

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

Université BLIDA 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et de Physiologie Cellulaire



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

Option : Biosignalisation cellulaire et moléculaire: Génétique du cancer

Thème

**Étude anatomopathologique et biologie moléculaire
des rhabdomyosarcomes chez l'enfant et l'adulte**

Présenté par :
Ould cherchali Amina

Soutenu le 16/10/2014 devant le jury composé de :

M ^{me} SAIDI.F	Professeur	Université de Blida1	Présidente
M ^{me} AMIR ZC.	Professeur	CHU Mustapha	Examinatrice
M ^{me} HANNACHIL	Maitre de conférences A	CHU Mustapha	Examinatrice
M ^{me} CHILLA.D	Maitre assistante A	CHU Mustapha	Promotrice
M ^{me} CHELGHOUM.H	Maitre assistante A	Université de Blida1	Co-Promotrice

Promotion 2013-2014

Remerciements

Le travail présent a été réalisé au sein du service d'anatomopathologie de Mustapha Bacha d'Algérie (Annexe Alger centre) sous la direction du **professeur Amir.ZC.**

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

A mon co-encadreur **Mme Chelghoum Hayat** pour tous ses efforts et ses encouragements durant toute cette période pour son aide et sa patience infinie.

Je remercie infiniment **Pr Saidi.F**, qui a accepté de corriger ce travail et d'être présente en tant que président de ce Jury. Je remercie aussi **Pr AMIR.ZC** et **Pr HANNACHI.L**, d'avoir accepté d'examiner mon travail.

J'exprime mes sincères remerciements au **KOBBI LAMIA** pour sa confiance, sa gentillesse incomparable, sa disponibilité totale, son aide et ses conseils concernant toutes les essais et les manipulations au sein de l'hôpital Mustapha Bacha.

Je tiens à remercier tout particulièrement et à témoigner toute ma reconnaissance à mes **Mme CHUIHE, RABIA, GAYADE, CHANOUBE, KOURDJIDJE**, pour l'expérience enrichissante et pleine d'intérêt qu'elles m'ont fait vivre durant ces neuf mois au sein de service d'anatomopathologie de Mustapha Bacha Algérie, « J'ai passé des moments inoubliables avec vous ».

A **REBBACHE** que j'aime beaucoup, et à mes collègues **DEBABA, NADJI, BOUMARZOUG.**

Que tous ceux, que je n'ai pas nommé, et qui de près ou de loin ont contribué à l'élaboration de ce travail, trouvent ici mes sentiments de profonde gratitude et de reconnaissance infinie.

Dédicaces

Je dédis ce travail

Tout d'abord à mes très chères parents que dieu me les gardent, qui m'ont soutenus le long de mon cursus, vos conseils ont été judicieux. J'espère être toujours à la hauteur de vos espérances !

À mon frère et sœur et ma belle sœur qui ont toujours pu me faire rire lorsque j'en avais besoin.

À ma chère grande mère qui a été à mes coté avec leur louange que dieu le garde et que le paradis soit leur éternelle.

À toute la famille Ould cherchali et Bourahla

À mes amis qui mon aidé de proche ou de loin

Merci à vous tous

MOMONA

Résumé

Le rhabdomyosarcome est une tumeur maligne qui se développe aux dépens de tissu de soutien avec différenciation musculaire striée, c'est la forme la plus fréquente de sarcome des tissus mous chez l'enfant et l'adolescent. L'objectif de notre travail est d'étudier les aspects cliniques, anatomopathologiques de RMS, à travers une étude rétrospective entre 2009 et 2013. Cette étude a été menée sur des prélèvements colligés au laboratoire d'anatomo-pathologie du Centre hospitalo-universitaire, Mustapha Bacha (Alger). L'âge des patients varie entre 3mois et 64 ans, en moyenne de 11.41 avec une prédominance masculine. Nos résultats montrent que sur le plan histologique, le rhabdomyosarcome embryonnaire est le plus fréquent avec un pourcentage de 72% (26/40), suivi par le rhabdomyosarcome alvéolaire avec un pourcentage de 18%(7/40), et en dernier on a le rhabdomyosarcome pléomorphe avec un pourcentage de 10% (4/40). Les caractéristiques qui permettent de conclure à un diagnostic de rhabdomyosarcome doivent apporter la preuve que la tumeur appartient à la lignée du muscle squelettique, soit par son apparence. sous le microscope, soit en immunohistochimie par sa positivité à des marqueurs musculaires comme la desmine ou la myogénine .dans notre étude on trouve que l'expression de myogénine est focale dans le rhabdomyosarcome embryonnaire (76%) alors que dans rhabdomyosarcome alvéolaire on trouve une expression diffuse de la myogénine avec un pourcentage 71%, Une autre étude immunohistochimique a été réalisée sur 10 cas, parmi l'échantillon total qui consiste à rechercher l'expression de la protéine β -caténine. Cette étude a révélé une expression de la protéine β -caténine dans 4 cas (40%), et dans 6 cas/40 nous n'avons pas trouvé d'expression (60%). Finalement, la variabilité génotypique associée au rhabdomyosarcome rend la thérapie ciblée peut être la meilleure façon de traiter RMS.

Mots clés : rhabdomyosarcome, rhabdomyosarcome alvéolaire, rhabdomyosarcome embryonnaire, myogénine, desmine, β -caténine, thérapie ciblée.

Summary

The rhabdomyosarcome is a malignant tumor which develops at the expense of fabric of support with striated muscular differentiation, it is the most frequent shape of sarcoma of soft fabrics at the child and the teenager. The objective of our work is to study the clinical, anatomopathologic aspects of RMS, through a retrospective study between 2009 and 2013. This study at summer carried out on taking away collages to the laboratory of anatomy-pathology of the Teaching hospital, Mustapha Covered (Algiers). The age of the patients varies between 3mois and 64 years, on average of 11.41 with a male prevalence. Our results show that on the histological level, the embryonic rhabdomyosarcoma is most frequent with a percentage of 72% (26/40), followed by the alveolar rhabdomyosarcoma with a percentage of 18% (7/40), and in the last one has the pleomorphic rhabdomyosarcoma with a percentage of 10% (4/40). The characteristics which make it possible to conclude with a diagnosis from rhabdomyosarcoma must bring the proof that the tumor belongs to the line of the skeletal muscle, that is to say by its appearance. under the microscope, that is to say in immunohistochemistry by its positivity with muscular markers like desmine or the myogénine .dans our study finds of it that the expression of myogénine is focal in the embryonic rhabdomyosarcome (76%) whereas in rhabdomyosarcoma alveolar one finds an expression diffuse of the myogénine with a percentage 71%, Another immunohistochemic study was realized on 10 cases, among the total sample which consists in seeking the form of the protein β -caténine. This study revealed a form of the protein β -caténine in 4 cases (40%), and in 6 cases we did not find an expression (60%). Finally, the genotypic variability associated with the rhabdomyosarcome returns the therapy targeted can be the best way of treating RMS.

Key words: rhabdomyosarcoma, rhabdomyosarcoma alveolar, rhabdomyosarcoma embryonic, myogénine, desmine, β -caténine, therapy targeted.

الملخص

العضلية المخططة هو الورم الخبيث الذي يتطور على حساب دعم أنسجة العضلات المخططة مع التمايز هو الشكل الأكثر شيوعا من ساركوما الأنسجة الرخوة لدى الأطفال والمراهقين. وكان الهدف من دراستنا للتحقيق في السريرية، والجوانب المرضية من العضلية المخططة، من خلال دراسة استعادية بين عامي 2009 و 2013 أجريت هذه الدراسة على عينات جمعت في مختبر علم الأمراض في مستشفى جامعة، مصطفى باشا (الجزائر العاصمة). وتراوحت أعمار المرضى بين 3 أشهر إلى 64 سنة، حيث بلغ متوسطها 11.41 مع غلبة الرجال. نتائجنا تظهر أن تشريحيًا، العضلية المخططة الجنينية هو الأكثر شيوعا بنسبة 72% (26/40) ، تليها العضلية المخططة السنخية 18% (7/40) ، وكانت أخيرا العضلية المخططة متعدد الأشكال مع نسبة 10% (4/40).

الميزات التي تسمح بتشخيص العضلية المخططة يجب أن تثبت أن الورم ينتمي إلى سلالة من عضلات الهيكل العظمي، إما عن طريق مظهر، تحت المجهر، أو من خلال المناعية بواسطة الإيجابية في علامات العضلات مثل myogenin أو desmin في دراستنا وجدت أن التعبير عن myogénine هو البؤري في العضلية المخططة الجنينية (76%) بينما في العضلية المخططة السنخية وجدت myogénine منتشر بنسبة 71% أجريت دراسة أخرى من خلال المناعية على 10 التي هي للبحث التعبير عن البروتين β -catenin . وكشفت هذه الدراسة تعبير عن البروتين β -catenin في 4 حالات (40%) و في 6 حالات (60%) لم نجد أي تعبير.

أخيرا،التقلب الوراثي المرتبطة بالعضلية المخططة يجعل العلاج المستهدف قد يكون أفضل طريقة لعلاج.

كلمات البحث : العضلية المخططة السنخية، العضلية المخططة الجنينية، ، والعلاج المستهدفة ، :كلمات البحث myogenin ،desmin ، β -catenin.

LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	Page
Figure 1	Modèle de la myogenèse du muscle squelettique avec les possibles origines des rhabdomyosarcomes	7
Figure 2	localisation de gène IGF2	8
Figure 3	la perte d'hétérozygotie	9
Figure 4	Diagramme de translocations chromosomiques, t (2, 13) (q35; q14) et t (1, 13) (p36; q14).	10
Figure 5	la translocation réciproque entre PAX et FKHR crée un 'oncogène' hybride.	10
Figure 6	Représentation schématique de la voie de signalisation IGF2.	12
Figure 7	la voie de signalisation RAS	13
Figure 8	Représentation schématique de la voie de signalisation Sonic Hedgehog	14
Figure 9	représentation schématique de la voie β -caténine en présence et en absence de ligand wnt	15
Figure 10	Voie de signalisation C-MET	16
Figure 11	la voie de signalisation ALK	16
Figure 12	Prise en charge thérapeutique des patients atteints par des rhabdomyosarcome	47
Figure 13	vue macroscopique d'un rhabdomyosarcome (Icono: Thèse du Pr Belarbi)	21
Figure 14	Le principe de la révélation de la peroxydase	25

Figure 15	Répartition des patients porteurs de RMS en fonction du sexe	28
Figure 16	Répartition des patients porteurs rhabdomyosarcome en fonction de l'âge.	29
Figure 17	répartition des patients porteurs RMS en fonction du siège.	29
Figure 18	Répartition des patients porteurs des RMS selon le type histologique	30
Figure 19	coupes histologique des ERMS à cellule fusiforme.	31
Figure 20	coupes histologique d'ERMS botryoïde	32
Figure 21	répartition des ERMS selon les tranches d'âge.	33
Figure 22	coupes histologiques des ARMS	33
Figure 23	répartition des ARMS selon âge	34
Figure 24	coupe histologique des PRMS	35
Figure 25	répartition des 10 cas atteint par RMS /immunomarquage β -cat.	36
Figure 26	Répartition de la positivité de marquage anti β -caténine selon le site d'expression.	37
Figure 27	Coupes histologique de RMS après immunomarquage membranaire, cytoplasmique et nucléaire à la β -caténine observées au microscope optique à différents grossissements	38
Figure 28	positivité de desmine	39
Figure 29	Positivité à la myogénine	39
Figure 30	expression de la myogénine dans ERMS	40
Figure 31	expression de la myogénine dans ERMS	40

LISTE DES TABLEAUX

	Titre	Page
Tableau I	Classification histologique des STM selon l'OMS 2013	49
Tableau II	classification des rhabdomyosarcome selon leur type histologique	50
Tableau III	signe clinique de Rhabdomyosarcome	50
Tableau IV	Anticorps les plus utiles au diagnostic des tumeurs des tissus mous	51
Tableau V	classification TNM des RMS (SIOP)	51
Tableau VI	Classification post-chirurgicale des rhabdomyosarcomes, selon l'extension locale, et l'atteinte ganglionnaire	52
Tableau VII	Groupes histo-pronostiques des rhabdomyosarcomes	52
Tableau VIII	représentant les AC I utilisés dans l'étude IH C de RMS	26
Tableau IX	données globales de 40 patients	54
Tableau X	La répartition des RMS selon tranche d'âge	55
Tableau XI	Répartition des RMS selon la localisation	55
Tableau XII	Répartition des RMS selon le type histologique	55
Tableau XIII	répartition des ERMS selon âge	55
Tableau XIV	répartition des ARMS selon âge	55
Tableau XV	répartition des patients porteur de RMS / immunomarquage β -caténine.	36
Tableau XVI	Répartition de la positivité de marquage anti b-caténine selon le cite d'expression.	37
Tableau XVII	Répartition du type histologique selon cite d'expression de marquage anti β -caténine	37
Tableau XVIII	expression de la myogénine dans l'ERMS	39
Tableau XIX	expression de la myogénine dans l'ARMS	40

LISTE DES ABREVIATIONS

STM : sarcomes des tissus mous

RMS : rhabdomyosarcome

ERMS : rhabdomyosarcome embryonnaire

ARMS : rhabdomyosarcome alvéolaire

PRMS : rhabdomyosarcome pléomorphe

ADN: Acide DésoxyriboNucléique

IGF2: Insulin-like growth factor 2

CDKN1C: inhibiteur cycline-dépendant 2A de kinase

HOTS : *H19* opposite tumour suppressor

ICR : région de commende d'impression

FKHR: forkhead

PB: paired box,

HD: homeobox

FD: forkhead domain

TAD : domaine d'activation transcriptionnelle

DBD : DNA Binding Domain ; domaine de liaison à l'ADN

MPCs: Muscle Progenitor Cells

ERK : Extracellular Signal regulated Kinases

GSK3 : Glycogen Synthase Kinase 3

PI3K : Phosphatidyl-Inositol-3 Kinase

Wnt : Wingless Type

PTEN: phosphatase and tensin homolog

S6: ribosomal protein

Phospholipase C: PLC

ERK: extracellular regulated kinase

MEK: mitogen-activated kinase/ERK kinase

TSC1/ TSC2: tuberous sclerosis

BAD : antagonist of cell death

HGF : Hepatocyte Growth Factor ; facteur de croissance des hépatocytes

NF- κ B : nuclear factor-Kb

APC : complexe protéique comprenant l'axine

LEF/TCF : facteurs de transcription LEF/TCF

GDP guanylate tris phosphate

IHC : immunohistochimie

PBS : Phosphate buffered saline

Ac Iaire : anti-corp primaire

AC IIaire : anti-corp srcondaire

OMS : organisation mondiale pour la santé

mTOR : mammalian Target of Rapamycin

RT-PCR: reverse transcription-polymerase chain reaction

Ac : anticorps

Ag : antigène

Ac –Ag : complexe anticorps-antigène

Gr : grossissement

HE : hématoxyline, Eosine

FNCLCC : Fédération nationale des centres de lutte contre le cancer

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : Généralité	2
I.Rappel bibliographique.....	2
I.2.RHABDOMYOSARCOME.....	2
I.2.1.Définition	2
I.2.2Épidémiologie	2
I.2.3Étiologie	3
I.2.4Signe clinique	3
I.2.5.Localisation	3
I.2.6.Caractères macroscopiques	3
I.2.7.Caractère microscopique	4
Rhabdomyosarcome embryonnaire	4
Rhabdomyosarcome pléomorphe.....	5
Rhabdomyosarcome alvéolaire	5
Rhabdomyosarcome sclérosant.....	5
I.2.8.Profil immunohistochimique	6
I.2.9.Diagnostique différentiel.....	6
I.2.10.Cancérogénèse et profil génétique et les voies de signalisation des rhabdomyosarcomes.....	6
I.2.11.Cancérogénèse des RMS.....	6
I.2.12.Profil génétique des RMS.....	7
Rhabdomyosarcome embryonnaire.....	7
Rhabdomyosarcome alvéolaire.....	9
I.2.13.Les voies de signalisation des rhabdomyosarcome	11
I.2.14.Caractères évolutifs.....	17

I.2.15.Facteurs pronostiques.....	17
I.2.16.Traitements	17
CHAPITRE II : PATIENTS ET METHODES	20
II.1.1.Matériels.....	20
II.1.2.Patients et Méthodes.....	20
II.Étude histologique.....	22
Étude immunohistochimique.....	24
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION.....	28
III.1.Résultats	28
III.2.Discussion	41
CONCLUSION	43
REFERENCES BIBLIOGRAPHIES.....	44
ANNEXE.....	47

INTRODUCTION

Le Rhabdomyosarcome (du grec : rhabdo : tige ; mys : muscle ; saorkos : chair) est la principale tumeur maligne de l'enfant et de l'adolescent qui dérive du mésenchyme embryonnaire avec la capacité de se différencier en muscles squelettiques, son pic d'incidence se situe entre l'âge de 2 et 5 ans, Un second pic d'incidence est présent à l'adolescence entre 15 et 19 ans. (Dias *et al.*, 1990).

