomarquage cytoplasmique avec renforcement membranaire des cellules tumorale par l'utilisation d'anticorps anti c-KIT (CD117), au niveau d'une tumeur stromale Gr \times 10. (Photo originale)

III.2. DISCUSSION:

Les sarcomes, correspondent aux tumeurs mésoenchymateuses malignes, ils sont rares puisqu'ils représentent moins de 1 % des tumeurs malignes de l'adulte et 15 % des cancers de l'enfant (**Zachary et al., 2012 ; Ducimetière et al., 2010**) . Ils peuvent toucher une tranche d'âge allant du nouveau né au sujet âgé, mais l'incidence augmente avec l'âge. Tous types histologiques confondus, l'âge moyen de survenue est de 65 ans (**Bui Nguyen Binh., 2004; Fletcher et al., 2002 ; Panel et al., 2001 ; Nijhuis et al., 1999**).

Selon Ross et al, avec les données du National cancer institute's Surveillance, Epidemiology, and End Results Program (SEER), environ 15% des patients présentant un sarcome sont âgés de moins de 15 ans, et à peu près 40% sont âgés de 55 ans ou plus. (**Weiss et al., 2001 ; Ross et al., 1993**).

Dans notre série, la moyenne d'âge est de 43,72 ans, avec des extrêmes de 13 et 85 ans. La répartition des malades selon les tranches d'âge, montre deux pics de fréquence situés entre 0 et 19 chez les hommes et entre 60 ans et 65 ans chez les femmes.

Selon une mise au point sur l'épidémiologie des sarcomes, la répartition homme-femme montre une nette prédominance masculine, avec 20 fois plus de sarcomes chez l'homme que chez la femme. (**Panel et al., 2001**).

Des études faites par Kasse et ses collègues montrent une légère prédominance masculine (57%) (**Capanna ., 1998 ; Bui Nguyen Binh., 2004 ; Kasse et al., 2003**).

Alors que dans notre série la prédominance masculine est notée avec (52,08%) soit u sex-ratio de 1,08.

Concernant la localisation, les sarcomes peuvent se développer dans n'importe quel endroits, ils possèdent une répartition ubiquitaire, mais les localisations les plus répandues sont par ordre décroissant de fréquence : les membres (59 à 87%) avec une nette prédominance au niveau du membre inférieur (45-63%). Le tronc (13 à 19%). Le rétropéritoine (12 à 15%) Tête et cou (9 à 10%) (**Gaynor et al ., 1992 ; Pisters et al., 1996 ; Fayette et al., 2005 ; Bui Nguyen Binh ., 2004 ; Stoeckle ., 2006**).

Dans notre série nous ne retrouvons pas tout a fait les même localisation , le membre inférieur (fémur, cuisse, genou, jambe) est le plus touché (60,41%) car tous les types de mésoenchymes sont regroupés au niveau des membres, le tronc (la paroi thoracique) (2,08%),, aucun résultat retrouvé au niveau de : Le rétropéritoine, Tête et cou, par contre on a trouvé des localisations au niveau de l'utérus, et au niveau de la vessie,

Les études faites par la SEER (1973-2008), ont montrées que les sarcomes des tissus mous se produisent actuellement beaucoup plus fréquemment que les tumeurs osseuses malignes. En 2008, les sarcomes des tissus mous ont représenté près de 87% de tous les sarcomes diagnostiqués, tandis que les 13% restants des diagnostics étaient les tumeurs osseuses malignes (**Zachary et al., 2012**).

Confirment a notre résultat qui montrent que les sarcomes de tissu mou (52,08%) sont plus fréquents que les sarcomes osseux (48,92 %).

Des études faites par Burningham et al ont montrés que les ostéosarcomes sont plus fréquent chez l'enfant (âge ≤ 20 ans) (**Burningham et al., 2012**), tandis que le liposarcome et le chondrosarcome sont les sarcomes les plus fréquents de l'adulte, ensemble, ils représentent 35-45% de tous les sarcomes. Néanmoins, l'incidence des différents types varie selon les différentes séries.

Comme celle de Hashimoto et al., parmi les 1116 étudiés, Le chondrosarcome (25,1%) et le liposarcome (11,6%) étaient les types histologiques les plus représentés, suivis par le rhabdomyosarcome (9,7%), le léiomyosarcome (9,1%), le schwannome malin (5,9%) et le fibrosarcome (5,2%) (**Hashimoto et al., 1992**).

Dans la série de Markhede et al, les 3 sarcomes les plus fréquents étaient le Histiocytome fibreux malin (28%), le fibrosarcome (14%) et le liposarcome (9%). Le rhabdomyosarcome, le sarcome d'Ewing /PNET étaient les sarcomes les plus répandus de l'enfance (**Markhede et al., 1982**).

Dans notre travail, les sarcomes les plus fréquents sont l'ostéosarcome (22,91%), le liposarcome et le chondrosarcome (18,75%), suivis par le léiomyosarcome (5,2%), le sarcome d'Ewing et les tumeurs stromale (6,25%), et en dernier lieu, MNPST, et le RMS avec 2,08% des cas pour chaque type.

L'immunohistochimie occupe actuellement une place importante et constitue un réel progrès dans le diagnostic et le classement des sarcomes, grâce au nombre croissant d'anticorps (Ac) de bonne qualité et à leur disponibilité.

L'IHC ne peut être utile que sous certaines conditions d'utilisation :

- elle doit être considérée comme un complément de la morphologie,
- la technique doit être d'excellente qualité, évaluée à l'aide de témoins externes et internes,
- il faut préparer une batterie de marqueurs,
- l'interprétation doit être rigoureuse.

L'IHC ne contribue qu'exceptionnellement au diagnostic de bénignité ou de malignité d'une lésion. Elle peut cependant apporter un argument décisif pour le diagnostic de certaines lésions bénignes (tumeurs bénignes des nerfs périphériques).

Certains marqueurs de prolifération, comme le Mib-1 (Ki67), peuvent théoriquement être utiles pour aider à déterminer le degré de malignité de certaines tumeurs, comme les tumeurs stromales gastro-intestinales. Ils doivent cependant être considérés comme en cours d'évaluation et utilisés avec une grande prudence, des lésions bénignes réactionnelles pouvant s'avérer beaucoup plus prolifératives que des tumeurs malignes (cas des faciites et lésions apparentées). Indépendamment de sa valeur diagnostique discutable, le marqueur de prolifération Ki67 semble posséder, dans plusieurs séries de la littérature, un intérêt pronostique propre (**Jensen et al., 1988**).

Pour l'identification de la nature sarcomateuse ou non d'une tumeur maligne indifférenciée, L'IHC est ici d'une grande utilité et permet habituellement d'identifier un carcinome (Cytokératine et EMA positifs), un mélanome (vimentine, protéine S100 et HMB45, Melan-A positifs), un lymphome (CD45 positifs) ou un sarcome (vimentine positive).

Certains cas restent cependant d'interprétation difficile du fait de carcinomes positifs pour la vimentine et de sarcomes positifs pour les marqueurs épithéiaux.

Dans ces cas, c'est sur un ensemble d'arguments cliniques, morphologiques (HES) et immunohistochimique que l'on pourra conclure. Dans cette situation, l'IHC est surtout utile pour confirmer un type de sarcome suspecté sur la morphologie, mais est en pratique rarement utile devant un sarcome totalement indifférencié.