Étude histologique permet de classer Les rhabdomyosarcomes en trois sous-types histologiques : les formes embryonnaires qui comporte deux formes particulières : de type botryoïde ou à cellules fusiformes, on a aussi les rhabdomyosarcome de type alvéolaire et les rhabdomyosarcomes pléomorphes.

Les deux principaux sous-groupes histologiques de Rhabdomyosarcomes, embryonnaires (ERMS) et alvéolaires (ARMS), présentent des altérations génétiques propres. Les ARMS sont caractérisés par une translocation (2 ;13) (q35 ;q14). cette translocation entraîne la fusion du gène codant PAX3 avec le gène codant pour la protéine FKHR (facteur de transcription de la famille forkhead) (Shapiro *et al.*, 2004). Et on a une deuxième translocation notée (1 ; 13) (p36; q14), entraîne la fusion du gène codant PAX7 avec FKHR. (Kelly *et al.*, 2004). Alors que le phénotype ERMS est caractérisé par une perte de l'hétérozygotie affectant le chromosome 11 (11q15). La conséquence de cette délétion est une perte de l'information maternelle et la duplication de l'information génétique paternelle (Scrabble *et al.*, 1987 2004). Ce locus correspond au gène codant IGF-2. Dans le phénotype ERMS, le gène paternel est représenté deux fois ce qui entraîne une surexpression de IGF-2. (El Badry *et al.*, 2004).

Ces altérations génétiques, ont permis l'activation de nombreuses voies oncogènes comme la voie RAS, Hedgehog, B-caténine, ALK, c-MET, IGF2. Qui conduisent, la prolifération cellulaire, la croissance, la différenciation, invasion, angiogénèse, ainsi que l'inhibition de l'apoptose.

L'objectif de notre travail est d'étudier les aspects cliniques, anatomopathologiques qui représente un temps important pour le diagnostic, il précise le type histologique, les limites de résection, et évalue éventuellement la réponse au traitement.

Dans un premier temps nous avons réalisé une étude histologique rétrospective de 40 cas de rhabdomyosarcome et puis nous avons effectué une autre étude rétrospective de 10 cas sur l'expression de la protéine β -caténine dans les rhabdomyosarcome embryonnaire et alvéolaire.

Chapitre I : Généralité

I.1. Rappel bibliographique

Les sarcomes des tissus mous constituent un ensemble de maladies hétérogènes sur les plans histologique, cytologique et moléculaire. Contrairement aux cancers épithéliaux, qui se développent dans des organes spécifiques, les sarcomes peuvent apparaître dans tous les endroits du corps sous la forme d'un tissu mou différencié adipeux, fibreux, musculaire lisse ou strié. (EL SAYADI H. 2009)

I.2. Rhabdomyosarcomes

I.2.1. Définition

Parmi les tumeurs des tissus mous, on a Le Rhabdomyosarcome (du grec : rhabdo : tige ; mys : muscle ; saorkos : chair) qu'est la principale tumeur maligne de l'enfant et de l'adolescent qui dérive du mésenchyme embryonnaire avec la capacité de se différencier en muscle squelettique, sont pic d'incidence se situe entre l'âge de 2 et 5 ans, Un second pic d'incidence est présent à l'adolescence entre 15 et 19 ans. (Dias *et al.*, 1990)

I.2.2. Classification

I.2.2.1 Classification générale des sarcomes des tissus mous (voir tableau I). La classification de référence est la classification de l'OMS 2013 présenté par le tableau I (voir annexe 2) qui reprend les types de sarcomes des tissus mous et de tumeurs à malignité intermédiaire rarement métastatiques.

I.2.2.2. Classification des Rhabdomyosarcomes

On reconnaît, selon cette toute récente classification, 8 sous types différents de rhabdomyosarcomes, tous regroupés en tant que tumeur dérivée de cellules embryonnaires à destinée musculaires. Cependant, globalement, on distingue essentiellement jusque là, seulement 4 sous types: les formes embryonnaires, de type botryoïde ou à cellules fusiformes, les rhabdomyosarcomes de type alvéolaires et les rhabdomyosarcomes pléomorphes, et les rhabdomyosarcome sclérosants (voir tableau II (annexe 2)).

I.2.3. Épidémiologie des rhabdomyosarcomes

I.2.3.1. Caractères généraux

Le RMS est un cancer très rare. Seulement 350 nouveaux cas de RMS sont diagnostiqués chaque année aux États-Unis chez les jeunes de moins de 21 ans. Environ 4 enfants pour un million d'enfants de moins de 15 ans en bonne santé développent un RMS chaque année. Ce cancer touche les garçons légèrement plus que les filles et est plus fréquent chez les jeunes enfants de moins de 5 ans. Les RMS sont rares chez l'adulte. (Ferrari *et al.*, 2003)

I.2.3.2. Selon le type histologique

- ERMS est le sous-type le plus fréquent, survenant dans 2,6 par million d'enfants âgés <15 ans aux États-Unis, les enfants âgés de <10 sont généralement affectés, la plupart des cas (36%) survenant chez les enfants âgés de <5 ans: 18% cas de ERMS surviennent chez les adolescents. environ 4% des ERMS affectent les enfants, et quelques cas sont congénitaux. ERMS comprennent également environ 20% de tous les rhabdomyosarcome adulte.

- ARMS se produit à tous les âges. Elle survient plus souvent chez les adolescents et les jeunes adultes que ERMS et moins fréquente chez les jeunes enfants: de très rares cas peut être congénitale. ARMS

Chapitre I : Généralité

se produit moins fréquemment que les ERMS et représentent environ 20% de tous les rhabdomyosarcome pédiatrique.

- PRMS ce sont des tumeurs de l'adulte et sont plus fréquentes chez sixième à septième décennies de la vie. Exceptionnels (et controversés) cas pédiatrique sont été rapportés.

-RMS sclérosant / à cellules fusiformes est un sous-type rare de RMS, survenant 5-10% de tous les cas de RMS. Il touche les enfants et les adultes. (Fedirik. *et al.*, 2013)

I.2.4. Étiologie

-Un petit nombre d'ERMS se produit avec plusieurs syndromes causés par des mutations dans la voie de signalisation RAS, par exemple, syndrome de Costello (mutation du gène HRAS). Et d'autre sont signalés en association avec le syndrome de Beckwith-Wiedemann, qui est causé par le dérèglement des gènes de 11p15.5.

-Rarement, ARMS se produit dans le cadre de syndromes génétiques associés à des mutations germinales. ARMS se pose rarement comme une tumeur secondaire dans le syndrome de rétinoblastome héréditaire, causée par des mutations RB1. quelques causes ont eu lieu dans le syndrome Beckwith-Wiedemann. Dans les deux syndromes, ARMS donne des résultats négatifs dans des essais pour des fusions de gènes. (Julia. *et al.*, 2013).

I.5. Localisation des rhabdomyosarcome

Le RMS n'épargne aucun organe. Toute fois, il survient de manière préférentielle dans 3 régions :

- la tête et le cou (44 % selon Enzinger) avec pour sites privilégiés : l'orbite, la cavité nasale et la région nasopharyngée :

- le tractus génito-urinaire et la région rétropéritonéale (34 %) dont les localisations paratesticulaires et vésicales ;

- les extrémités, membres supérieurs et inférieurs (14 %), surtout l'avant-bras, la main et le pied.

- Il existe de rares cas sans primitif connu simulant une leucémie. (Parham *et al.*, 2001)

I.2.6. Signes clinique

Les Signe clinique associés aux RMS sont très variables selon la localisation de la tumeur. (voir tableau III (annexe 2)). Occasionnellement, les enfants atteints de RMS souffrent également de fièvres inexplicables qui sont l'un des symptômes remarquables au moment du diagnostic. L'appétit peut ou pas être diminué. La fatigue et les contusions faciles sont rares à moins que la tumeur ne se soit étendue à la moelle osseuse. (Leonard. *et al.*, 2004)

I.2.7. Caractères macroscopiques des RMS

Bien qu'il n'existe pas de caractère pathognomonique du RMS, on peut schématiquement opposer :

- les RMS se développant dans des cavités (vessie, nasopharynx, sinus). Ils sont généralement assez bien limités, multinodulaires ou polypoides. Leur surface est brillante, gélatineuse, blanc-grisâtre, tachetée de foyers hémorragiques ou kystiques. Il s'agit des formes dites botryoïdes.

Chapitre I : Généralité

- les RMS profonds ou des extrémités, moins bien limités, infiltrants, de consistance ferme ou élastique, grisâtre ou brun-jaunâtre, lisse ou granuleux sur la tranche de section. (COFFIN. *et al.*, 1997).

I.2.8. Classification des RMS selon le type histologique

I.2.8.1. Rhabdomyosarcome embryonnaire

- Il représente 3/4 des RMS.

- Moins de 9% des ERMS sont situés dans les extrémités du muscle squelettique. Environ la moitié se produit dans la tête et le cou. Et la moitié dans le système génito-urinaire.

- La présentation histologique en est variable. Ces lésions ont en commun une cellularité hétérogène le plus souvent avec présence de zones myxoïdes et denses, sans architecture particulière. Selon la prédominance de l'un ou de l'autre de ces aspects, on parlera d'ERMS de type dense ou d'ERMS de type lâche.

– Les cellules peuvent être très indifférenciées, rondes ou un peu plus fusiformes, à noyau hyperchromatique plutôt irrégulier ou présenter des signes morphologiques de différenciation musculaire. Le rhabdomyoblaste peut alors prendre de nombreuses configurations : rhabdomyoblaste dégénératif, comportant une boule rouge densément acidophile refoulant un noyau rétracté densifié, cellules plus volumineuses, comportant un matériel fibrillaire juxta ou périnucléaire, cellules têtards, en raquette, multivacuolées ou araignées. Les doubles striations authentifiant l'origine musculaire striée sont inconstantes. Il existe des formes très indifférenciées ne comportant que de rares rhabdomyoblastes ou au contraire des formes bien différenciées riches en cellules plus grandes, rondes, ovales ou rubanées.

- Deux formes particulières doivent être individualisées car de meilleur pronostic :

. Le rhabdomyosarcome embryonnaire de type botryoïde :

Il s'agit d'une forme macroscopique, polyploïde, en grappe, intracavitaire, sous-muqueuse, caractérisée microscopiquement par l'existence d'une " couche cambiale " correspondant, au sein d'une lésion par ailleurs très myxoïde, à une zone de densification cellulaire sous épithéliale au sein de laquelle on recherchera les cellules atypiques et rhabdomyoblastiques.

. Le rhabdomyosarcome embryonnaire à cellules fusiformes :

Dans les deux tiers des cas, il s'agit d'une lésion paratesticulaire (27 % des RMS paratesticulaires sont à cellules fusiformes). La définition en est histologique, il faut qu'il y ait plus de 50 à 80 % de cellules fusiformes. Deux sous-types ont été décrits : une forme pseudo-leiomyosarcomateuse et une forme plus storiforme, plus riche en collagène hypocellulaire. Généralement la lésion se présente avec une pseudo-capsule.

A noter, sortant partiellement du cadre des tumeurs à petites cellules rondes, l'existence de RMS de l'enfant avec des signes d'anaplasie ou pléomorphes, que l'on classe malgré tout dans les RMS embryonnaires et non dans les RMS pléomorphes de l'adulte et dont la signification pronostique reste mal définie. (Newton *et al.*, 1994)

I.2.8.2. Rhabdomyosarcome pléomorphe

- Le rhabdomyosarcome pléomorphe est une tumeur de l'adulte ; les cas infantiles sont très rares.
- Elle siège au niveau des muscles des membres, particulièrement au niveau de la cuisse.
- L'architecture est lâche et les cellules sont disposées au hasard. Les cellules sont pléomorphes : de taille variable, elles sont rondes ou allongées, rubanées, en raquette, en têtard. Le noyau est également pléomorphe, unique, ou multiple, atypique, nucléole. Le cytoplasme est habituellement abondant, éosinophile, d'aspect granuleux, par fois vacuolisé. Des doubles striations sont exceptionnellement retrouvées. (Furlong *et al.*, 2001).

I.2.8.3. Rhabdomyosarcome alvéolaire.

- Un quart des RMS, plus fréquent chez l'adolescent, siègeant plus volontiers au niveau des extrémités.
- La définition en est actuellement cyto-histologique associant deux critères :

a) Une prolifération dense et monomorphe de cellules avec un rapport nucléo-cytoplasmique très élevé, des noyaux très irréguliers indentés (plus que dans la forme embryonnaire), des nucléoles proéminents. La lésion comporte assez fréquemment des cellules pluri nucléées dispersées pouvant constituer un argument diagnostique supplémentaire. Les rhabdomyoblastes typiques sont par contre rares.

b) Un cloisonnement par de larges bandes fibreuses. Ainsi se différencient deux formes architecturales : la forme alvéolaire typique, jusqu'à présent la seule bien individualisée et la forme solide où l'on conserve généralement les bandes fibreuses mais où l'architecture alvéolaire n'est plus présente.

Un aspect alvéolaire, même focal, répondant à ces définitions suffit à classer la lésion comme alvéolaire. (Wijnaendts *et al.*, 1994).

I.2.8.4. Rhabdomyosarcome sclérosant

Microscopiquement, les tumeurs d'architecture fasciculée et storiforme sont composées d'une population prédominante des cellules néoplasiques fusiformes avec noyaux qui sont ovoïdes ou allongés, à chromatine vésiculeuse, Nucléoles discrets et peu proéminents. Rare rhabdomyoblastes dispersés éosinophiles avec, noyaux excentrés hyperchromatiques sont habituellement présents tout au long de la tumeur. Les doubles striations peuvent par fois être apparentes. Atypies nucléaires, hyperchromatiques et mitoses sont fréquentes. Une hyalinisation totale ou subtotale du stroma avec des cellules tumorales disposées en nids micro-alvéolaires ou travées caractérisant la variante sclérosante de RMS (lorsque la sclérose est très étendue). (Christopher *et al.*, 2013).

I.2.9. Profil immunohistochimique :

Les colorations spéciales classiques ont perdu de leur intérêt au profit de l'immunohistochimie et de la détection de la desmine qui est considérée comme un bon marqueur des RMS (90 % environ de positivité).

L'actine musculaire lisse est en principe négative.

Chapitre I : Généralité

La myoglobine est peu sensible. L'antigène MyoD1, produit du gène MyoD1 (Myf3) serait spécifique mais donne souvent un marquage cytoplasmique non spécifique associé.

La myogénine (Myf4) s'avère le marqueur le plus sensible et le plus spécifique des rhabdomyosarcomes. Il est actuellement indispensable pour le diagnostic de ces tumeurs.

Le marquage, nucléaire, est généralement intense et diffus dans les formes alvéolaires. Il faut connaître la réactivité occasionnelle avec les anticorps anti-protéine S100, anti-cytokératine, anti-neurofilament. D'exceptionnelles réactivités avec des marqueurs lymphoïdes ont été décrites (CD10, CD19, Cd20) (voir tableau IV(annexe 2)). (Kumar *et al.*, 2003)

I.2.10.Diagnostic différentiel :

Il se pose :

- Avec les réactions inflammatoires dans le cas de RMS lâche de type botryoïde. La couche cambiale et la différenciation myxoïde doivent être recherchées.

- Avec les autres tumeurs à petites cellules rondes : (lymphome, neuroblastome sarcome d'Ewing et PNET...) l'argument fondamentale est la présence de la desmine. (Vanderlinden *et al.*, 1996)

I.2.11.Cancérogénèse et Profil génétique et les voie de signalisation des rhabdomyosarcome

I.2.11.1.Cancérogénèse des RMS

Les ERMS pourraient dériver des cellules satellites puisque l'expression de PAX7 est élevée dans ce sous-type, alors que l'expression de PAX3 est inchangée. Les ERMS auraient donc pour origine des cellules satellites musculaires (Charytonowicz *et al.*, 2009), connues pour exprimer PAX7 dans les conditions normales (Tiffin *et al.*, 2003). Les cellules satellites ne sont pas considérées comme des cellules souches mais plutôt comme des cellules progénitrices du muscle, durant la croissance postnatale ou lors du processus de cicatrisation. Cependant, des cellules souches pluripotentes sont aussi présentes au niveau du muscle squelettique (Asakura *et al.*, 2002). Alors que les cellules satellites s'engagent obligatoirement dans la voie myogénique, ces cellules souches pluripotentes peuvent non seulement s'engager dans la voie myogénique mais aussi dans les voies myéloïde ou lymphoïde. De plus, les cellules satellites expriment des marqueurs de la voie myogénique tels que la desmine ou Pax7. A l'inverse, les cellules pluripotentes n'expriment pas ces marqueurs myogéniques mais des marqueurs de cellules souches hématopoïétiques tels que Sca-1 ou CD45 (Seale *et al.*, 2000).

Quant aux ARMS, Keller et al. démontrent chez la souris que l'expression de Pax3-FKHR dans des cellules satellites n'entraîne pas leur transformation en ARMS, mais entraîne la formation d'un petit nombre de myoblastes post-nataux (Keller *et al.*, 2004). Alors que l'expression de Pax3-FKHR dans des myoblastes différenciés, exprimant myf6, entraîne la formation de cellules similaires aux ARMS humains (Keller *et al.*, 2004). Ces résultats suggèrent que les ARMS ne proviendraient ni de cellules souches ni cellules satellites, mais de cellules musculaires matures et différenciées. Cependant si tel est le cas, les caractéristiques anatomiques et morphologiques des ARMS sont difficilement explicables. En effet, les ARMS forment des tumeurs peu différenciées avec des structures de différenciation musculaires limitées, malgré l'expression de marqueurs de différenciation musculaires

Chapitre I : Généralité

(Tonin *et al.*, 1991). Plus récemment, Ren *et al.*, montrent que les ARMS auraient pour origine des cellules souches mésenchymateuses (Ren *et al.*, 2008). Ils montrent que PAX3-FKHR peut activer la myogenèse dans les cellules souches mésenchymateuses transfectées avec cette construction, en induisant l'expression de MyoD et de myogénine.

L'origine des deux principaux sous-groupes de RMS serait donc différente : les ARMS dériveraient des cellules souches mésenchymateuses, quant aux ERMS, ils dériveraient des cellules satellites.

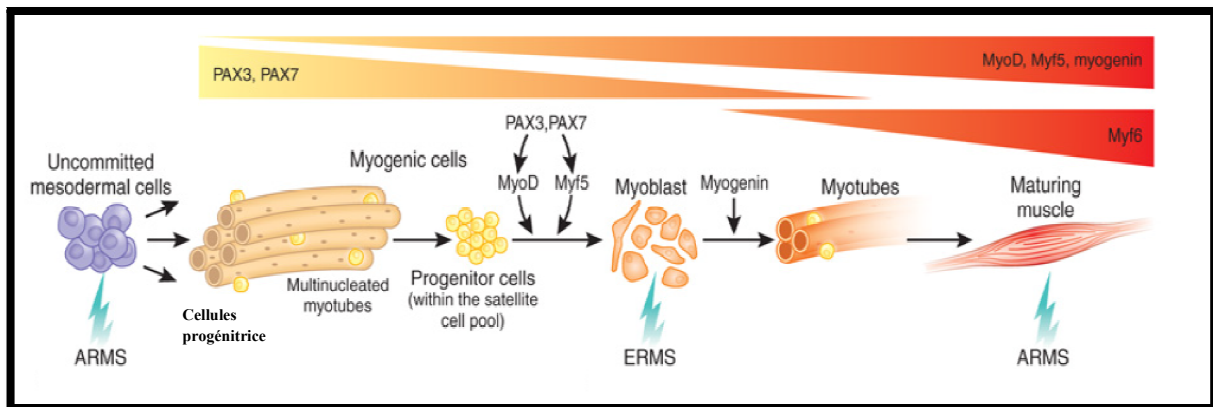


Figure 1 : Modèle de la myogenèse du muscle squelettique avec les possibles origines des rhabdomyosarcomes. (Figure provenant de Hettmer ,2010)

La spécification du mésoderme dépend des facteurs de transcription de la myogenèse (comme PAX3, PAX7, MyoD, Myf5, Myf6 et la myogénine). Le maintien du muscle adulte et la régénération font appel à des cellules précurseurs musculaires quiescentes provenant des cellules satellites et qui vont ainsi proliférer, se différencier et leur fusion va entraîner la formation de myotubes multinucléés. En fonction du type d'oncogène exprimé, les cellules MPCs (Muscle Progenitor Cells) peuvent générer des ARMS (alveolar rhabdomyosarcoma), alors que les myoblastes peuvent être à l'origine des ERMS (embryonal rhabdomyosarcoma). (voir figure 1)

I.2.11.2.Profil génétique

Les deux sous-types histologiques principaux des RMS, à savoir embryonnaire et alvéolaire, présentent des altérations génétiques spécifiques mais distinctes qui sont censées jouer un rôle dans la pathogenèse de ces tumeurs.

I.2.11.2.1.Rhabdomyosarcome embryonnaire

Pratiquement dans tous les cas de ERMS, une anomalie peut être détectée dans les cellules cancéreuses (et seulement dans les cellules cancéreuses ce qui veut dire que cette anomalie n'est pas héritée génétiquement!). Cette anomalie provoque une sur-expression d'un gène qui est important pour la croissance des cellules du muscle normal. (Wexler. *et al.*, 2004)

Dans la plupart des ERMS, un événement génomique sont associée comme la perte de chromosomes, suppression, ou les résultats de disomie uniparental la perte des deux allèles de plusieurs chromosome loci 11. Cette perte de hétérozygotie se localise dans la région chromosomique 11p15.5, qui contient des gènes qui codent pour des imprimés le facteur de croissance IGF2 et les suppresseurs de croissance H19, CDKN1C, et HOTS. (Pancras. *et al.*, 2013)

Chapitre I : Généralité

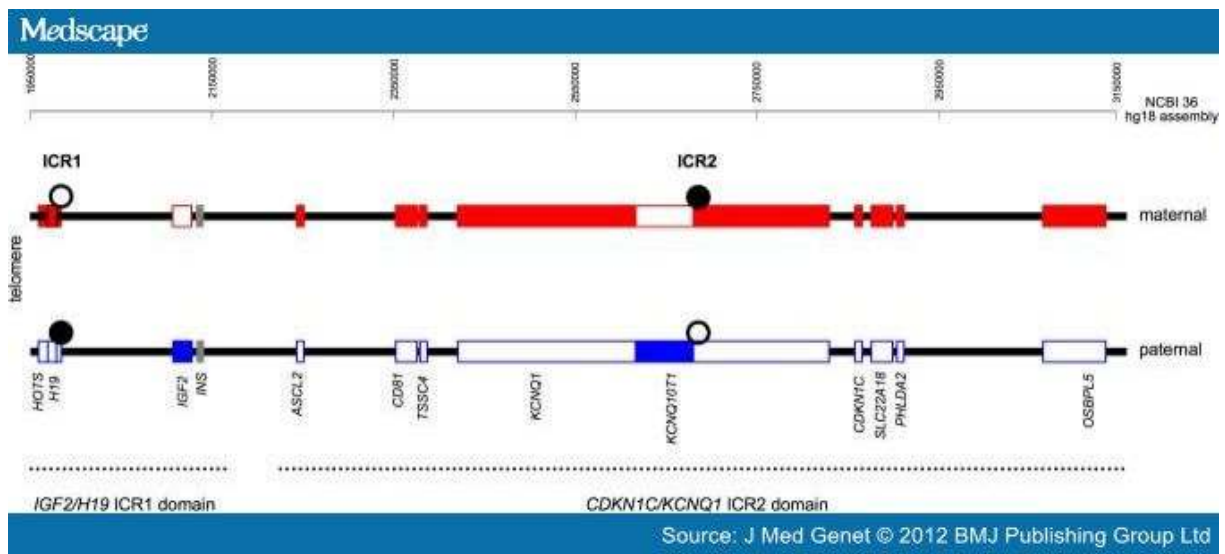


Figure 2 : présente la région chromosomique 11p15.5.

Dans le cas normal, H19 est exprimé à partir du chromosome maternel seulement; Igf2 est exprimé uniquement à partir du chromosome paternel. Les deux gènes sont en commun une région activatrice située en aval de H19 cette région appelé ICR (région de commende d'impression), qui port un site de facteur de liaison CCCTC (FCCT). CTCF est une protéine à doigt de zinc qui a été montré pour se lier à l'allèle maternel non méthylé de locus Igf2/H19, Cela empêche les promoteurs situées dans le gène Igf2 d'interagir avec les activateurs en aval du gène de H19, ce qui entraîne le silençage transcriptionnel d'Igf2. L'ICR paternel est méthylé, empêchant la liaison de FCCT. Ceci permet aux activateurs pour contacter les promoteurs de l'Igf2 paternel, permettant la transcription du gène. Le gène H19 paternel est réduit au silence par méthylation. Le gène *CDKN1C* code pour un inhibiteur de la kinase cycline-dépendante qui agit comme un régulateur négatif de la prolifération cellulaire et la croissance du fœtus. *CDKN1C* fonctionne également comme un gène suppresseur de tumeur. Normalement, *CDKN1C* est imprimé sur l'allèle paternel et ne s'exprime que sur l'allèle maternel. Dans la plupart des cas d'ERMS, soit les 2 gènes sont activés ou la copie du gène maternel est perdue alors que le gène paternel est dupliqué et ses 2 copies sont "actives". Cela semble mener à la production d'un signal constant de "prolifération" qui signale à la cellule de continuer de croître et la protège des pressions environnementales normales qu'elle subit. Et pour le gène Inhibiteur de la kinase cycline-dépendante 1C *CDKN1C* (p57 (kip2)), généralement n'est pas muté dans l'ERMS, mais son expression est régulée à la baisse par des changements épigénétiques telles que la méthylation de l'ADN et des histones répressives marques au promoteur. (Genet *et al.*, 2013).

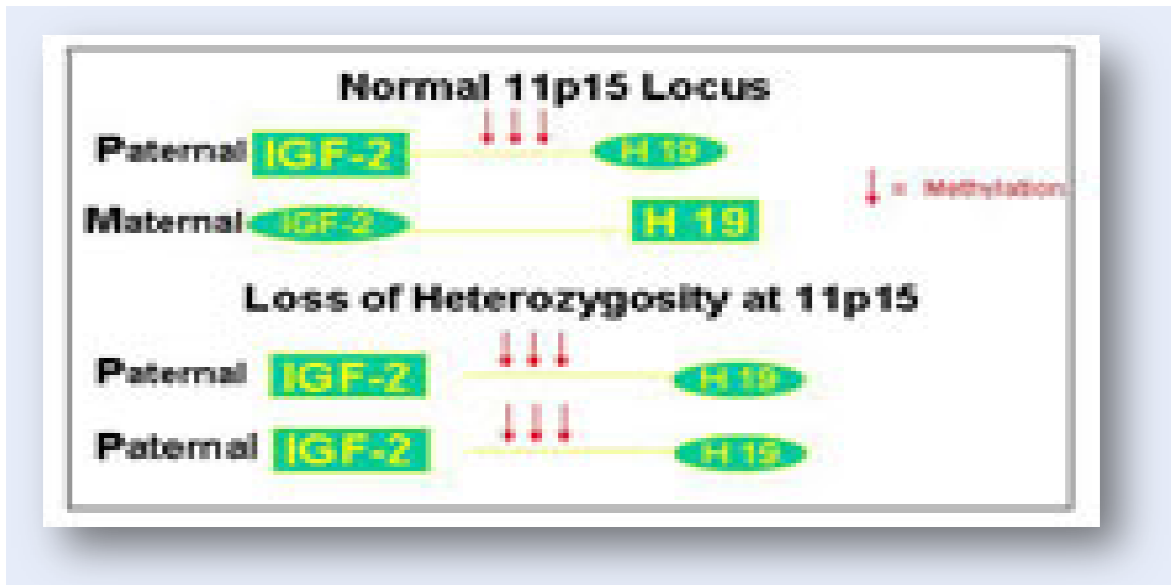


Figure 3 : sur-expression de facteur de croissance IGF2. (Hennekam *et al.*, 2003)

I.2.11.2.2. Rhabdomyosarcome alvéolaire

Les rhabdomyosarcome alvéolaire sont associés à des translocations spécifiques où une partie d'un gène normal et une partie d'un autre gène normal se brisent et échangent leur place.

Dans la plus part des cas des ARMS possède une translocation entre le gène PAX3 situé sur le bras long du chromosome 2 et le gène FKHR situé sur le bras long du chromosome 13, identifiée par la notation t (2; 13) (q35; q14). Alors que la translocation entre le gène PAX7 situé sur le bras court chromosome 1p36 et le gène FKHR situé sur le bras long du chromosome 13, identifiée par la notation (1; 13) (p36; q14), qui se produit dans plus petits nombres des ARMS. Cette fusion forme un nouveau gène "hybride" (PAX-FKHR) qui active des gènes stimulateurs de croissance qui sont normalement "inactifs" et désactive des gènes inhibiteurs de croissance qui sont normalement actifs. (Davis. *et al.*, 1994).