La contribution de l'IHC à la classification d'un sarcome dépend du type histologique envisagé. En pratique 4 marqueurs musculaires sont utilisés : desmine, actine musculaire lisse α , actine musculaire globale HHF35, ainsi que la myogénine. Les marqueurs les plus utiles pour le diagnostic de RMS sont la desmine et la myogénine qui sont positives dans environ 90% de ces tumeurs (**Cessna et al., 2001 ; Kumar et al., 2003**). Par contre l'actine musculaire lisse α est habituellement négative dans les RMS. Cependant, quelques cellules tumorales peuvent exprimer ce marqueur dans ce type de tumeur.

Pour le diagnostic de léiomyosarcome Les marqueurs les plus utiles sont la desmine, l'actine musculaire lisse alpha et la caldesmone. La desmine est le plus spécifique mais l'Ag reconnu résiste mal à la fixation formolée et moins de 50% des cas de léiomyosarcomes sont positifs. L'actine musculaire lisse alpha est plus sensible mais moins spécifique. L'h-caldesmone, est assez spécifique de la différenciation musculaire mais sa sensibilité dépend de la localisation et du degré de différenciation des léiomyosarcomes. Son utilisation apparaît très intéressante pour distinguer les tumeurs musculaires lisses des lésions myofibroblastiques (**Carbone et al., 1992 ; Kumar et al., 2003**).

Dans notre série tous les cas léiomyosarcomes sont marquer positivement par l'actine muscle lisse et la caldesmon. Ce qui prouvée que ces tumeurs sont d'origine musculaire lisse

De plus L'IHC peut être d'une grande aide pour le diagnostic des liposarcomes du fait de la positivité presque constante et relativement spécifique des anti-MDM2 et CDK4 liée à l'amplification de ces deux gènes (**Pilotis et al., 2000**).

Des études faites par Florence et ses collègues montrent que les cellules de liposarcomes bien différenciés contiennent des chromosomes surnuméraires géants ou en anneau, de structure complexe, porteurs d'amplifications de différentes régions du génome et notamment, de façon constante, de la région 12q14-15 incluant le gène *MDM2* (**Mandahl et al., 1998 ; Karaman et al., 2008**).

En plus, ces chromosomes présentent la particularité d'être dépourvus de séquences alphasatellites centromériques. La détection de l'amplifications de MDM2 est une bonne aide au diagnostic différentiel par rapport aux lipomes, Les liposarcomes dédifférenciés présentent un profil d'amplifications de MDM2 similaire à celui des liposarcomes bien différenciés (**Florence et al., 2004**).

Les même résultats on été trouvés, les 3 cas de liposarcome de haut grade ou dédifférencier sont marqués positivement par l'anticorps anti MDM2, tandis que le liposarcome pléomorphe est marqué négativement.

Dans le liposarcome pléomorphe on n'observe pas d'amplification constante de *MDM2*. L'analyse de deux cas par CGH sur chromosomes et de 8 cas par CGH sur biopuces d'ADN a confirmé cette absence d'amplification spécifique et n'a pas mis en évidence d'anomalies pathognomoniques de liposarcome (Fritz et al., 2002 ; Szymanska et al., 1996). Des altérations de *P53*, telles que des mutations dans les exons 7 et 8 ou des pertes d'hétérozygotie ont été observées dans 4 cas d'une série de 9. Ces 4 cas ne comportaient pas d'amplification de *MDM2* (Schneider-Stock et al., 1998).

L'utilisation d'IHC dans le diagnostic de sarcome d'Ewing et neuro-épithéliome (PNET) des tissus mous sont maintenant considérées comme appartenant au même groupe des tumeurs neuro-ectodermiques périphériques. Montrent un marquage positif avec l'anticorps CD99 (MIC2).

En 1983, Aurias et al. Décrivent la présence d'une translocation chromosomique équilibrée retrouvée dans 83 % des sarcomes d'Ewing. La translocation t(11;22) (q24;q12) devient un marqueur cytogénétique spécifique de cette entité tumorale (Aurias et al., 1983).

Ce marquage est expliqué par une hyperexpression du gène MIC2, cette hyperexpression peut maintenant être mise en évidence au niveau protéique à l'aide de l'Ac MIC2 (Kovar et al., 1990).

Les mêmes résultats ont été trouvés dans notre série les 3 cas de sarcome d'Ewing sont marqués positivement avec l'anticorps CD99.

Les tumeurs stromales ont été ainsi définies comme des tumeurs mésenchymateuses du tube digestif présentant un aspect histologique particulier, l'utilisation d'IHC aide pour le diagnostic de ces tumeurs du fait de la positivité de c-Kit (CD117). En 1998, Hirota et al., établissent la relation entre le développement de GIST et la mutation du gène *KIT* (Hirota et al., 1998).

De nombreuses publications ont depuis confirmé ces premiers travaux, permettant une avancée fondamentale dans la compréhension de la pathogénie de ces tumeurs. Les tumeurs stromales digestives sont caractérisées par l'existence d'anomalies moléculaires dans deux gènes cibles, *KIT* et *PDGFRA* (Duensing et al., 2004).

L'immunomarquage est habituellement cytoplasmique avec renforcement membranaire, plus rarement cytoplasmique en grains périnucléaires (Coindre et al., 2005). (GIST) sont associées dans la plupart des cas à une mutation activatrice de ce gène.

Des études faites par Corless et al., montrent que dans 70 % des cas, les mutations de *KIT* siègent dans l'exon 11, touchant le domaine juxta membranaire intracellulaire. Dans 5 à 10 % des cas, elles siègent dans l'exon 9, touchant le domaine juxta membranaire extracellulaire et, dans 5 % des cas, dans l'exon 13, touchant le domaine activité kinase I. Rarement (< 5 %), elles se situent dans l'exon 17, touchant la boucle d'activation de *KIT* (Corless et al., 2004).

Dans notre série, l'expression du c-Kit était positive avec un marquage cytoplasmique dans tous les cas. L'utilisation du c-Kit nous a permis de redresser le diagnostic en faveur d'une tumeur stromale dans 3 cas (diagnostiqués auparavant comme des tumeurs musculaires et comme schwannome dans respectivement 1 et 2 cas).

L'immunohistochimie n'a pas été réalisée sur les cas de chondrosarcome car, l'anticorps MMP13 n'est pas disponible au niveau de notre laboratoire. Dans l'étude actuelle, il est intéressant de noter que, dans la plupart des cas de chondrosarcome analysés étaient positifs

pour le MMP-13, il y avait de nettes variations dans le pourcentage de cellules positives et l'intensité de la coloration (**Grimer et al., 2007**).

la surexpression de MMP13 a été observé dans les cas de chondrosarcome de grade III . Alors, la réaction la plus faible a été notée dans la plupart des cas de chondrosarcome de grade I. Conformément à Uria et al ces variations de MMP-13, l'intensité de la coloration peut être tributaires du comportement biologique et les caractéristiques histopathologiques (degré de cellularité et polymorphisme) dans cette tumeur (**Uria et al., 1998**).

Les mécanismes impliqués dans l'activation de la MMP-13 sont complexes. Des recherches antérieures ont indiqué que la production d'un facteur de croissance appelé facteur de croissance des fibroblastes basique (bFGF) par les chondrocytes malignes qui stimule la cellule même pour produire la collagénase-3 (MMP-13) (**Boileau et al., 2005 ; Lobb et al., 1986**)

L'analyse moléculaire des ostéosarcomes a montré que l'inactivation du supprimeurs de tumeur Rb et p53 joue un rôle dans leur développement. Ostéosarcomes sont la deuxième tumeur la plus fréquente chez les patients atteints de rétinoblastome héréditaire, (**Helman et Meltzer., 2003 ; Wadayama et al, 1994**).