Chapitre I : Généralité

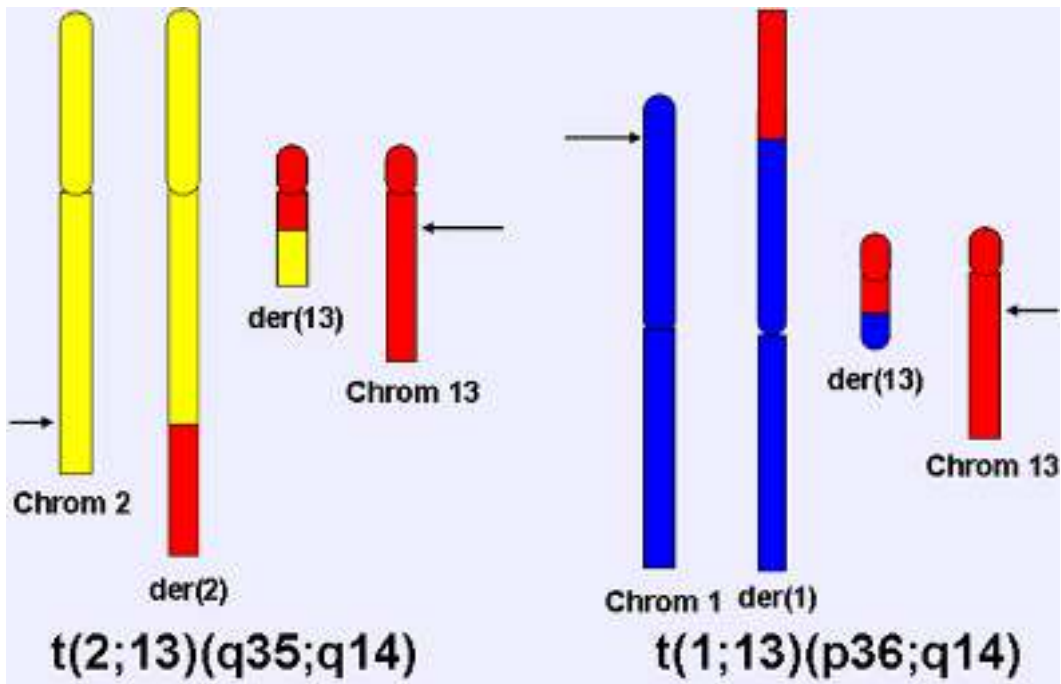


Figure 4 : Diagramme de translocations chromosomiques, $t(2, 13)(q35; q14)$ et $t(1, 13)(p36; q14)$.

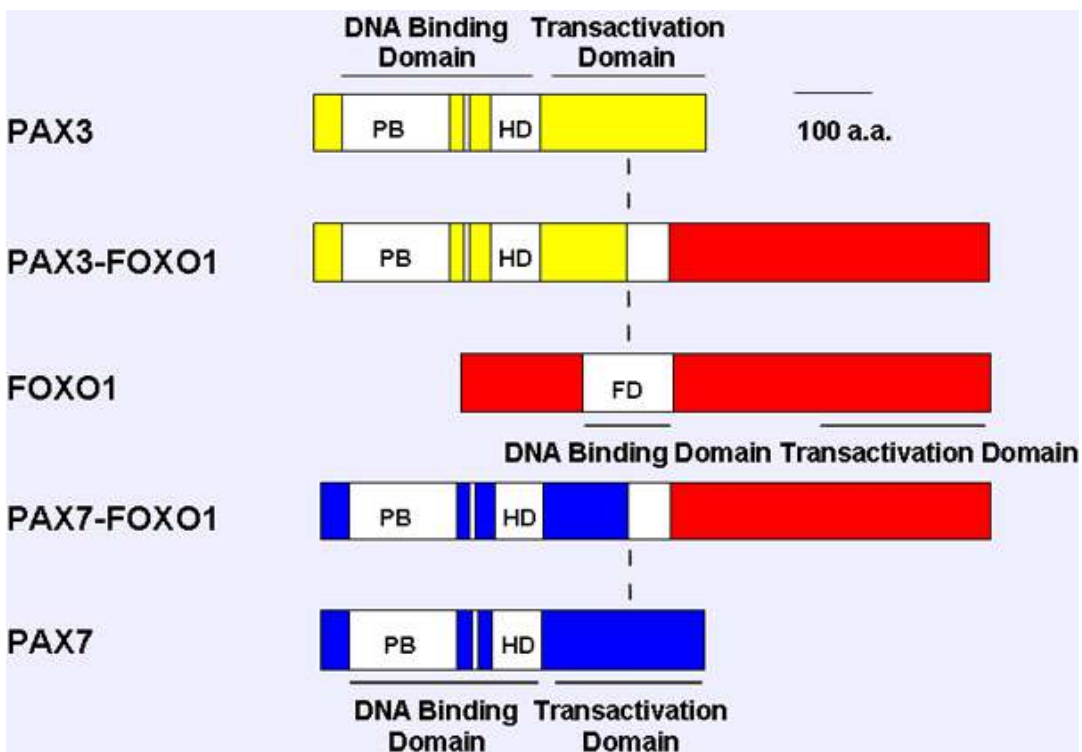


Figure 5 : la translocation réciproque entre PAX et FKHR crée un 'oncogène' hybride. (Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology)

paired box, octapeptide, homeobox et forkhead domain (PB, HD, FD) sont représentées par des cases en blanc. Domaines de la transcription (domaine de liaison à l'ADN, DBD; transcription activation domaine TAD) sont indiqués comme Solide horizontal. Le point de translocation de fusion est indiqué comme ligne pointillée verticale. (Fedrik *et al.*, 2013).

Chapitre I : Généralité

Plus précisément, en fusionnant les domaines "paired-box" (PB) et "homéobox" (HD) du gène Pax 3 avec le domaine d'activation transcriptionnelle (TAD) du gène FKHR, un nouveau gène "hybride" est créé qui semble jouer de deux manières un rôle crucial dans le processus par lequel la cellule d'un RMS devient cancéreuse (voir figure 5).

En outre, les produits de fusion exprimés manière spécifique du gène: PAX3-FOXO1 est habituellement régulée à la hausse par un mécanisme de la transcription, alors que PAX7-FoxO1 est généralement augmentée par amplification de gène de fusion.

Fusion positive d'ARMS est remarquable par l'apparition fréquente d'amplification génomique. En plus d'amplification PAX7-FOXO1, il existe plusieurs d'autres événements d'amplification en commun :

Amplification de l'oncogène MYCN situé sur 2p24 et qui se produit dans sous-ensemble positif PAX3-FOXO1 et PAX7-FOXO1 (à propos de 20%).

Amplification d'une région contenant 27 gènes, y compris CDK4, qui se produit exclusivement dans les cas positifs de PAX3-FOXO1 (à propos de 25%).

Finalement, on à amplification du gène miR-17-92 microRNA cluster-encoding MIR17HG situé sur la région 13q31 est marqué préférentiellement dans les cas positif PAX7-FOXO1 (à propos de 70%). (Pancras *et al.*, 2013).

I.2.11.2.3.rhabdomyosarcome sclérosante

Les études cytogénétique d'un nombre limité de cas a révélé l'aneuploïdie sur tout avec un gain de chromosome, ainsi que des changements structural non récurrents.

I.2.12.3.Voie de signalisation

Les analyses individuelles des gènes dans le rhabdomyosarcome ont impliqué plusieurs voies oncogènes :

- l'activation de la voie de signalisation IGF2
- Dérégulation de la voie RB1 et TP53 est suggère par des mutations inactivatrice de TP53 et CDKN2A/CDKN2B.
- La voie RAS est activée soit par des mutations de gènes de la famille RAS ou suppressions NF1
- L'activation de la voie de signalisation Hedgehog peut être expliquée par des gains de bas niveau de la région 12q13 contenant le gène de GLI1
- Activation des mutations oncogéniques du gène FGFR4 se produisent avec ou sans accompagnement d'amplification génique
- En plus des mutations RAS et FGFR4, on à aussi d'autres mutations PIK3CA et CTNNB1 (B-caténine) ont été identifiées dans un sous-ensemble de RMS.
- Dans l'ERMS, le gain du nombre de copies au locus du gène ALK est une caractéristique génétique qui peut être corrélée à la progression métastatique.
- augmentation de l'expression de c-MET. (Julia *et al.*, 2013)

Chapitre I : Généralité

I.2.11.3.1. Voie de signalisation IGF2 :

➤ IGF2

IGF2 Insulin-like growth factor 2 est l'une des trois protéines qui partagent une similitude structurale avec l'insuline. IGF2 est normalement exprimé dans le foie et d'autres sites extra-hépatiques, similaire à IGF1. Contrairement à l'IGF1, l'expression d'IGF2 chez les mammifères n'est pas seulement régie par l'hormone de croissance (GH). Cependant, les mécanismes régulant l'expression d'IGF2 demeurent incertains. IGF2 est l'IGF prédominant, avec des niveaux plasmatiques de 3 à 7 fois plus élevée que l'IGF1.

La voie IGF composée de trois molécules de ligand (IGF1, IGF2 et insuline), 6 protéines de liaison (IGFBP1 travers d'IGFBP6), et 4 récepteurs (IGF1R, IGF2R, IR et récepteurs hybrides). Une cascade des signaux est impliquée dans de nombreuses voies de développement et mitogéniques qui conduisent à un processus cellulaire tels que l'activation de la prolifération cellulaire, l'invasion, et l'angiogenèse, ainsi que l'inhibition de l'apoptose. IGF2 et IGF1R sont deux composants de la voie de signalisation qui sont connus pour jouer un rôle important dans l'oncogenèse RMS. (Olmos *et al.*, 2011).

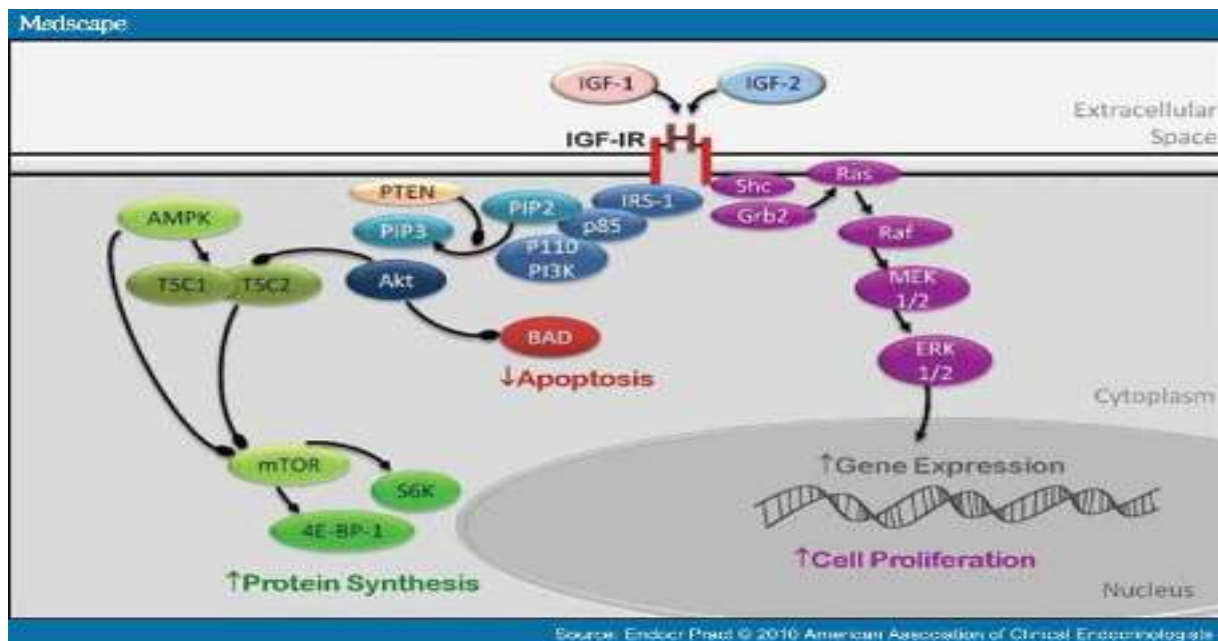


Figure 6 : Représentation schématique de la voie de signalisation IGF2.

I.2.11.3.2. La voie RAS :

➤ RAS :

La famille des proto-oncogènes RAS comprend trois gènes bien caractérisés HRAS, NRAS et KRAS. Les protéines issues de ces gènes ont un poids moléculaire de 21 000 daltons, d'où leurs noms p21. Elles sont localisées à la face interne de la membrane cytoplasmique, ancrées dans la couche phospholipidique membranaire par leur extrémité C terminale. Les protéines RAS font partie de la famille des GTPases, et jouent un rôle important dans la transmission de signaux extracellulaires provenant des récepteurs membranaires vers le noyau, aboutissant à la régulation de la prolifération, de la survie, de la différenciation et de la migration cellulaire, ainsi que de l'angiogenèse.

Concernant les protéines RAS, N-ras et K-ras sont parmi les anomalies des oncogènes les plus fréquemment observés dans les RMS ont une mutation activatrice de ce gène. (Lièvre *et al.*, 2010)

➤ Voie de signalisation

Les protéines RAS jouent un rôle « d'interrupteur » au sein des voies de signalisation et oscillent entre deux états : un état actif où elles sont liées au GTP (Guanosine Tri-Phosphate), ce qui permet transitoirement l'interaction de RAS avec d'autres molécules intracellulaires effectrices et l'activation de différentes voies de signalisation (RAS/MAPK) état inactif où elles sont liées au GDP. (voir figure7). (Lièvre *et al.*, 2010)

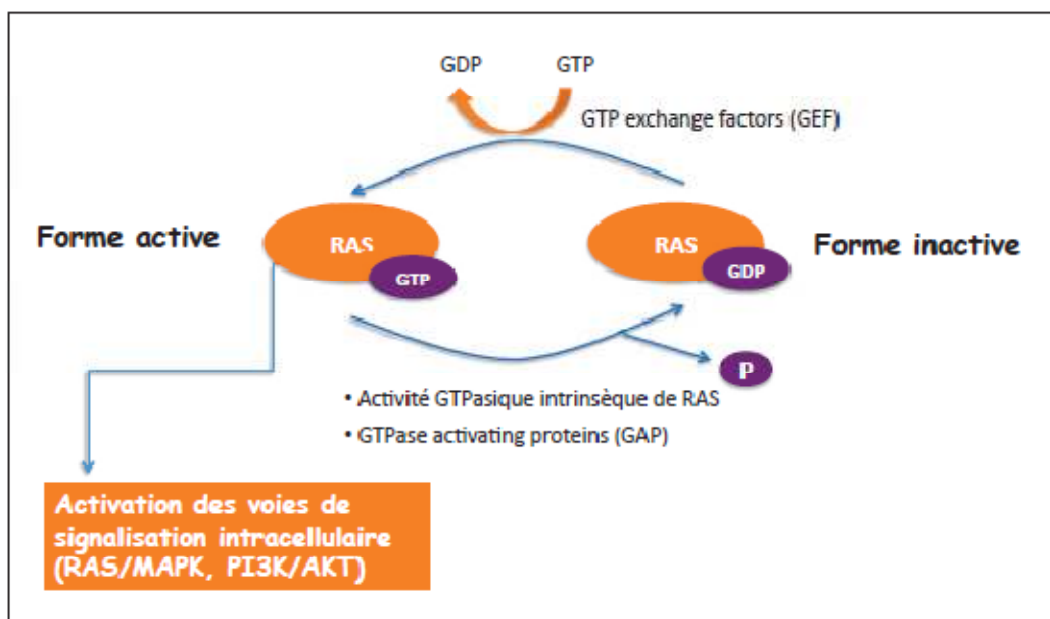


Figure 7 : Forme active et inactive de la protéine RAS. (Lièvre *et al.*, 2010)

I.2.11.3.3. Voie de signalisation Hedgehog :

La Sonic hedgehog (SHH) est chez les mammifères l'une des trois protéines impliquées dans la voie de signalisation nommée Hedgehog. La protéine SHH est le ligand de la voie de signalisation Hedgehog. Il joue un rôle clé dans la régulation de l'organogénèse des vertébrés, tels que la croissance des doigts sur les membres et l'organisation du cerveau.

Dans le RMS on a activation de la voie de signalisation Hedgehog peut être expliquée par des gains de bas niveau de la région 12q13 contenant le gène de GLI1. (Julia *et al.*, 2013).

Représentation schématique de la voie de signalisation Sonic Hedgehog en l'absence et en présence ligand. A: En l'absence de ligand, patched 1 (PTCH1), récepteur à 12 domaines transmembranaires, est situé à la membrane plasmique, et la protéine SMOH est majoritairement située à la membrane des endosomes intracellulaires. Dans cette situation, différentes kinases phosphorylent les facteurs de transcription GLI-1/GLI-2/GLI-3 et les inactivent (GLI-R), de sorte que les gènes cibles de la voie ne

Chapitre I : Généralité

sont pas transactivés ; B : lorsque le ligand Sonic Hedgehog (SHH) est sécrété par une cellule voisine, il se lie à PTCH1, induisant son internalisation. Dans cette situation, PTCH1 est déstabilisé et SMOH migre à la membrane plasmique où convergent des protéines encore indéterminées, qui aboutissent à l'activation des facteurs de transcription GLI. L'activation de ces facteurs (GLI-A) conduit à leur migration dans le noyau où ils favorisent la transactivation des gènes cibles de la voie (PTCH1, GLI et cycline D).

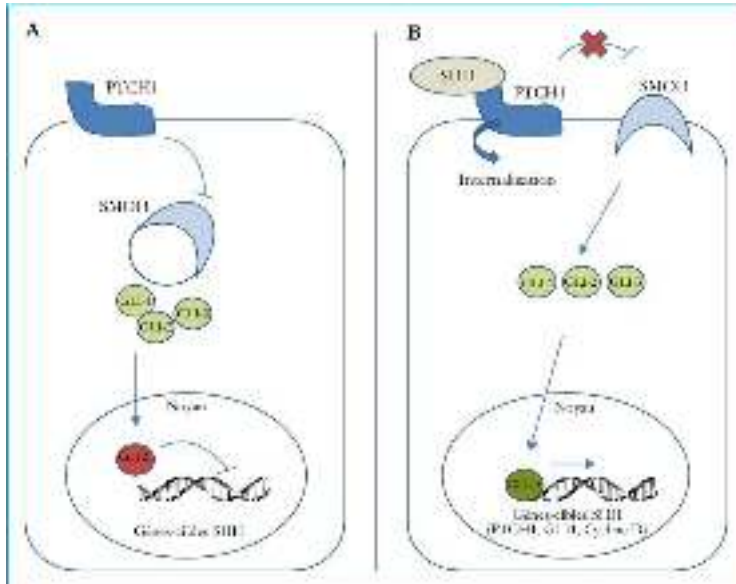


Figure 8: Représentation schématique de la voie de signalisation Sonic Hedgehog. (Copyright © 2014 JOHN LIBBEY EUROTTEXT)

I.2.11.3.4. Voie wnt/B-cat :

➤ B-Caténine :

Les caténines d'un point de vue structural, apparentées aux protéines cytoplasmiques et ont été classifiées comme alpha (α), bêta (β), et gamma (γ) en fonction de leur mobilité électrophorétique. Le gène β -caténine est localisé au niveau de la région chromosomique 3p21 et code pour une protéine de 88 kD. Cette protéine cytoplasmique a multiples fonctions, jouant un rôle essentiel dans l'ancrage arbitré par les cadhérines et dans l'organisation du cytosquelette. La β -caténine est également impliquée dans la régulation de l'expression génique comme un médiateur de la voie de signalisation wnt. Les niveaux de β -caténine cellulaire sont étroitement régulés par un complexe multiprotéique comprenant la sérine/thréonine kinase GSK3 β , le produit du gène suppresseur de tumeur APC et l'axine, qui facilitent la phosphorylation et la dégradation ultérieure de la protéine β -caténine. Un dérèglement de la dégradation de la β -caténine conduit à une accumulation cytoplasmique de la protéine, suivie d'une translocation vers le noyau. La β -caténine nucléaire forme des complexes avec des protéines se liant à l'ADN telles que le TCF et le LEF, activant ainsi la transcription de gènes. (Willert *et al.*, 1998).

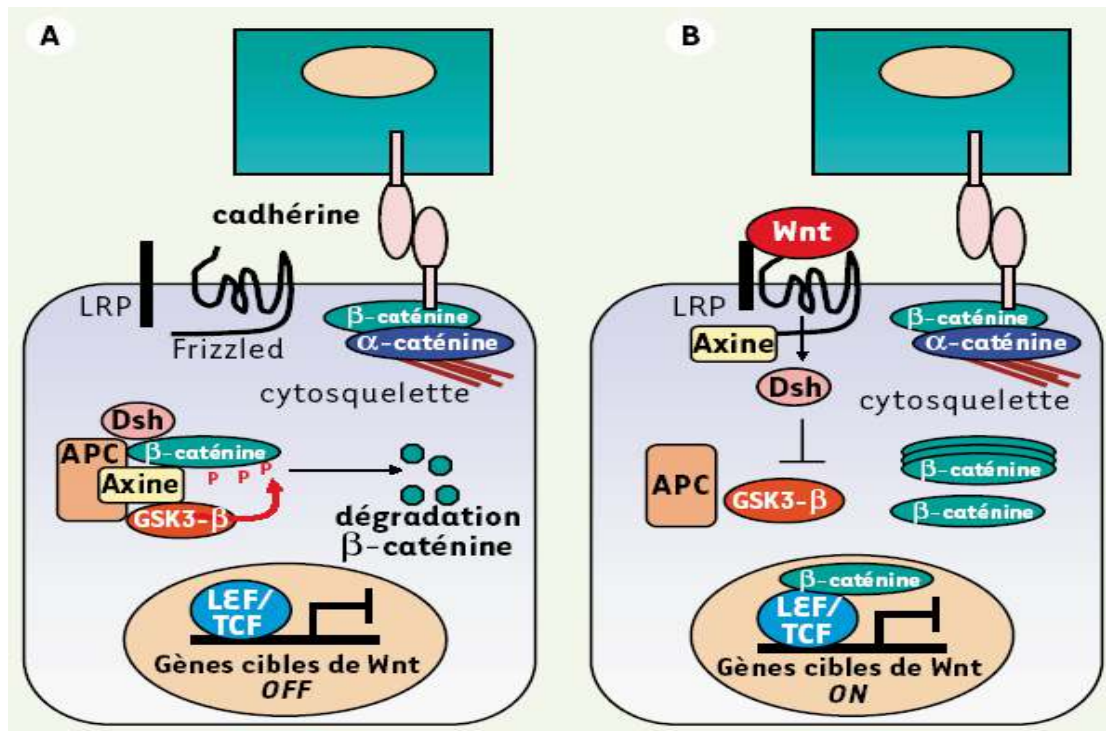


Figure 9: représentation schématique de la voie β -caténine en présence et en absence de ligand wnt. (Consortium Érudit © 2014).

I.2.11.3.5. La voie c-MET

➤ c-MET

c-Met est un récepteur tyrosine kinase. c-Met et son ligand, l'hépatocyte growth factor (HGF), sont requis pour le développement normal des mammifères ; il a été montré que c-Met et le HGF sont fortement impliqués dans la migration cellulaire, la différenciation et l'organisation en 3 dimensions des tubules ainsi que dans la croissance cellulaire et l'angiogenèse. (<http://www.neosante.org/met-carcinogenese-a02414783.htm>)

PAX-FKHR est également responsable de l'augmentation de l'expression d'un récepteur tyrosine kinase, c-MET qui est impliqué dans la transformation.

La surexpression de c-MET pourrait conférer aux cellules de RMS une capacité de migration similaire à des cellules embryonnaires d'origine musculaire à travers les tissus environnants. (Leonard *et al.*, 2004).

Schéma 10 simplifié des différentes voies de signalisation activées par HGF-MET. HGF (hépatocyte growth factor) induit la dimérisation et l'activation de MET (mesenchymal-épithélial transition factor) par la phosphorylation de résidus tyrosine dans la partie intra-cytoplasmique du récepteur. Différents effecteurs cytoplasmiques tels que GRB2 (growth factor receptor-bound protein 2) et GAB1 (GRB2-associated-binding protein 1) sont alors recrutés par MET pour activer différentes voies de signalisation comme la voie PI3K-AKT ou RAS- MAPK. Ces 2 voies de signalisation entraînent l'activation de l'expression de certains gènes impliqués dans la prolifération et le cycle cellulaire en parallèle, cette cascade de signalisation aboutit également à l'activation, d'une part de RAP1-FAK (ras-related protein 1- focal adhesion kinase) par GRB2, et d'autre part de CDC42 – RAC1 par RAS.

Chapitre I : Généralité

Ces 2 voies de signalisation sont impliquées dans le contrôle de l'activité des intégrines du cytosquelette et des cadhérines, affectant ainsi l'adhésion, la mobilité et l'invasion cellulaire.

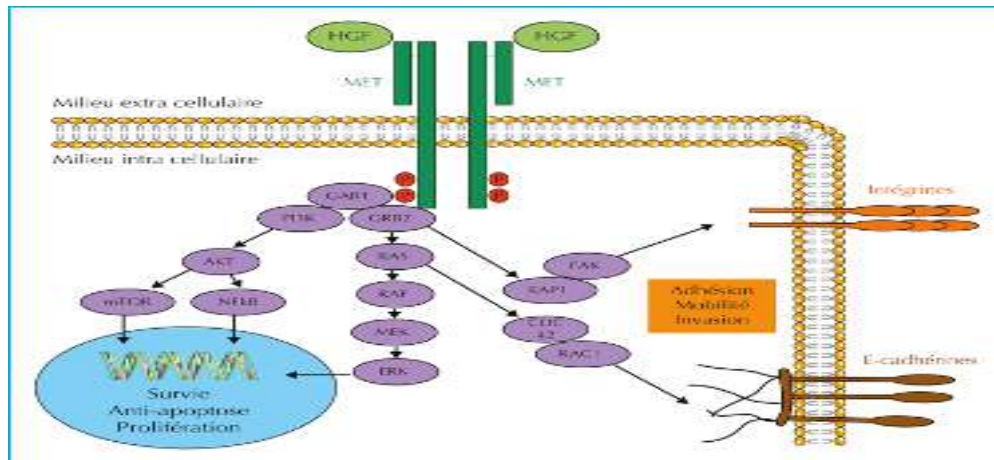


Figure 10 : Voie de signalisation C-MET. (zaanan *et al.*, 2014)

I.2.11.3.6. Voie de signalisation ALK

➤ ALK

ALK (anaplastic lymphoma kinase) est un récepteur tyrosine kinase appartient à famille du récepteur de l'insuline, codée par le gène ALK elle joue un rôle fonctionnel dans le développement du système nerveux, où il commande les mécanismes de base de la prolifération cellulaire, la survie et la différenciation. Et module l'activité de différentes voies de signalisation intracellulaire impliquées dans le développement de certaines tumeurs comme le RMS. La pléiotrophine (PTN) et à la midkine (MK), des facteurs de croissance sécrétés, sont connus pour fonctionner comme des ligands physiologiques pour ALK (Stocia *et al.*, 2001)

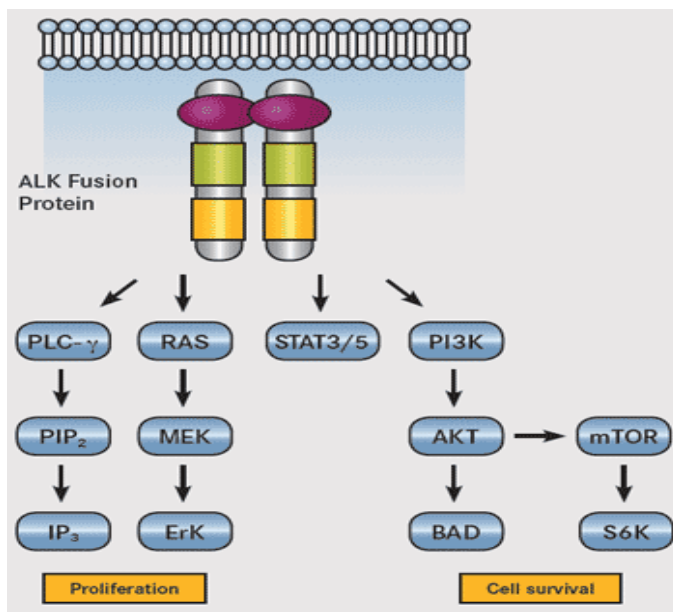


Figure 11 : la voie de signalisation ALK. (Jane *et al.*, 2012).

I.2.12. Caractères évolutifs

Les progrès thérapeutiques ont profondément modifié l'évolution spontanément dramatique. Le traitement associe chimiothérapie chirurgie, radiothérapie. La survie globale est de 50 à 60 % à 5 ans. Les rechutes locales sont marquées par l'infiltration et la destruction des structures intéressées. L'extension osseuse par contiguïté est fréquente (tumeur de la tête, du cou et des extrémités). L'extension métastatique concerne les poumons (2/3 des métastases), les ganglions lymphatiques (surtout pour la forme alvéolaire) et la moelle osseuse.

I.2.13. Les facteurs de pronostic

- La localisation avec 3 groupes de gravité croissante :
 - . Orbite, paratesticulaire, vagin et vulve
 - . Autres localisations dont tête et cou non paraméningées,
 - . Tête et cou paraméningées et intra-abdominales.
- Le stade clinique : le pronostic est meilleur pour les tumeurs localisées.
- Le type histologique avec 3 groupes de pronostic différent (classification internationale de 1989) :
 1. bon pronostic : botryoïde et léiomyomateux
 2. pronostic intermédiaire : tous les autres RMS embryonnaires
 3. mauvais pronostic: alvéolaire.
- Le sexe : l'évolution étant plus défavorable dans le sexe féminin indépendamment des autres facteurs. (Guillou *et al.*, 1998).

I.2.14. Moyens Thérapeutiques (voir figure 1(annexe1))

1. Chirurgie :

1-1 Biopsie initiale ou résection première.

- Une exérèse initiale microscopiquement complète, suivie de chimiothérapie adjuvante suffit en règle pour traiter les petites tumeurs localisées et de site accessible.
- Dans la plus part des cas, la chirurgie initiale est limitée à une biopsie elle doit être de qualité et de quantité adéquate pour faciliter le diagnostic histologique et la hiérarchisation des études biologiques.

1-2 Chirurgie seconde pour confirmer la remissions complète après tentative résection première :

- Dans certains cas il peut exister un doute de résection complète, la SIOP recommande de confirmer l'absence de résidu microscopique par une reprise chirurgicale non mutilante pour permettre ainsi de proposer une chimiothérapie moins lourde.

1-3 Chirurgie Différée :

- La recommandation de la SIOP est pour toutes les tumeurs volumineuses mais localisées, de réaliser une chirurgie différée de la lésion primitive lorsque la réponse maximum est obtenue par chimiothérapie.

1-4Chirurgie Radicale dans les tumeurs réfractaires primaires :

Chapitre I : Généralité

- Lorsqu'il existe un résidu ou que la chimiothérapie est inefficace, on peut faire une chirurgie qui dans ces cas, peut être radicale et ce, en dépit les séquelles possibles.

2. Radiothérapie :

2-1 But de la Radiothérapie :

- le but de la radiothérapie, associé ou non à la chirurgie, mais toujours après chimiothérapie première, est d'obtenir le contrôle local.

2-2 Moyens :

Doses et champs d'irradiation

* Les recommandations de la SIOP sont :

- 1.5 à 2 Gy par fraction, une fraction quotidienne, 5 fractions par semaine.

* Les recommandations de l'IRS en ce qui concerne la dose totale, varient selon l'âge de l'enfant et la taille de la tumeur :

- 41.4 Gy si enfant < 6 ans et tumeur <5 cm.
- 45 Gy âge > 6 ans et tumeur <5 cm ou si âge <6 ans et tumeur >5 cm.
- 50.4 Gy âge 6 ans et tumeur >5 cm.