Ostéosarcomes contiennent des cellules malignes hautement prolifératives qui sont en grande partie arrêtés dans leur différenciation (**Tang et al 2008, Thomas et al 2004**). L'ostéosarcome est caractérisé par une prolifération ostéoblastique (constituée d'ostéoblastes de petite taille regroupés de manière anarchique). Le diagnostic de malignité est facile, et nécessite pas la technique immunohistochimique, étant donné le grand nombre de mitoses et d'atypies. De manière caractéristique, ces cellules élaborent une matrice extracellulaire osseuse différenciée ou immature (ostéoïde).qui est l'élément du diagnostic (**Modarressi Ghavam et al., 2006**).

On peut dire que l'IHC joue un rôle crucial dans le diagnostic de ses tumeurs, mais dans certain cas le diagnostic anatomopathologique est difficile. Depuis un peu plus de 20 ans maintenant, un nombre croissant d'anomalies génétiques spécifiques de certains sarcomes est décrit, offrant un outil diagnostique dans de nombreuses situations. Ainsi, environ 25 à 30 % des sarcomes de l'adulte et de l'enfant présentent une translocation spécifique d'un type ou sous-type histologique, par ex : les liposarcomes bien différenciés-dédifférenciés présentent une amplification pratiquement constante des gènes MDM2 et CDK4. Parallèlement, les développements technologiques ont permis d'accéder à des études de biologie moléculaire en pratique de routine. L'évolution dans la connaissance et la prise en charge des sarcomes et l'arrivée de traitements ciblés spécifiques sont responsables d'une demande croissante d'un diagnostic précis de la part des oncologues.

Il existe différentes méthodes d'étude en génétique des sarcomes : pour but de détecter les anomalies chromosomique, ces méthodes sont :

- Le caryotype est l'étude de la morphologie des chromosomes au moment de la métaphase.
- Hybridation fluorescente in situ (FISH) qui utilise une sonde fluorescente constituée de la séquence complémentaire du segment d'ADN cellulaire à étudier.

-PCR quantitative qui utilise un couple d'amorces (séquences d'ADN spécifiques d'une région du génome) et, par une séquence de dénaturations–élongations, amplifie le segment d'ADN compris entre ces deux amorces. En comparant le résultat à celui d'un gène témoin.

- Hybridation génomique comparative (CGH) C'est une technique d'étude globale des gains et pertes de matériel génétique par une tumeur.

Les sarcomes sont des tumeurs rares par rapport au autre type de cancer, pour cette raison, elles sont difficiles à traiter car métastase par voie sanguine.

Notre étude a confirmé la répartition particulière des sarcomes par sexe et par âge, selon la localisation et selon le sous-type histologique. Elle a également apporté de nouvelles informations.

Nous possédons à présent une gamme étendue de moyens et de techniques pour étudier cet aspect de ce type de cancer.

L'utilisation de coloration standard Hématoxyline-Eosine comme moyen de diagnostic uniquement dans les cas de l'ostéosarcome et non pas dans tout les cas.

L'utilisation d'immunohistochimie joue un rôle important dans le diagnostic de ce type de cancer. L'un de ses principaux services publics est d'identifier correctement une tumeur comme étant d'origine mésenchymateuses ou non, elle a rapporté que les sous types n'expriment pas les mêmes marqueurs, donc chaque type possède des marqueurs spécifiques de la lignée. Aussi permet de faire la différence entre deux sarcomes de morphologie similaire et, identifier les lésions qui appartiennent au même spectre lésionnel en dépit de morphologies différentes.