(Pour l'IRS le volume irradié doit comprendre le volume initial avant chimiothérapie, plus une marge de 2 à 3 cm.).

2-3 Indications :

- Pour le groupe IRS seul le groupe I (résection chirurgicale compte) avec une histologie favorable n'ont pas d'indication d'irradiation.
- Certaines localisation peut bénéficier d'une curie thérapie interstitielle qui délivre une dose élevée à la tumeur en épargnant mieux les tissus sains : col utérin, vagin ; vessie, prostate et certains sites au niveau de la tête et du cou.
- La radiothérapie garde une place du choix dans les localisations inaccessible à une chirurgie non mutilante : tête et cou (surtout pour les tumeurs para méningées), orbite.

3. Chimiothérapie :

3-1 Les principaux médicaments efficaces

- Vincristine
- Actinomycine D
- Cyclophosphamide
- Ifosfamid
- Anthracycline
- Sels de platine
- Melphalan
- Les Epipodophylotoxines : VP16 et VM 26

3-1 les associations employées :

- VA : Vincristine – Actinomycine D

Chapitre I : Généralité

- VAC : Vincristine – Actinomycine D- Cyclophosphamide
- IV : Ifosfamide – Vincristine
- IVA : Ifosfamide – Vincristine – Actinomycine D
- IVE : Ifosfamide – Vincristine – Etoposide
- Adria- VAC : Adriamycine – vincristine – Actinomycine D – Cyclophosphamide
- VAD : Vincristine – Actinomycine
- CEV : Vincristine – Epiadriamycine – Carboplatine
- VINCAEPI : Vincristine- Carboplatine – Epipodophylotoxine
- CPAD : Cisplatine – Adriamycine
- CP-VP : Cisplatine- Etoposide
- VAIA : Vincristine- Actinomycine D- Ifosfamide– Adriamycine
- Carboepi : - Carboplatine – Epipodophylotoxine
- Chimiothérapie : intensive : 6 médicaments : Carboplatine- Epirubicine – Vincristine - Ifosfamide –Actinomycine D et Etoposide dans le protocole MMT 89 pour les stades III, et les stades IV. (Zemoura., 2012)

4. Les méthodes de traitement les plus récents

Les médicaments qui ciblent des parties spécifiques de cellules cancéreuses (par opposition juste pour attaquer les cellules à croissance rapide, comme les médicaments de chimiothérapie faire) sont actuellement à l'étude pour une utilisation dans RMS. Certains de ces médicaments sont déjà utilisés pour traiter certains cancers de l'adulte. Des exemples de médicaments ciblés nouveaux en cours d'étude pour une utilisation contre RMS comprennent:

- Les inhibiteurs du récepteur de l'IGF-1, tels que cixutumumab (IMC-1A2)
- Les médicaments qui affectent la capacité d'une tumeur à faire de nouveaux vaisseaux sanguins, tels que le bevacizumab (Avastin) et le sorafenib (Nexavar)
- Les médicaments qui ciblent la protéine mTOR, tels que le temsirolimus (Torisel) et l'évérolimus (Afinitor)
- Les médicaments qui ciblent la protéine ALK, tels que le crizotinib (Xalkori)
- Les médicaments qui ciblent voie hedgehog de la cellule, tels que LY2940680 et LDE225
- Le dasatinib (Sprycel)

Finalement, une combinaison de ces approches peut s'avérer être la meilleure façon de traiter RMS. (American cancer société 2013).

Chapitre I : Généralité

Cette étude a été réalisée au niveau de service d'Anatomie pathologique au CHU de Mustapha Bacha (Alger), durant la période de Janvier 2014 jusqu'à Aout 2014 (8 mois).

II.1. Matériel

II.1.1. Population d'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective de 40 patients touchés par le rhabdomyosarcome, s'étendant sur une période de 5 ans (Jan 2009- Déc. 2013), ont été colligés au service d'Anatomie pathologique au CHU de Mustapha Bacha (Alger).

Les paramètres d'études sont :

- Age de malade
- sexe
- siège
- diagnostique

Une étude histologique a été réalisée sur 15 cas atteints par le rhabdomyosarcome et une autre étude immunohistochimique réalisée sur seulement 10 cas pour bénéficier la recherche de l'expression de la β -caténine, et l'expression de la myogénine et aussi de la desmine. (Voir annexe 2 tableau IX)

II.1.2. Matériel non biologique

Tout matériel, non biologique (Équipement et petit matériel, et les réactifs (voir annex1)) nécessaire pour la réalisation de la technique de coloration Hématoxyline (HE) et études immunohistochimique nous a été fournit par le laboratoire de service d'anatomie pathologique au CHU Mustapha Bacha.

II.2. Méthodes

Au laboratoire, 40 prélèvements tissulaires fixés au formol tamponné à 10%, sont identifiés grâce à la fiche de renseignement et enregistrés avec attribution d'un numéro d'ordre qui suivra le prélèvement durant toutes les étapes de la technique jusqu'à la rédaction du compte rendu et l'archivage des blocs de paraffines et des lames.

II.2.1 Prélèvement :

- Biopsie
- Pièces opératoires
- Exérèse

II.2.2 La fixation

Après fixation de 12h à 24 heures dans le formole à 10% les prélèvements sont rincés pour éliminer toute trace de fixateur, Cette étape a pour but la conservation des structures.

II.2.3.Examen macroscopique

L'examen macroscopique détaillé est une partie essentielle de l'étude d'une pièce opératoire. La pièce est examinée, mesurée, pesée, palpée. Elle doit être découpée proprement sans les écraser pour maintenir l'architecture tissulaire, et disposées dans des cassettes en plastique.

Bien qu'il n'existe pas de caractère pathognomonique du RMS, on peut schématiquement opposer :

- Les RMS se développant dans des cavités (vessie, nasopharynx, sinus), ils sont généralement assez bien limités multi nodulaires ou polyploïdes en grappe exophytique et gélatiniforme d'où le nom de RMS botryoïde (de botrus = grappe de raisin).

- Les RMS profonds ou des extrémités, moins bien limités, infiltrants, de consistance ferme ou élastique, grisâtre ou brun-jaunâtre, lisse ou granuleux sur la tranche de section.



Figure 12 : vue macroscopique d'un rhabdomyosarcome (Icono: Thèse du Pr Belarbi)

Cette icono présente un nodule de 5 cm qui est assez bien limitée avec une tranche de section ferme blanchâtre et avec la présence des remaniements hémorragiques (figure 12).

II.2.2. Étude histologique : technique de coloration HE (Hématoxyline, Éosine)

➤ Principe

La coloration HE est une coloration universelle de routine permettant l'identification des caractères histologique de tissus en associant une coloration nucléaire par l'hématoxyline de Harris à une coloration cytoplasmique par l'éosine. L'hématoxyline de Harris est un colorant basique qui colore le noyau en bleu tandis que l'éosine de nature acide colore le cytoplasme en rose. Ces étapes sont :

1) Déshydratation

Elle se fait dans l'automate à circulation. Les prélèvements sont déshydratés dans des bains d'alcool à concentration croissante, puis trempés dans 3 bains de xylène pour subir l'éclaircissement, qui consiste à éliminer l'alcool utilisé dans la déshydratation et par conséquent préparer le tissu à l'imprégnation dans la paraffine.

2) Inclusion en paraffine

Les prélèvements sont alors imprégnés par la paraffine liquide, puis les prélèvements sont placés dans des moules, elles sont imprégnés par la paraffine hydrophobe fondue à 57°C, puis refroidis à 4°C afin de permettre la réalisation des coupes fines et régulières.

3) Confection des coupes

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

4) Étalement sur lames

La coupe est étalée en dépliant sur la lame côté brillant sur le verre en présence des gouttes de l'eau, puis le collage se fait par chauffage de la lame sur une plaque chauffante.

5) Séchage des lames pendant une nuit à 40°C dans l'étuve.

6) coloration

La coloration usuelle de routine dans tous les laboratoires d'Anatomie Pathologique est la coloration de l'hématoxyline éosine (HE).

1. les coupes sont passées dans trois bains de xylène, pendant 5 minutes chaque fois pour les déparaffiner.
2. Hydratation des coupes se fait dans 3 bains d'alcool éthylique à des concentrations décroissantes, pendant 5 minutes dans chaque bain.
3. Rinçage à l'eau courante.
4. pour la coloration des noyaux en bleu, en plongeant les lames dans le bac à Hématoxyline de Harris durant 3 à 4 min.
5. rinçage des lames dans un bac d'eau du robinet pendant 2 à 3 minutes à chaque fois.
6. les lames sont plongées dans l'eau acidifiée (HCl) pendant 1 minute.
7. Rinçage à l'eau courante.
8. Bleuissement des lames dans une eau ammoniacuée, puis rinçage à l'eau courante.
9. en plongeant les lames dans un bain d'éosine pendant 2 minutes pour la coloration des cytoplasmes en rose puis rinçage à l'eau du robinet.
10. séchage des lames.

7) Montage et observation au microscope optique

Le montage se fait classiquement entre lame et lamelle en utilisant le média classique (eukitt) ceci pour éviter l'oxydation des colorants, la lame est alors prête à être analysée au microscope optique. La lecture des lames est effectuée au grossissement (X 40, X 100, et X 400).

II.2.3. Étude immunohistochimique : Technique d'immunohistochimie (IHC)

Il s'agit d'une technique facilement accessible, peu onéreuse, qui reste une étape essentielle dans la démarche diagnostique. Elle repose sur le principe de la réaction antigène-anticorps (permet de localiser et identifier in situ un constituant tissulaire (antigène) grâce à une réaction immunologique de type Ag-Ac). Elle permet de mettre en évidence plusieurs types d'antigène potentiellement présents au niveau des cellules : des marqueurs de différenciation cellulaire (par exemple, marqueurs de différenciation épithéliale comme les cytokeratines, de différenciation musculaire comme l'actine musculaire lisse, la desmine, la H caldesmone, la myogénine des marqueurs de différenciation vasculaire comme CD31 et le CD34), des produits d'oncogènes (par exemple MDM2 et p53) et d'anti-oncogènes (protéine INI-1 dans les tumeurs rhabdoïdes), et marqueurs de prolifération cellulaire (Ki-67).

➤ Principe

afin de déterminer l'expression des marqueurs de différenciation de rhabdomyosarcome qui sont la myogénine et la desmine avec aussi le marqueur oncogène β -caténine nous avons choisi l'application d'une méthode indirecte complexe Peroxydase-Anti-Peroxydase (PAP), qui consiste à amplifier le marquage par un système de révélation dont l'avantage réside dans la possibilité de fixer les molécules de chromogènes permettant ainsi de mieux visualiser les complexes Ag-Ac qui est naturellement invisible. Le système révélateur est constitué d'un deuxième Ac biotinylé lié à une molécule porteuse d'une enzyme qui est la streptavidine peroxydase, qui elle-même peut relier deux molécules de chromogène DAB (substrat). La réaction substrat dégage une coloration qui est visualisée sous microscope. L'intensité de cette coloration exprime un score de l'expression du myogénine et desmine, β -caténine sur le tissu tumoral (figure 13).

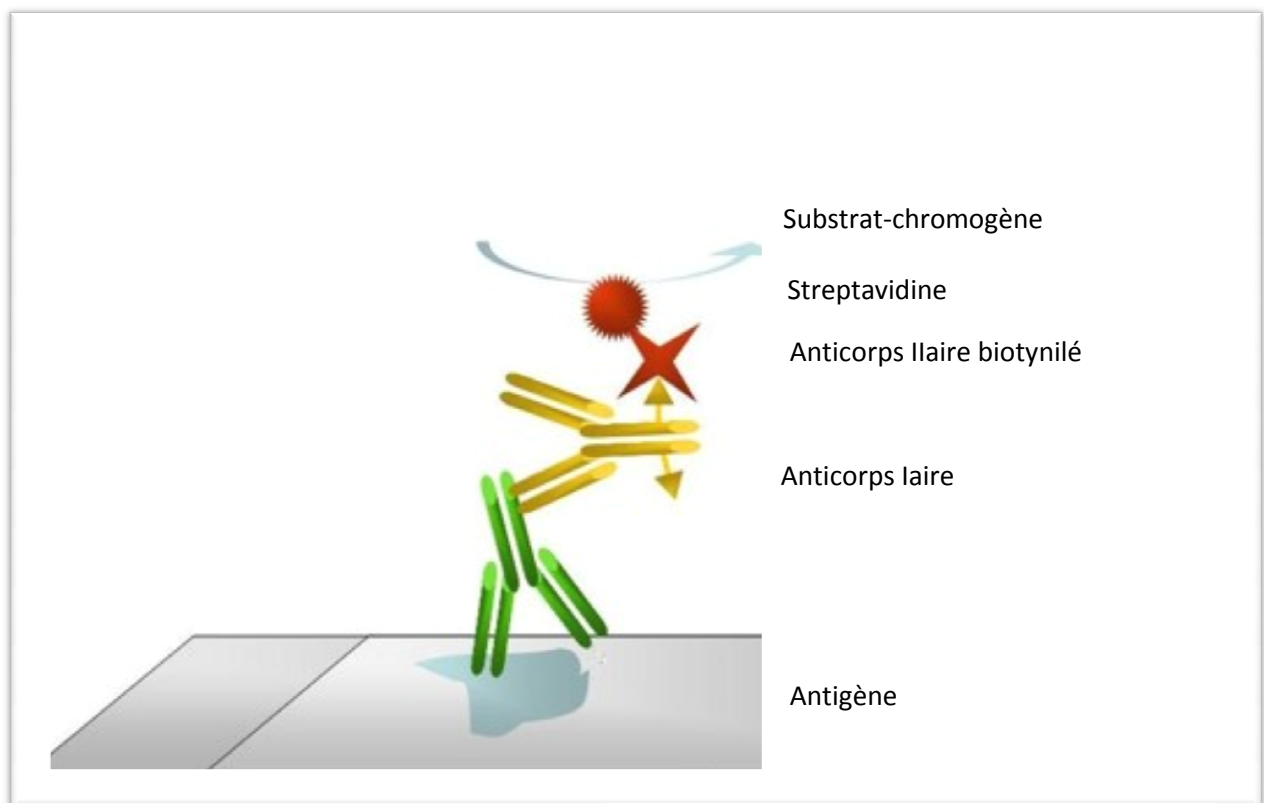


Figure 13 : Le principe de la révélation de la peroxydase (DIAGOMICS 2009)

- Préparation des réactifs :

- Préparation du PBS : Ajouté 10 comprimés dans 1L d'eau
- Préparation de la DAB : Ajouté 1 goutte de DAB+ dans 1ml de diluent

- Préparation des tissus :

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

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

1^{ère} étape

- Déparaffinage des coupes tissulaires dans 5 bains de xylène successifs durant 5 minutes chacun.
- Réhydratation des coupes dans 5 bains d'alcool successifs durant 5 minutes pour chacun.
- Blanchissement dans l'eau distillé pendant 5 minutes.

2^{ème} étape : démasquage des sites antigéniques

Cette étape permet de remédier aux effets secondaires de la fixation. Plusieurs possibilités existent : prédigestion enzymatique ou démasquage par la chaleur.

- Immersion des lames dans 2 bacs qui contient une solution de démasquage : TRS « Target Retrieval Solution » à pH=9 et pH=6
- incubation des 2 bacs dans un bain marie à 95° pendant 40 minutes.
- refroidissement des lames sur la paillasse pendant 20 minutes.
- Trempage des lames dans l'eau distillé pendant 5 minutes.
- Les fragments déposés sur les lames ont été encerclés par Dako pen pour empêcher les anticorps de diffuser sur toute la lame.