Mais l'étude immunohistochimique reste insuffisante dans le diagnostic de certains cas, donc, il sera intéressant de compléter cette étude en appliquant des techniques de la biologie moléculaire qui peuvent apporter des informations plus approfondies sur le développement l'altération génétique de ce type de cancer et aussi permet d'évaluer le diagnostic.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ambros IM, Ambros PF, Strehl S, Kovar H, Gadner H, Salzer-Kuntschik M. MIC2 is a specific marker for Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumors. *Cancer* 1991;**67**(7):1886-93.
- Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. The cytoskeleton. In: editors. *Molecular biology of the cell*. 2nd ed. New York and London: Garland Publishing; 1989. p. 613-629.
- Ambros IM, Ambros PF, Strehl S, Kovar H, Gadner H, Salzer-Kuntschik M. MIC2 is a specific marker for Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumors. *Cancer* 1991;**67**(7):1886-93.
- Aurias A, Rimbaut C, Buffe D, Dubouset J, Mazabraud A. Translocation of chromosome 22 in Ewing's sarcoma. *CR Seances Acad Sci III* 1983 ; **296** : 1105-7.
- Aurias A, Rimbaut C, Buffe D, et al. Chromosomal translocations in Ewing Sarcoma. *N Engl J Med* 1983;**309**:496-8.
- Azumi N, Battifora H. The distribution of vimentin and keratin in epithelial and nonepithelial neoplasms. *Am J Clin Pathol* 1987;**88**:286-96.
- Beck AH, West RB, van de Rijn M. Gene expression profiling for the investigation of soft tissue sarcoma pathogenesis and the identification of diagnostic, prognostic and predictive biomarkers. *Virchows Arch*.2009; **456**:141-51.
- Beverly A, Teicher .Searching for molecular targets in sarcoma. 2012: **84**; 1-10.
- Beyaert R, Fiers W: Molecular mechanisms of tumor necrosis factor-induced cytotoxicity: What we do understand and what we do not. *FEBS Letters* 1994; **340**: 9-16.
- Blackstein ME, Blay JY, Corless C, Driman DK, Riddell R, Soulieres D, et al. Gastrointestinal stromal tumours: consensus statement on diagnosis and treatment. *Can J Gastroenterol* 2006; **20**: 157-63.
- Blanke CD, Rankin C, Demetri GD, Ryan CW, von Mehren M, Benjamin RS, *et al.* Phase III randomized, intergroup trial assessing imatinib mesylate at two dose levels in patients with unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumors expressing the kit receptor tyrosine kinase : S0033. *J Clin Oncol* 2008 ; **26** : 626-32.
- Blay JY. Targeted therapies of cancer : not lost in translation. *Bull Cancer* 2006 ; **93** : 799-804.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Boileau C, Pelletier JP, Tardif G, Fahmi H, Laufer S, *et al.*: The regulation of human MMP-13 by licofelone, an inhibitor of cyclo-oxygenases and 5-lipoxygenase, in human osteoarthritic chondrocytes is mediated by the inhibition of the p38 MAP kinase signaling pathway. *Ann Rheum Dis* 2005, **64**:891-898.
- Borre M, Bentzen SM, Nerstrom B, Overgaard J. Tumor cell proliferation and survival in patients with prostate cancer followed expectantly. *J Urol* 1998;**159**:1609-14.
- Bourdeaut F, Fréneaux P, Thuille B, Lellouch-Tubiana A, Nicolas A, Couturier J, et al. hSNF5/INI1-deficient tumours and rhabdoid tumours are convergent but not fully overlapping entities. *J Pathol* 2007 ; **211** : 323-30.
- Bovee JVMG, Hogendoorn PCW. Molecular pathology of sarcomas: concepts and clinical implications. *Virchows Arch.* 2010;**456** :193–9.
- Brennan PA, Umar T, Zaki GA, Langdon JD, Spedding A, Buckley J, et al. Are myoepithelial cells responsible for the widespread expression of inducible nitric oxide synthase in pleomorphic adenoma An immunohistochemical study. *J Oral Pathol Med* 2000;**29** :279-83.
- Bui Nguyen Binh M. Comparaison entre immunophénotype et altérations génétiques caractérisant les sarcomes des tissus mous : expression de MDM2, CDK4, C-JUN, RB1 et h-caldesmon dans une série de 100 cas., 2004, 98 p.
- Cailliez JC. et K. Verreman . Dictionnaire de biologie cellulaire et moléculaire. Edité par ellipses 2004. 315p.
- Capanna R. Le traitement des sarcomes des tissus mous Cahiers d'enseignement de la SOFCOT, 1998 ; **66** :175-189.
- Carbone A., A. Gloghini, R. Volpe, The value of immunohistochemistry in the diagnosis of soft tissue sarcomas *Ann oncol* 1992 ; **3**(2) :S51-S54.
- Casali PG, Jost L, Sleijfer S, Verweij J, Blay JY. Soft tissue sarcomas : ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2008 ; **19** (2) : 89-93.
- CDM. Fletcher, KK. Unni, F. Mertens World Health Organization classification of tumours Pathology and genetics of tumours of soft tissue and bone IARC Press : Lyon 2002.
- Cessna MH., H. Zhou, SL. Perkins, SR. Tripp, L. Layfield, C. Daines, CM. Coffin Are myogenin and myoD1 expression specific for rhabdomyosarcoma A study of 150 cases with emphasis on spindle cell mimics *Am J Surg Pathol* 2001 ; **25** : 1150-7.
- Chang TK, Li CY, Smithson WA. Immunocytochemical study of small round cell tumors in routinely processed specimens. *Arch Pathol Lab Med* 1989; **113**:1343-8.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Chibon F, Mariani O, Derré J et al ASKI (MAP3K5) as a potential therapeutic target in malignant fibrous histiocytomas with 12q14–15 and 6q23 amplifications. *Genes Chromosomes Cancer* 2004; **40**:32–37.
- Chipuk JE, Kuwana T, Bouchier-Hayes L, Droin NM, Newmeyer DD, Schuler M, Vert DR. Activation directe de Bax par p53 médiateur mitochondrial perméabilisation de la membrane et l'apoptose. 2004; 303 (5660):1010-4.
- Coindre J.-M.. Biologie moléculaire des sarcomes. 2010 ; **97** (11) : 1337-1345.
- Coindre JM, Bedossa P, Buinguyen Binh M. Comparaison entre Immunophénotype et Altérations génétiques caractérisant les sarcomes des tissus mous : expression de MDM2, CDK4, C-JUN et RB1 dans une série de 100 cas. Université PIERRE ET MARIE CURIE. Année 2004.
- Coindre JM, Emile JF, Monges G, Ranchère-Vince D, Scoazec JY. Tumeurs stromales gastro-intestinales : définition, caractéristiques histologiques, immunohistochimiques et génétiques, stratégie diagnostique. *Ann Pathol* 2005 ; **25** : 358-85.
- Coindre JM, Pédeutour F, Aurias A. Well-differentiated and dedifferentiated liposarcomas. *Virchows Arch* 2010 ; **456** : 167-79.
- Coindre JM. Intérêts et limites du grade histopronostique dans les sarcomes des tissus mous *Oncologie*, 2006; **8**(3):259-260.
- Corless CL, Fletcher JA, Heinrich MC. Biology of gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol* 2004 ; **22** : 3813-25.
- Creager AJ, Cohen JA, Geradts J. Aberrant expression of cell-cycle regulatory proteins in human mesenchymal neoplasia. *Cancer Detect Prev* 2001; **25**(2):123– 31.
- Demetri GD, von Mehren M, Blanke CD, Van den Abbeele AD, Eisenberg B, Roberts PJ, et al. Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors. *N Engl J Med* 2002 ; **347** : 472-80.
- Donato R. Functional roles of S100 proteins, calcium-binding proteins of the EF-hand type (review). *Biochim Biophys Acta* 1999; **1450**:191-231.
- Ducimetière F., A. Lurkin, D. Ranchère-Vince, A.-V. Decouvelaere, S. Isaac, C. Claret-Tournier, Y. Suignard, D. Salameire, D. Cellier, L. Alberti, P.-P. Bringuier, J.-Y. Blay, I. Ray-Coquard. 2010 ; **97** (6) : 629-641.
- Ducimetière .F, Lurkin.A, Ranchère-Vince.D, Decouvelaere.A.-V, Isaac.S, Claret-Tournier.C, Suignard.Y., Salameire.D, Cellier.D., Alberti.L, Bringuier.P.-P, Blay.J.-Y, Ray-Coquard.I Incidence, épidémiologie des sarcomes et biologie