3^{ème} : blocage des peroxydases endogènes tissulaires

Cette étape a pour le but de blocage de l'activité des peroxydases endogènes. Elle est réalisée en utilisant 100µl de l'eau oxygénée (H₂O₂) à 30% pendant 10 minutes.

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

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

Tout tissu est couvert par l'AC primaire prédilué.

Tableau VIII : représentant les AC I utilisés dans l'étude IH C de RMS

Type d'Ac anti-	PH	Dilution
Anti-myogénine	6	1/50
Anti-desmine	6	1/50
Anti- β – caténine	9	1/200

-Incubation des lames pendant 45 minutes dans la chambre humide fermée à température ambiante puis rinçage dans 2 bains successifs de PBS durant 5 minutes chacun.

5^{ème} étape : application du système de visualisation LSAB2 (Labelled Streptavidine Biotine2)

Application de l'AC secondaire biotinylé (Biotinylated Link) et incubation pendant 30 minutes puis rincer dans deux baignoires successifs de PBS durant 5 minutes chacun.

6^{ème} étape : Révélation

Le chromogène de la peroxydase DAB (diaminobenzidine) est déposé sur les lames et elles sont incubées pendant 15 minutes.

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

7^{ème} étape : contre coloration et montage

-les lames sont imprégnées dans des bacs de coloration à l'hématoxyline de Mayer durant 2 minutes, puis rincées à l'eau courante

- Bleuissement des lames dans l'eau ammoniacale, puis rincées à l'eau distillée.

- Trempage dans l'alcool.

- Montage entre lames et lamelles se fait avec le milieu de montage identique à celui de la technique histologique de routine.

- observation au microscope optique, la lecture des lames est effectuée au grossissement (X 100, X 400).

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

III.1.Résultats

Nos résultats ont été réalisés sur 40 patients atteints de rhabdomyosarcome parmi lesquels nous avons recensés trois types de RMS : rhabdomyosarcome embryonnaire, rhabdomyosarcome alvéolaire, rhabdomyosarcome pléomorphe. (Voir annexe 2 (tableau IX)).

III.1.1.Paramètres épidémiologiques

III.1.1.1.Répartition des patients porteurs de RMS en fonction du sexe

Ce diagramme représente la répartition des patients atteints par le rhabdomyosarcome en fonction de sexe.

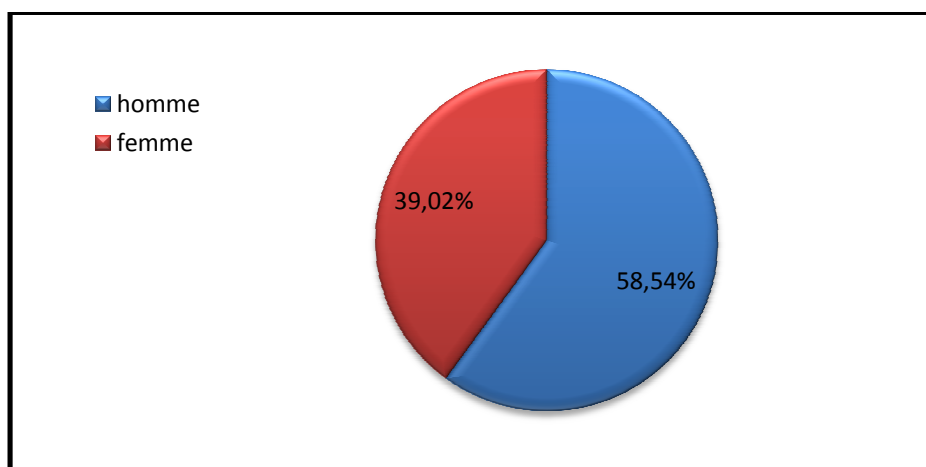


Figure 15 : Répartition des patients porteurs de RMS en fonction du sexe

La répartition des 24 patients de sexe masculin et 16 patients de sexe féminin atteints par rhabdomyosarcome indique que les pourcentages enregistrés par les hommes (58.54%) sont plus élevés que les femmes (39.02%) (Voir figure 15) soit un sex-ratio de 1,50.

III.1.1.2.Répartition des patients porteurs des RMS selon l'âge :

L'âge des patients de notre série varie entre 3 mois et 64 ans, avec un âge moyen de 11.41 ans et un âge médian de 3.25 ans.

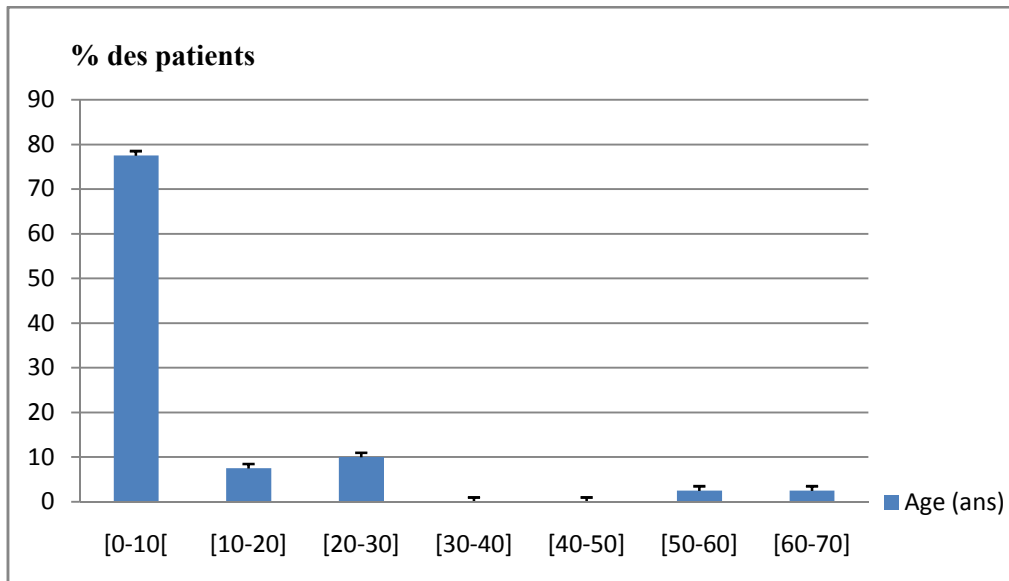


Figure16: Répartition des patients porteurs rhabdomyosarcome en fonction de l'âge.

Selon la répartition des 40cas atteints par Rhabdomyosarcome, il ressort qu'il ya un pic assez important (77.5%) chez les personnes âgées entre [0-10[ans, en suit vient en deuxième position les personnes âgées entre [20-30]ans avec un pourcentage de 10 %.suivis de 7,5% chez les personnes âgées entre [10-15] ans, et en dernier les personnes âgées entre [50-60] et [60-70] ans avec un même pourcentage de 2.5%.(voir figure 16).

III.1.2.Paramètres cliniques

III.1.2.1.Répartition des patients porteurs des RMS en fonction de siège

Cette figure présente la répartition des patients atteints par le RMS en fonction de localisation

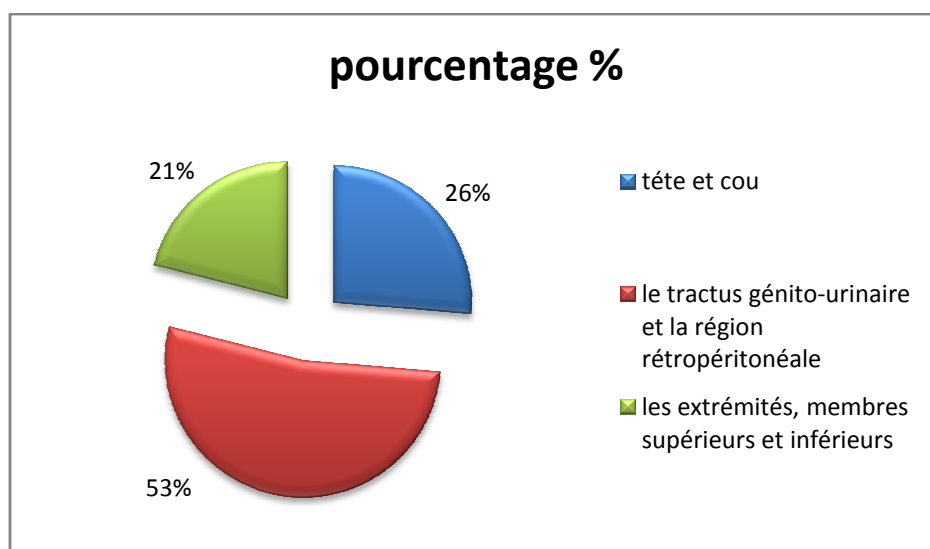


Figure 17: répartition des patients porteurs RMS en fonction du siège.

La répartition des patients selon leur siège indique que le tractus génito-urinaire et la région rétropéritonéale est le plus prédominant avec un pourcentage de 53%, la tête et cou vient en deuxième position avec un pourcentage de 26%, en suit les extrémités, membres supérieurs et inférieurs avec un pourcentage de 21%.(voir figure 17).

III.1.2.2.Répartition des patients atteints RMS selon le type histologique

Sur les 40 cas des RMS nous avons 26 cas d'ERMS et 7 cas d'ARMS et 4 cas de PRMS.

Parmi les 26 cas des ERM il y a :

4 cas des ERMS à cellule fusiforme.

7 cas des ERMS de type botryoïde.

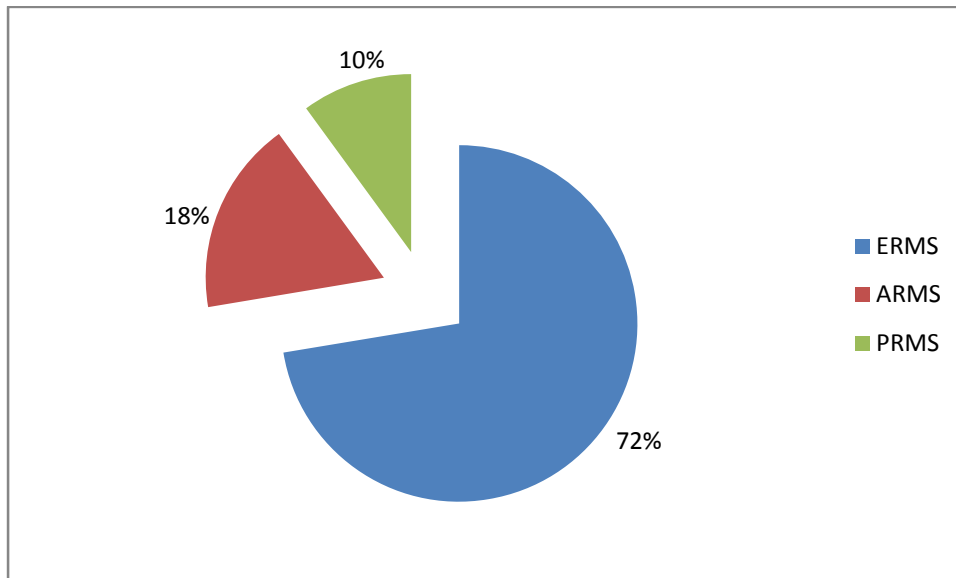
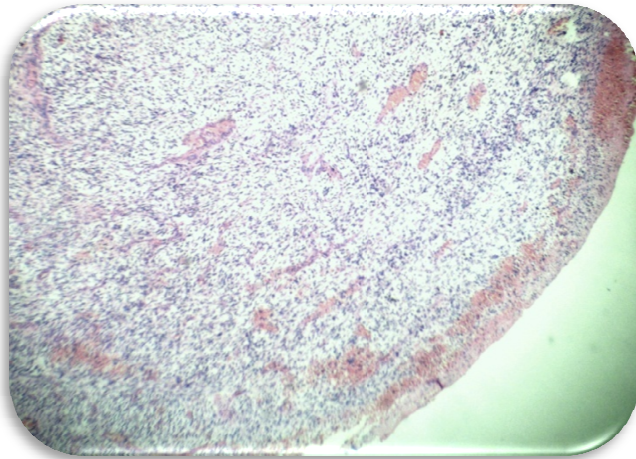
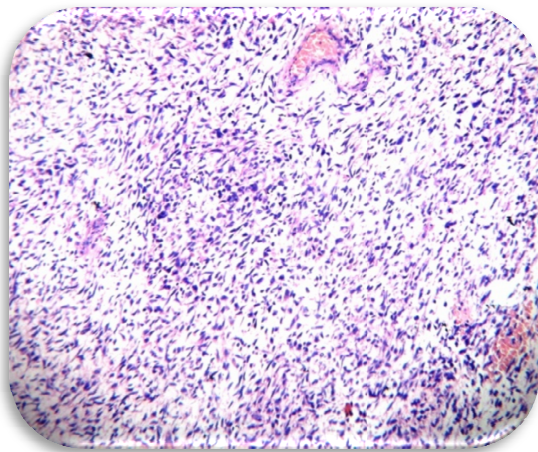
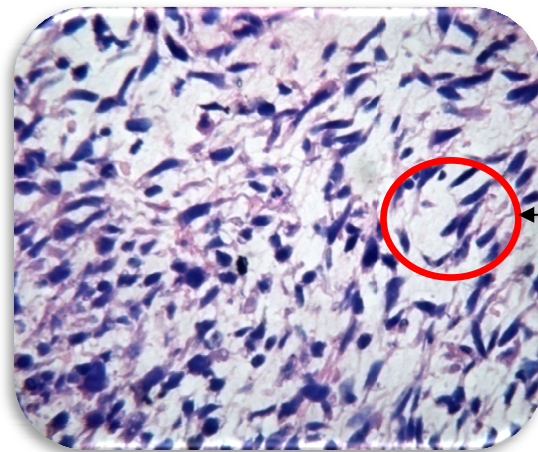


Figure18 : Répartition des patients porteurs des RMS selon le type histologique

La répartition de 40 cas atteints par rhabdomyosarcome selon le type histologique indique que le rhabdomyosarcome embryonnaire est le plus fréquent avec un pourcentage de 72%, suivi par le rhabdomyosarcome alvéolaire avec un pourcentage de 18%, et en dernier on a le rhabdomyosarcome pléomorphe. (Voir figure 18).