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- moléculaire. Résultats préliminaires de l'étude EMS en Rhône-Alpes. 2010 ;**97**(6) : 629-641.
- Duensing A, Heinrich MC, Fletcher CD, Fletcher JA. Biology of gastrointestinal stromal tumors : KIT mutations and beyond. *Cancer Invest* 2004 ; **22** : 106-16.
 - Edel G, Ueda Y, Nakanishi J, Brinker KH, Roessner A, Blasius S, et al. Chondroblastoma in bone. A clinical, radiological, light and immunohistochemical study. *Virchows Arch A Pathol Anat* 1992; **421**:355-66.
 - Fata F, O'Reilly E, Ison D, Pfister D, Leffel D, Kelsen DP, *et al.* Paclitaxel in the treatment of patients with angiosarcoma of the scalp or face. *Cancer* 1999 ; **86** : 2034-7.
 - Fellingner EJ, Garin-Chesa P, Su SL, De Angelis P, Lane JM, Rettig WJ. Biochemical and genetic characterization of the HBA71 Ewing's sarcoma cell surface antigen. *Cancer Res* 1991;**51**(1):336-40.
 - Fingerman IM, Briggs SD. p53-mediated transcriptional activation: from test tube to cell. *Cell* 2004; **117**(6):690– 1.
 - Fletcher CDM, Unni KK, Mertens F. pathology and genetics of tumors of soft tissue and bone. World Health Organization IARC press: Lyon 2002.
 - Florence PEDEUTOUR, Georges MAIRE, Nicolas SIRVENT De la cytogénétique à la cytogénomique des tumeurs adipocytaires 2. Tumeurs adipocytaires malignes 2004 ; **91** (4) : 317-23.
 - Freije JM, Diez-Itza I, Balbin M, Sanchez LM, Blasco R, Tolivia J, Lopez-Otin . Clonage moléculaire et l'expression de la collagénase-3, a novel métalloprotéinase de matrice humaine produite par les cancers du sein. *J Biol Chem.* 1994; **269** (24):. 16766-73 .
 - Fritz B, Schubert F, Wrobel G, Schwaenen C, Wessendorf S, Nessling M et al. Microarray-based copy number and expression profiling in dedifferentiated pleiomorphic liposarcoma. *Cancer Res* 2002 ; **62** : 2993-8.
 - Gaynor JJ., CC. Tan, ES. Casper, CF. Collin, C. Friedrich, SHIU M et al. Refinement of clinicopathologic staging for localized soft tissue sarcomas of the extremity : a study of 423 adults *J Clin Oncol*, 1992 ; **10** : 1317-29.
 - Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker H-H, Schwab U, Stein H. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol* 1984;**133**:1710-5.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Gerdes J, Li L, Schlueter C, Duchrow M, Wohlenberg C, Gerlach C, et al. Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67. *Am J Pathol* 1991;**138**:867-73.
- Glukhova MA, et al. Developmental changes in expression of contractile and cytoskeletal proteins in human aortic smooth muscle. *J Biol Chem* 1990; **265**(22):13042.
- Goebel HH, Warlo IAP. Progress in desmin-related myopathies (review). *J Child Neurol* 2000; **15**:565-72.
- Goodfellow PN, Tippett P. A human quantitative polymorphism related to the Xg blood groups. *Nature* 1981;**289**(5796):404-5.
- Gould VE, Moll R, Moll I, Lee I, Schwechheimer K, Franke WW. The intermediate filament complement of the spectrum of nerve sheath neoplasms. *Lab Invest* 1986; **55**:463-74.
- Grimer RJ, Goheger G, Taminiau A, *et al.*: Dedifferentiated chondrosarcoma: Prognostic factors and outcome from a European group. *Eur j Cancer* 2007, **43**:2060-2065.
- Guillou L, Aurias A. Soft tissue sarcomas with complex genomic profiles. *Virchows Arch* 2010 ; **456** : 201-17.
- Haelst A, et al. Chromosome 12 origin in rings and giant markers in well-differentiated liposarcoma. *Cancer genet Cytogenet* 1993;**66**(2):133-4.
- Hashimoto H., Y. Daimaru, S. Takeshita, et al. Prognostic significance of histologic parameters of soft tissue sarcomas *Cancer* 1992 ; 70 : 2816.
- Helman LJ, Meltzer P. Mechanisms of sarcoma development. *Nat Rev Cancer*. 2003; **3**:685–694.
- Herrmann H, Aebi U. Intermediate filaments and their associates: multi-talented structural elements specifying cytoarchitecture and cytodynamics. *Curr Opin Cell Biol* 2000;**12**:79-90.
- Herron R, Smith GA. Identification and immunochemical characterization of the human erythrocyte membrane glycoproteins that carry the Xga antigen. *Biochem J* 1989;**262**(1):369-71.
- Hieken TJ, Das Gupta TK. Mutant p53 expression: a marker of diminished survival in well differentiated soft tissue sarcoma. *Clin Cancer Res* 1996;**2**(8):1391–5.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Hirota S, Isozaki K, Moriyama Y, Moriyama Y, Hashimoto K, Nishita T, *et al.* Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. *Science* 1998 ; **279** : 577-80.
- Hurlimann J. Desmin and neural marker expression in mesothelial cells and mesotheliomas. *Hum Pathol* 1994; **25**:753-7.
- Huuhtanen RL, Blomqvist CP, Wiklund TA, Böhling TO, Virolainen MJ, Tukiainen EJ, *et al.* Comparison of the Ki-67 score and S-phase fraction as prognostic variables in soft-tissue sarcoma. *Br J Cancer* 1999;**79**:945-51.
- Jensen V., F. Brandt Sorensen, SM. Bentzen, M. Ladekarl, O. Steen Nielsen, J. Keller, OM. Jensen, Proliferative activity (Mib-1 index) is an independent prognostic parameter in patients with high-grade soft tissue sarcomas of subtypes other than malignant fibrous histiocytomas : a retrospective immunohistological study including 216 soft tissue sarcomas. *Histopathology* 1988; **32**:536-46.
- Johansson N, M Ahonen, Kähäri VM.. "Les métalloprotéinases matricielles dans l'invasion tumorale. *Cellulaire Mol Life Sci.* 2000; **57** (1): 5-15.
- Karaman A, M. E. Kabalar. O' zcan, T. Koca, and D. N. Binici, "Intraperitoneal dedifferentiated liposarcoma: a case report," *World Journal of Gastroenterology* 2008, **14** (38); 5927–5929.
- Karlsson P, Holmberg E, Johansson KA, Kindblom LG, Carstensen J, Wallgren A. Soft tissue sarcoma after treatment for breast cancer. *Radiother Oncol* 1996 ; **38** : 25-31.
- Kasse AA., M. Diop, M. Dieng, A. Deme, MC. Fall, P. Diop, E. Betel, B. Drabo, G. Timbely, P. Touré Les facteurs de récurrence des sarcomes des parties molles : étude d'une série rétrospective de 125 cas e-mémoires de l'Académie Nationale de Chirurgie, 2003, **2**(2):30-34.
- Kawaiet A, Noguchi M, Beppu Y, *et al.* Nuclear immunoreaction of p53 protein in soft tissue A possible prognostic factor. *Cancer* 1994;**73**(10):2499 –505.
- Kernbaum S. *et JP. grunfeld* . Dictionnaire de médecine Flammarion. Edité par Médecine-Science Flammarion. 2008 : 1133p.
- Key G, Kubbutat MH, Gerdes J. Assessment of cell proliferation by means of an enzyme-linked immunosorbent assay based on the detection of the Ki-67 protein. *J Immunol Methods* 1994;**177**:113-7.
- Kim SH, Cho NH, Tallini G, *et al.* Prognostic role of cyclin D1 in retroperitoneal sarcomas. *Cancer* 2001; **91**(2):428– 34.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Kovar H, Dworzak M, Strehl S, et al. Overexpression of the pseudoautosomal gene MIC2 in Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumor. *Oncogene* 1990; **5**: 1067–70.
- Kumar S., E. Perlman, CA. Harris, M. Raffeld, M. Tsokos Myogenin is a specific marker for rhabdomyosarcoma : an Immunohistochemical study in paraffin-embedded tissues *Mod Pathol* 2003 ; **13** : 988-93.
- Laurent DOUCET Définition, données récentes en anatomopathologie et biologie moléculaire des tumeurs stromales gastro-intestinales 2006 ; **93** : 157-65.
- Lazard D, et al. Expression of smooth muscle-specific proteins in myoepithelium and stromal myofibroblasts of normal and malignant human breast tissue. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:999.
- Le Cesne A, Perol D, Ray-Coquard I, Bui B, Duffaud F, Rios M, *et al.* Interruption of imatinib (IM) in GIST patients with advanced disease Updated results of the prospective French Sarcoma Group randomized phase III trial on survival and quality of life. *ASCO Meeting Abstracts* 2005 ; **23** :9031.
- Leach FS, Tokino T, Meltzer P, et al. p53 Mutation and MDM2 amplification in human soft tissue sarcomas. *Cancer Res* 1993; **53**(10):2231– 4.
- Letson GD, Muro-Cacho CA. Genetic and molecular abnormalities in tumors of the bone and soft tissues. *Cancer Control*. 2001; **8**(3):239-251.
- Lobb R, Sasse J, Sullivan R, Shing Y, D'Amore P, Jacobs J, Klags-brun M: Purification and characterization of heparin binding endothelial cell growth factors. *J Biol Chem* 1986, **261**:1924-1928.
- Macleod K. Tumor suppressor genes. *Curr Opin Genet Dev* 2000; **10** (1):81– 93.
- Maki RG, Wathen JK, Patel SR, Priebat DA, Okuno SH, Samuels B,*et al.* Randomized phase II study of gemcitabine and docetaxel compared with gemcitabine alone in patients with metastatic soft tissue sarcomas : results of sarcoma alliance for research through collaboration study 002 . *J Clin Oncol* 2007 ; **25** : 2755-63.
- Mandahl N, Mertens F, Willén H, Rydholm A, Kreicbergs A, Mitelman F. Nonrandom pattern of telomeric associations in atypical lipomatous tumors with rings and giant marker chromosomes. *Cancer Genet Cytogenet* 1998 ; **103** :25-34.
- Markhede G., L. Angervall, B. Stener A multivariate analysis of the prognosis after surgical treatment of malignant soft tissue tumors *Cancer* 1982 ; **49** : 1721.
- Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors – definition, clinical, histological, immunohisto-chemical, and molecular genetic features and differential diagnosis (review). *Virchows Arch* 2001; **438**:1-12.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Miettinen M, Sarlomo-Rikala M, Sobin LH, Lasota J. Esophageal stromal tumors. A clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 17 cases and comparison with esophageal leiomyomas and leiomyosarcomas. *Am J Surg Pathol* 2000; **24**:211-22.
- Modarressi Ghavami S.A., T. Lombardi, M. Becker, M. Richter. Ostéosarcome chondroblastique mandibulaire : suivi de 14 ans. 2006;**107**:380-385.
- Momand J, Jung D, Wilczinski S, Niland J. The MDM2 gene amplification database. *Nucleic Acids Res* 1998; **26**(15):3453-9.
- Nijhuis PH., M. Schaapveld, R. Otter, WM. Molenaar, WT. Van Der Graaf, HJ.Hoekstra Epidemiology aspects of soft tissue sarcoma- consequences for the design of clinical STS *Eur J Cancer* 1999; **35**:1705-10.
- Oda Y, Sakamoto A, Saito T, et al. Molecular abnormalities of p53, MDM2, and H-ras in synovial sarcoma. *Mod Pathol* 2000; **13**(9):994– 1004.
- Oliva E, Young RH, Clement PB, Bhan AK, Scully RE. Cellular benign mesenchymal tumors of the uterus. A comparative morphologic and immunohistochemical analysis of 33 highly cellular leiomyomas and six endometrial stromal nodules, two frequently confused tumors. *Am J Surg Pathol* 1995; **19**:757-68.
- Olmos D, Okuno S, Schuetze SM, Paccagnella ML, Yin D, Gualberto A, *et al.* Safety, pharmacokinetics and preliminary activity of the anti-IGF-IR antibody CP-751,871 in patients with sarcoma. *ASCO Meeting Abstracts* 2008 ; **26** : 10501.
- Orchard GE. Comparison of immunohistochemical labeling of melanocyte differentiation antibodies melan-A, tyrosinase and HMB 45 with NKIC3 and S100 protein in the evaluation of benign naevi and malignant melanoma. *Histochem J* 2000; **32**:475-81.
- Orlow I, Drobnjak M, Zhang ZF, et al. Alterations of INK4A and INK4B genes in adult soft tissue sarcomas: effect on survival. *J Natl Cancer Inst* 1999;**91**(1):73– 9.
- Panel N., C. Nisse, S. Feddal, E. Lartigau *Epidémiologie des sarcomes des tissus mous de l'adulte* La presse médicale, 2001 ; **30**(28) :1405-1413.
- Panel.N, Nisse.C, feddal.S, *épidémiologie des sarcomes de tissus mous de l'adulte.*2001; **30** (22) : 1406-1413.
- Pilottis S., TG. Della, A. Mezzelain and al. The expression MDM2/CDK4 gene product in the differential diagnosis of well differentiated liposarcoma and large deep-seated lipoma *Br J Cancer* 2000 ; **82** : 1271-75.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Pisters PW, Harrison LB, Leung DH, Woodruff JM, Casper ES, Brennan MF. Long-term results of a prospective randomized trial of adjuvant brachytherapy in soft tissue sarcoma. *J Clin Oncol* 1996 ; **14**: 859-68.
- Pisters PWT., DHY. Leung, J. Woodruff, MF. Brennan Analysis of prognostic factors in 1041 patients with localized soft tissue sarcomas of the extremities *J Clin Oncol*, 1996 ; **14** : 1679-89.
- Pollock L, Rampling D, Greenwald SE, Malone M. Desmin expression in rhabdomyosarcoma: influence of the desmin clone and immunohistochemical method. *J Clin J Clin Pathol* 1995; **48**:535-8.
- Pseudotour F, Suijkerbuijk RF, Forus A, Van Gaal J, Van de Klundert W, Coindre JM et al. Complex composition and co-amplification of SAS and MDM2 in ring and giant rod marker chromosomes in well-differentiated liposarcoma. *Genes Chromosomes Cancer* 1994; **10**(2):85-94.
- Pseudotour F, Suijkerbuijk RF, Van Gaal J, Van de Klundert W, Coindre JM, Van Haelst A, et al. Chromosome 12 origin in rings and giant markers in well-differentiated liposarcoma. *Cancer genet Cytogenet* 1993;**66**(2):133-4.
- Rachel Conyers, Sophie Young, and David M. Thomas. Liposarcoma: Molecular Genetics and Therapeutics.2011:1-11.
- Regula KM, Kirshenbaum LA. p53 activates the mitochondrial death pathway and apoptosis of ventricular myocytes independent of de novo gene transcription. *J Mol Cell Cardiol* 2001; **33**(8):1435– 45.
- Reimers, K; Antoine M, Zapatka M, Blecken V, Dickson C, Kiefer P .NoBP, a nuclear fibroblast growth factor 3 binding protein, is cell cycle regulated and promotes cell growth. *Mol. Cell. Biol. (United States)*.2001; **21** (15): 4996–5007.
- Riggi N, Cironi L, Suvà ML, Stamencovic I. Sarcomas: genetics, signalling, and cellular origins Part 1: the fellowship of TET. *J Pathol* 2007 ; **213** : 4-20.
- Rizeq MN, van de Rijn M, Hendrickson MR, Rouse RV. A comparative immunohistochemical study of uterine smooth muscle neoplasms with emphasis on the epithelioid variant. *Hum Pathol* 1994; **25**:671-7.
- Ross JA., RK. Severson, S. Davis, et al Trends and the incidence of soft tissue sarcomas in the United States from 1973 through 1987.*Cancer* 1993; **72**: 486-490.
- Rubin BP. Gastrointestinal stromal tumours: an update. *Histopathology* 2006 ; **48** : 83-96.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Schneider-Stock R, Walter H, Radig K, Rys J, Bosse A, Khunen C *et al.* MDM2 amplification and loss of heterozygosity at Rb and p53 genes : no simultaneous alterations in the oncogenesis of liposarcomas. *J Cancer Res Clin Oncol* 1998 ; **124** : 532-40.
- Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown [review]. *J Cell Physiol* 2000; **182**:311-22.
- Seshadri R, Leong AS-Y, McCaul K, Firgaira FA, Setlur V, Horsfall DJ. Relationship between p53 gene abnormalities and other tumour characteristics in breast-cancer prognosis. *Int J Cancer* 1996; **69**:135-41.
- Sherr CJ, Mc Cormick F. The RB and p53 pathways in cancer. *Cancer Cell* 2002; **2**(2):103 – 12.
- Sigal A, Rotter V. Oncogenic mutations of the p53 tumor suppressor: the demons of the guardian of the genome. *Cancer Res* 2000; **60**(24):6788 –93.
- Skalli O, Ropraz P, Trzeciak A, Benzouana G, Gillesen D, Gabbian G. A monoclonal antibody against a-smooth muscle actin: a new probe for smooth muscle differentiation. *J Cell Biol* 1986; **103**:2787-96.
- Smithey BE, Pappo AS, Hill DA. C-kit expression in pediatric solid tumors: a comparative immuno-histochemical study. *Am J Surg Pathol* 2002; **26**:486-92.
- Sobue K and Sellers JR. Caldesmon, a novel regulatory protein in smooth muscle and nonmuscle actomyosin systems. *J Biol Chem* 1991; **266**(19):12115.
- Stoeckle E. Chirurgie des sarcomes des tissus mous des membres et de la paroi du tronc *Cancer/Radiothérapie* 2006 ; **10** :34-40.
- Suvà ML, Cironi L, Riggi N, Stamenovic I. Sarcomas: genetics, signalling, and cellular origins. Part 2: TET-independent fusion proteins and receptor tyrosine-kinase mutations. *J Pathol* 2007; **213**: 117-30.
- Sydor JR, Normant E, Pien CS, Porter JR, Ge J, Grenier L, *et al.* Development of 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin hydroquinone hydrochloride (IPI-504), an anti-cancer agent directed against Hsp90. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; **103** : 17408-13.
- Szymanska J, Tarkkanen M, Wiklund T, Virolainen M, Blomqvist C, Asko-Selijavaara S *et al.* Gains and losses of DNA sequences in liposarcomas evaluated by comparative genomic hybridisation. *Genes Chromosomes Cancer* 1996; **15** : 89-94.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Tanas MR, Goldblum JR. Fluorescence in situ hybridization in the diagnosis of soft tissue neoplasm: a review. *Adv Anat Pathol* 2009; **16**: 383-91.
- Tang N, Song WX, Luo J, Haydon RC, He TC. Osteosarcoma development and stem cell differentiation. *Clin Orthop Relat Res.* 2008; **466**:2114–2130.
- Taylor M., M. Guillon, V. Champion, M. Marcu, J.B. Arnoux, O. Hartmann Ewing's tumor 2005 ;**12** : 1383–139.
- Thomas DM, Johnson SA, Sims NA, Trivett MK, Slavin JL, Rubin BP, et al. Terminal osteoblast differentiation, mediated by *runx2* and *p27KIP1*, is disrupted in osteosarcoma. *J Cell Biol.* 2004; **167**:925–934.
- Tsuura Y, Hiraki H, Watanabe K, Igarashi S, Shimamura K, Fukuda T, et al. Preferential localization of *c-kit* product in tissue mast cells, basal cells of skin, epithelial cells of breast, small cell lung carcinoma and seminoma/dysgerminoma in human: immunohistochemical study on formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *Virchows Arch* 1994; **424**:135-41.
- Turc-Carel C, Philip I, Berger MP, Philip T, Lenoir G. Chromosomal translocation (11;22) in cell of Ewing's sarcoma. *CR Seances Acad Sci III* 1983: 1101-3.
- Uria JA, Jimenez MG, Balbin M, Freije JMP, Lopez-Otin C: Differential effects of TGF- β on collagenase-3 expression by human fibroblasts. *J Biol Chem* 1998, **273**: 9769-9777.
- Uria JA, Stahle-Backdahl M, Seiki M, Fueyo A, Lopez-Otin C: Regulation of collagenase-3 expression in human breast carcinomas is mediated by stromal-epithelial cell interactions. *Cancer Res* 1997, **57**:4882-4888.
- Wadayama B, Toguchida J, Shimizu T, Ishizaki K, Sasaki MS, Kotoura Y, et al. Mutation spectrum of the retinoblastoma gene in osteosarcomas. *Cancer Res.* 1994; **54**:3042–3048.
- Wang S, El-Deiry WS. The p53 pathway: targets for the development of novel cancer therapeutics. *Cancer Treat Res* 2004; **119**:175–87.
- Wei G, Lonardo F, Ueda T, et al. CDK4 gene amplification in osteosarcoma: reciprocal relationship with INK4A gene alterations and mapping of 12q13 amplicons. *Int J Cancer* 1999;**80**(2):199 –204.
- Weintraub H, et al. The *myoD* gene family: Nodal point during specification of the muscle cell lineage. *Science* 1991; 251:761.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Wick MR, Swanson PE, Rocamora A. Recognition of malignant melanoma by monoclonal antibody HMB-45. An immunohistochemical study of 200 paraffin-embedded cutaneous tumors. *J Cutan Pathol* 1988; **15**:201-7.
- Wright WE, et al. Monoclonal antimyogenin antibodies define epitopes outside the bHLH domain where binding interferes with protein-protein and protein-DNA interaction. *Dev Genet* 1996; **19**:31.
- Wright WE, et al. Myogenin, a factor regulating myogenesis, has a domain homologous to MyoD. *Cell* 1989; **56**:607.
- Yarden Y, Kuang W-J, Yang-Feng T, Coussens L, Munemitsu S, Dull TJ, et al. Human proto-oncogene *c-kit*: a new cell surface receptor tyrosine kinase for an unidentified ligand. *EMBO J* 1987; **6**:3341-51.
- Ye F, Huang S-W, Dong H-J. Histiocytosis X. S-100 protein, peanut agglutinin, and transmission electron microscopy study. *Am J Clin Pathol* 1990; **94**:627-31.
- Zahru SH, Fraumein JF JR. The epidemiology of soft tissue sarcoma: *Semin Oncol* 1997; **24**, 504-514.

Annexe I :

L'appareil de laboratoire



Microtome



Automate de circulation



Appareil d'inclusion



Automate de coloration



Etuve memmert



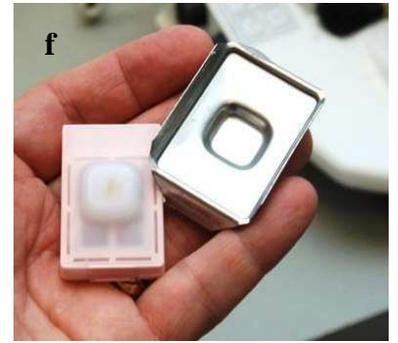
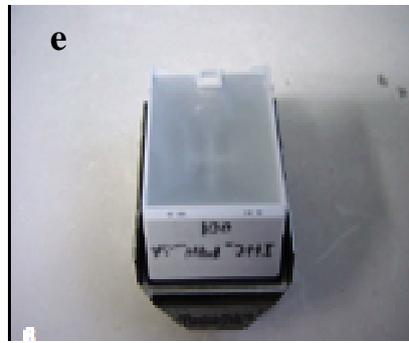
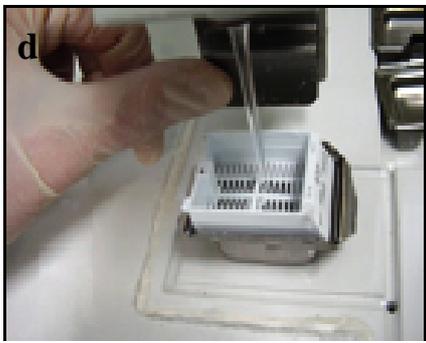
Microscope optique



Bain marie

Annexe II :

Les étapes de l'inclusion :



a-verser une quantité de paraffine

b- déposer le prélèvement dans un moule

c- bien centré le prélèvement

d- déposer une partie de la cassette sur le moule et verser encore la paraffine dessus

e- laisser refroidir sur la plaque refroidissante.

f- démoulé le bloc

Annexe II :

Coloration Hématéine Eosine :

- 1- Déparaffiner et hydrater les coupes :
 - Faire passer les coupes dans deux bains de xylène, pendant 3 à 5 minutes chaque fois.
- 2- Rincer à l'eau courante.
- 3- Colorer avec l'hématéine de hariss (15 min).
- 4- Laver les coupes à l'eau de robinet.
- 5- Enlever l'excès d'hématoxyline dans un bain d'alcool acide (1 à 2 plongées).
- 6- Laver à l'eau de robinet.
- 7- Bleuir dans un bain ammoniacal.
- 8- Laver à l'eau de robinet.
- 9- Colorer dans la solution d'éosine (15 secondes à 2 minutes).
- 10- Déshydrater dans 3 bains d'alcool.
- 11- Eclaircir dans 2 bains de xylène.

Réactifs et solutions :

- ◆ Xylène.
- ◆ Alcool (75° à 100°).
- ◆ Eau distillée.
- ◆ Formol à 10%.
- ◆ Paraffine.
- ◆ Eau oxygénée.
- ◆ Panels d'anticorps primaire.
- ◆ Anticorps secondaire biotinylé = streptavidine-biotine-peroxydase.
- ◆ Substrat chromogène 3-3 Diaminobenzidine (DAB).
- ◆ Hématéine.
- ◆ Eosine.
- ◆ Eukitt type Faramount.
- ◆ Hématoxyline de Mayer ou de Hariss.
- ◆ Tris Buffered saline (TBS) pH= 7, 6.

Annexe II :

Target Retrieval solution à pH=9. (Solution de démasquage).

Solution alcool acide :

- Alcool éthylique à 70% : 1000 ml.
- Acide chlorhydrique concentré : 5 ml.

Préparation des solutions et dilutions :

Préparation du DAB :

Ajouter une goutte (ou 20 µl) de chromogène DAB par ml de tampon substrat.

Préparation de Tris Buffered saline (TBS) :

Dissoudre la totalité de contenu d'un sachet dans de l'eau distillée ou désionisée et porter le volume final à 1l. La solution de TBS résultante a un titre de 0,05 mol/l en Tris- HCL, 0,15 mol/l en NaCl, à 7,6 de pH et ne doit pas être diluée.

Préparation de Target Retrieval Solution (TRS), Ph9 (10%) :

Préparer une solution de travail en dilution le concentré au 1/10 ème dans de l'eau distillée ou désionisée. La solution de travail est stable pendant 3 mois entre 2 et 8 °c.

Les Anticorps :

MDM2: Monoclonal Mouse Anti-Human MDM2

CD99: Monoclonal Mouse Anti-Human CD99, Clone 12E7

Vimentine: Monoclonal Mouse Anti-Human Vimentin, Clone V9

Desmine: Monoclonal Mouse Anti-Human Desmin, Clone D33

Myogénine: Monoclonal Mouse Anti-Myogenin, Clone F5D

AML: Monoclonal Mouse Anti-Human Smooth Muscle Actin, Clone 1A4

Caldesmon: Monoclonal mouse anti-human caldesmon,colone h-CD.

Ps100: Polyclonal Rabbit Anti-S100

CD117: Polyclonal Rabbit Anti-Human CD117, c-kit

Annexe II :

Dilutions des anticorps : (DAKO)

MDM2 : 1:25 et 1 :50 (concentré /diluant)

Vimentine : 1:10 au 1:20 (concentré /diluant)

Desmine : 1:50 et 1 :100 (concentré /diluant)

Myogénine : 1:25 à 1:50 (concentré /diluant)

AML: 1:50 et 1:100 (concentré /diluant)

Caldesmon : 1:50 – 1:10 (concentré /diluant)

ps100 : 1:400 (concentré /diluant)

CD99 : 1:50 à 1:75 (concentré /diluant)

CD117 : 1:40 to 1:60 (concentré /diluant)

Annexe III :**Tableau I :**

La répartition des cas selon le sexe

Sexe	Nombre	%
Masculin	25	52,08%
Féminin	23	48,93%
total	48	100%

Tableau II:

La répartition des cas selon l'âge

Age	Homme	Femme
[0-19[6	2
[20-29[3	2
[30-39[5	4
[40-49[2	5
[50-59[3	3
[60-69[2	6
[70-79[1	1
80+	3	0
Total	25	23

Tableau III :

La répartition des cas selon le type histologique

type	Nombre	%
sarcome des tissus mous	25	52,08%
sarcome osseux	23	48,92%
Total	48	100%

Tableau IV :

La répartition des cas selon les sous -type histologique

type	Nombre	%
chondrosarcome	9	18,75%
Léiomyosarcome	7	14,58%
liposarcome	9	18,75%
Myxofibrosarcome	1	2,08%
ostéosarcome	11	22,91%
Rhabdomyosarcome	1	2,08%
sarcome d'Ewing	3	6,25%
Dermatofibrosarcome	1	2,08%
tumeur stromale	3	6,25%
tumeur vasculaire	2	4,16%
CMPNST	1	2,08%
totale	48	100%

Tableau V :

La répartition des cas selon le siège :

Le siège	%	Nombre
abdomen	2,08%	1
basin	2,08%	1
colon	2,08%	1
dos	4,16%	2
intestin	4,16%	2
larynx	2,08%	1
épaule	2,08%	1
membre inferieur	60,41%	29
paroi thoracique	2,08%	1
utérus	10,41%	5
vessie	2,08%	1
rate	2,08%	1
région intascapulaire	2,08%	1
?	2,08%	1
Total	100%	48

Tableau VI :

Les différents anticorps utilisés

N	sexe	âge	type	Marqueur
14/1	F	32	dermatofibrosarcome de Darrier et Ferrand	/
53/1	H	35	chondrosarcome I	/
104/1	F	22	ostéosarcome	/
106/1	H	25	chondrosarcome	/
207/1	F	64	liposarcome grade III	MDM2
259/1	F	66	léiomyosarcome III	AML, DESMINE, CALDESMONE
340/1	H	84	léiomyosarcome	AML, CALDESMONE
356/1	H	17	ostéosarcome ostéoblastique	/
385/1	F	44	chondrosarcome III	/
521/1	H	84	liposarcome dédifférencier	CD99, MDM2, VIMENTINE, PS100 MYOGENINE
531/1	H	62	liposarcome pléomorphe	MYOGENINE, DESMINE
603/1	F	61	liposarcome pléomorphe	MDM2
743/1	H	45	liposarcome pléomorphe III	DESMINE, MYOGENINE
811/1	F	15	ostéosarcome de haut grade	/
844/1	F	44	chondrosarcome III	/
859/1	F	22	sarcome d'Ewing	CD99
870/1	F	65	léiomyosarcome	AML, CALDESMONE, VIMENTINE
491/1	F	19	ostéosarcome	/
25/2	F	64	léiomyosarcome à cellule épithélioïde	PS100, VIMENTINE, AML, CALDESMONE, DESMINE
28/2	F	57	tumeur stromale de haut grade	CD117, PS100, DESMINE, AML
151/2	F	54	myxo fibrosarcome	/
152/2	F	31	PNET/sarcome d'Ewing	CD99
321/2	H	61	chondrosarcome II	/
340/2	F	52	léiomyosarcome	DESMINE, MYOGENINE, AML
416/2	F	62	léiomyosarcome	PS100, DESMINE, AML
367/2	H	13	ostéosarcome	/
432/2	F	35	ostéosarcome	/
472/2	H	31	sarcome d'Ewing	CD99, VIMENTINE, PS100
473/2	H	75	liposarcome	/
788/2	F	35	tumeur stromale	PS100, CD117
245/3	H	39	lipoma like	/
663/3	H	19	ostéosarcome	/
514/3	H	17	ostéosarcome ostéoblastique	/
594/3	H	31	chondrosarcome	/
321/3	H	81	rhabdomyosarcome	/
513/3	F	44	chondrosarcome II	/
635/3	F	41	chondrosarcome myxoïde II	/

665/3	H	26	ostéosarcome	/
545/3	H	56	tumeur stromale	PS100, AML, CALDESMONE, CD117
391/3	H	58	tumeur vasculaire	/
415/4	H	15	ostéosarcome	/
816/4	F	49	léiomyosarcome	DESMINE
651/4	F	70	liposarcome bien différencié	MDM2
353/4	H	26	ostéosarcome fibroblastique de haut grade	/
441/4	H	55	angiosarcome	/
133/4	H	47	liposarcome myxoïde	/
120/5	H	17	CMPNST	/
132/5	H	32	chondrosarcome	/

Tableau VII :

Les résultats individuels pour chaque marqueur

Marqueur	Positif	Négatif
MDM2	3	1
CD99	3	1
AML	8	0
PS100	2	5
Desmine	6	2
Myogénine	0	3
Vimentine	2	1
h-caldesmone	4	1
CD117	3	0