III.1.3.Étude histologique de RMS.**III.1.3.1.Étude histologique des ERMS.****III.1.3.1.1. Étude histologiques d'un ERMS à cellule fusiforme****A:**(HE); GX40**B:** (HE); GX100**C:** (HE); GX400**Figure 19: A et B et C ; coupes histologique des ERMS à cellules fusiformes**

Le RMSE à cellules fusiformes est constitué de cellules allongées à cytoplasme fortement éosinophile parfois muni d'une double striation, et à noyau hyperchromatique excentré ou centrale rappelant la cellule musculaire lisse. Il faut qu'il y ait plus de 50 à 80 % de cellules fusiformes pour poser le diagnostic de RMSE à cellules fusiformes

III.1.3.1.2. Étude histologique d'un ERMS de type botryoïde

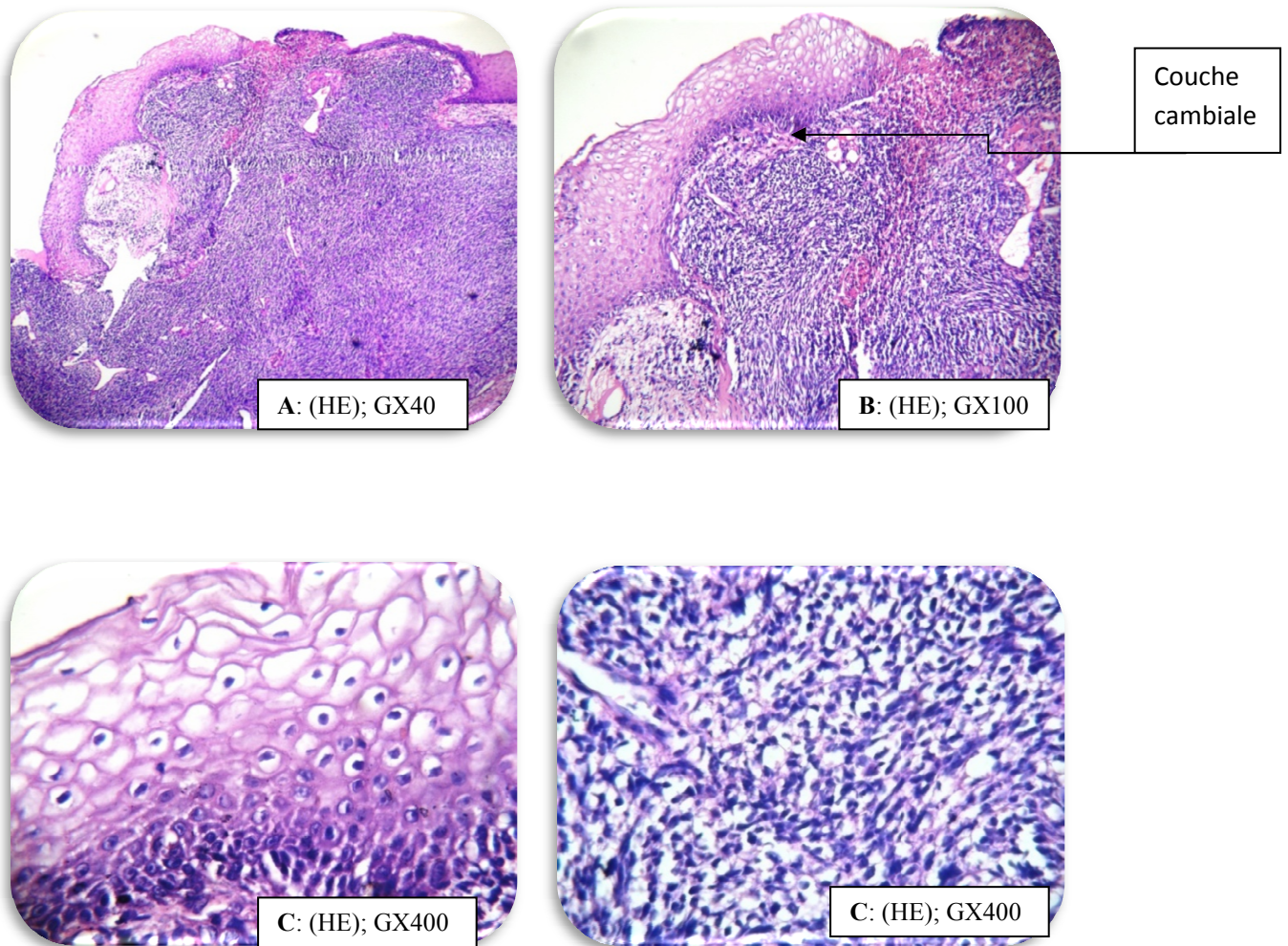


Figure 20 : A et B et C et D ; coupes histologique d'ERMS botryoïde

Cette tumeur se caractérise par une architecture lâche où les cellules tumorales sont dispersées dans un stroma œdémateux / myxoïde, elles sont regroupées sous l'épithélium de l'organe intéressé pour former la couche « cambiale ».

On trouve que l'ERMS touche beaucoup plus l'enfant âgé de 3mois à 10ans avec un pourcentage de 79.37%. (Voir figure 21)

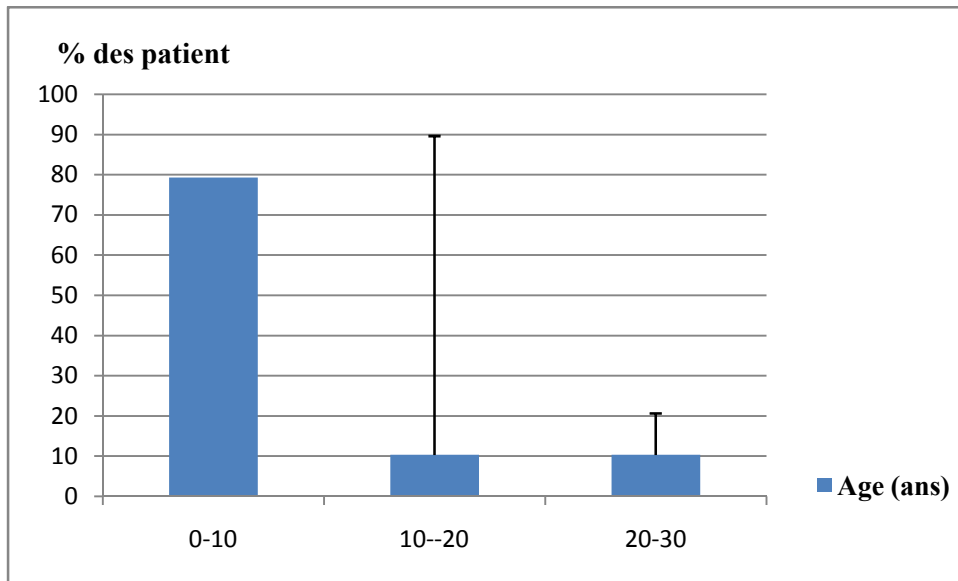


Figure 21 : répartition des ERMS selon les tranches d'âge.

III.1.3.2. Étude histologique d'ARMS

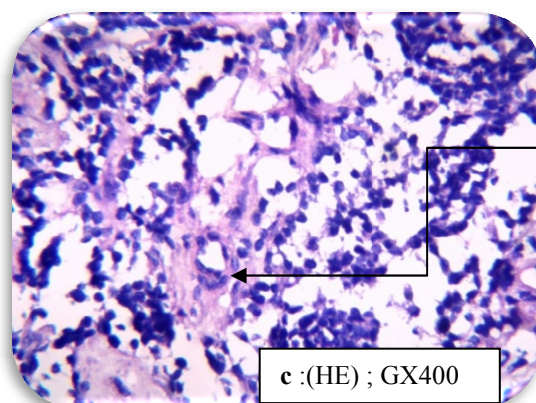
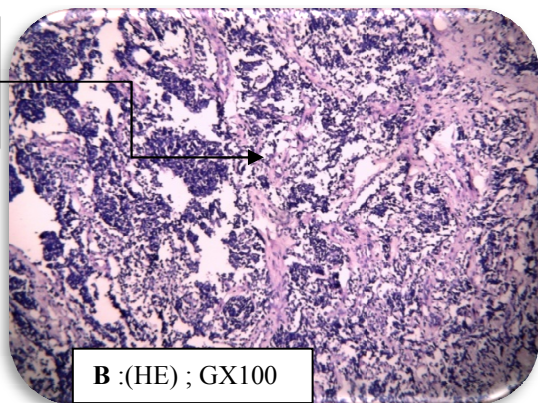
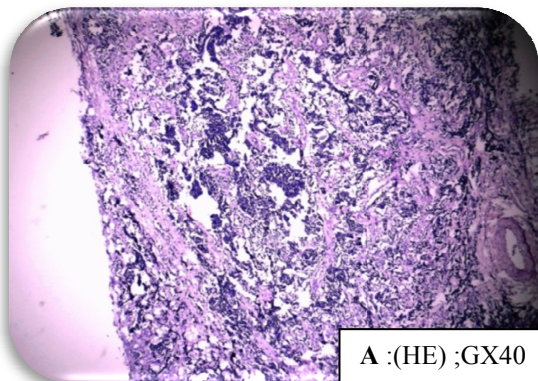
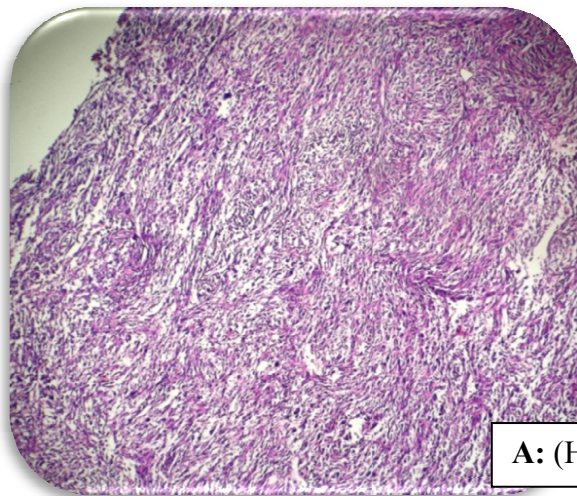


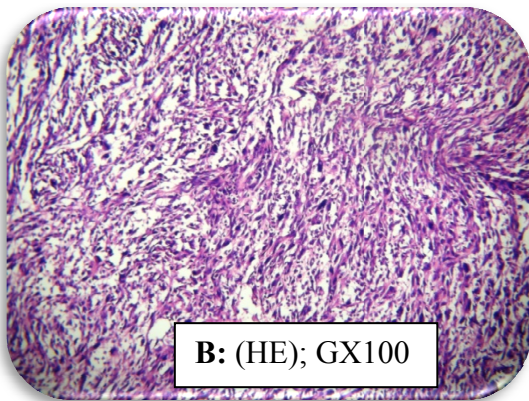
Figure 22: A et B et C ; coupes histologiques des ARMS

Prolifération d'architecture alvéolaire faite de petites cellules à cytoplasme réduit aux noyaux hyperchromatiques, ces cellules sont séparées par des cloisons fibreuses

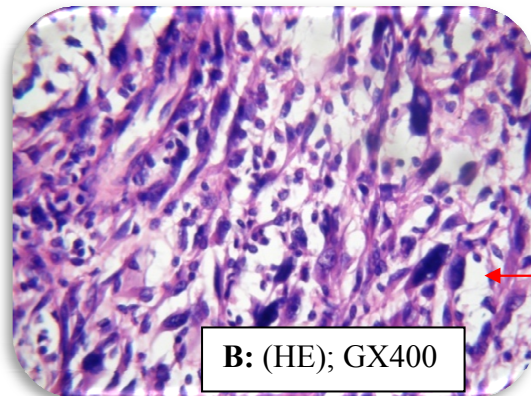
III.1.3.3. Étude histologique d'un PRMS



A: (HE); GX40



B: (HE); GX100



B: (HE); GX400

Cellules
pléomorphe**Figure 24:** A et B et C ; coupe histologique des PRMS

- L'architecture des PRMS est lâche et les cellules sont disposées au hasard. Les cellules sont pléomorphes : de taille variable, elles sont rondes ou allongées, rubanées, en raquette, en têtard. Le noyau est également pléomorphe, unique, ou multiple, atypique, nucléole.

III.1.4.Étude immuno-histochimique

Notre étude a été réalisée sur 5 cas d'ERMS et 5 cas d'ARMS, parmi l'échantillon total qui consiste à rechercher l'expression de la protéine β -caténine. Une autre étude immunohistochimique sur l'expression des marqueurs de différenciation qui sont la myogénine et la desmine.

Les résultats de la technique immunohistochimique pour les anticorps anti myogénine et anti desmine sont illustrés dans le tableau IX (voir annexe 2).

III.1.4.Répartition des 10 cas de RMS/immunomarquage

Tableau XV: répartition des patients porteur de RMS / immunomarquage β -caténine.

β -caténine	Positive	Négatives
Effective	4	6
%	40	60

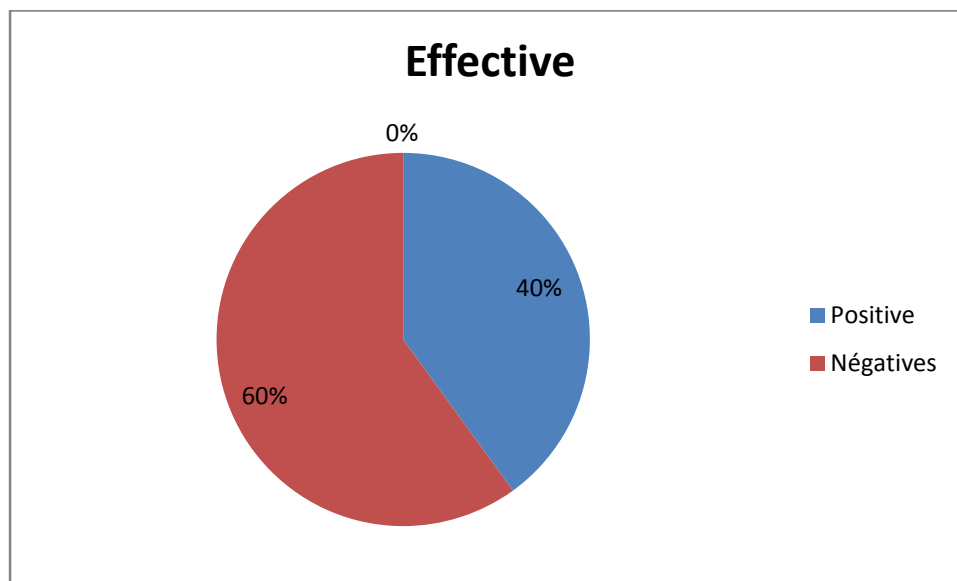


Figure 25: répartition des 10 cas atteint par RMS /immunomarquage β -cat.

L'immunomarquage a révélé une expression de la protéine β -caténine dans 4 cas (40%), et dans 6 cas/10 nous n'avons pas trouvé une expression de β -caténine (60%). (Voir figure 25).

Tableau XVI: Répartition de la positivité de marquage anti b-caténine selon le site d'expression.

Expression de b-caténine	Cytoplasmique	Membranaire	Nucléaire
Nombre	2	1	1
%	50	25	25

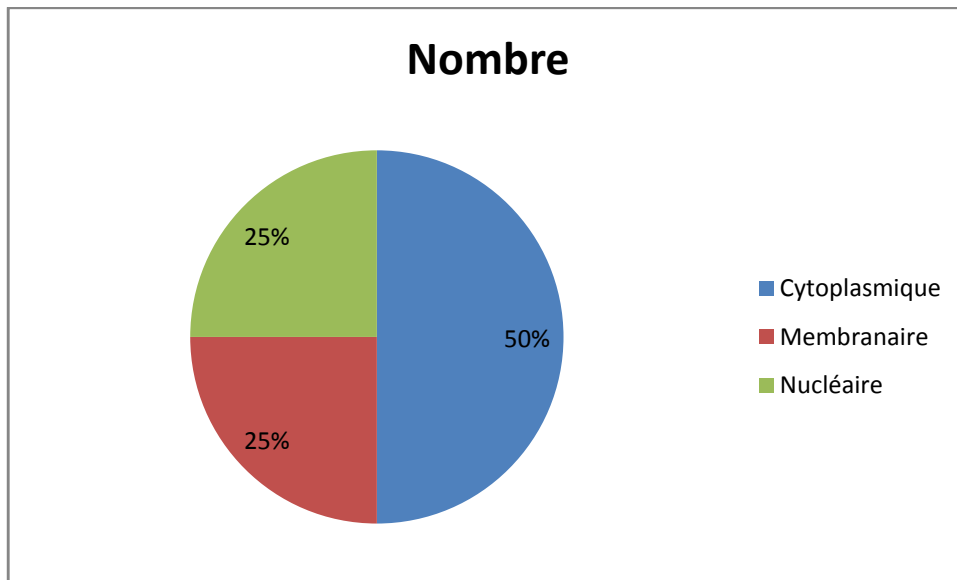


Figure 26 : Répartition de la positivité de marquage anti β-caténine selon le site d'expression.

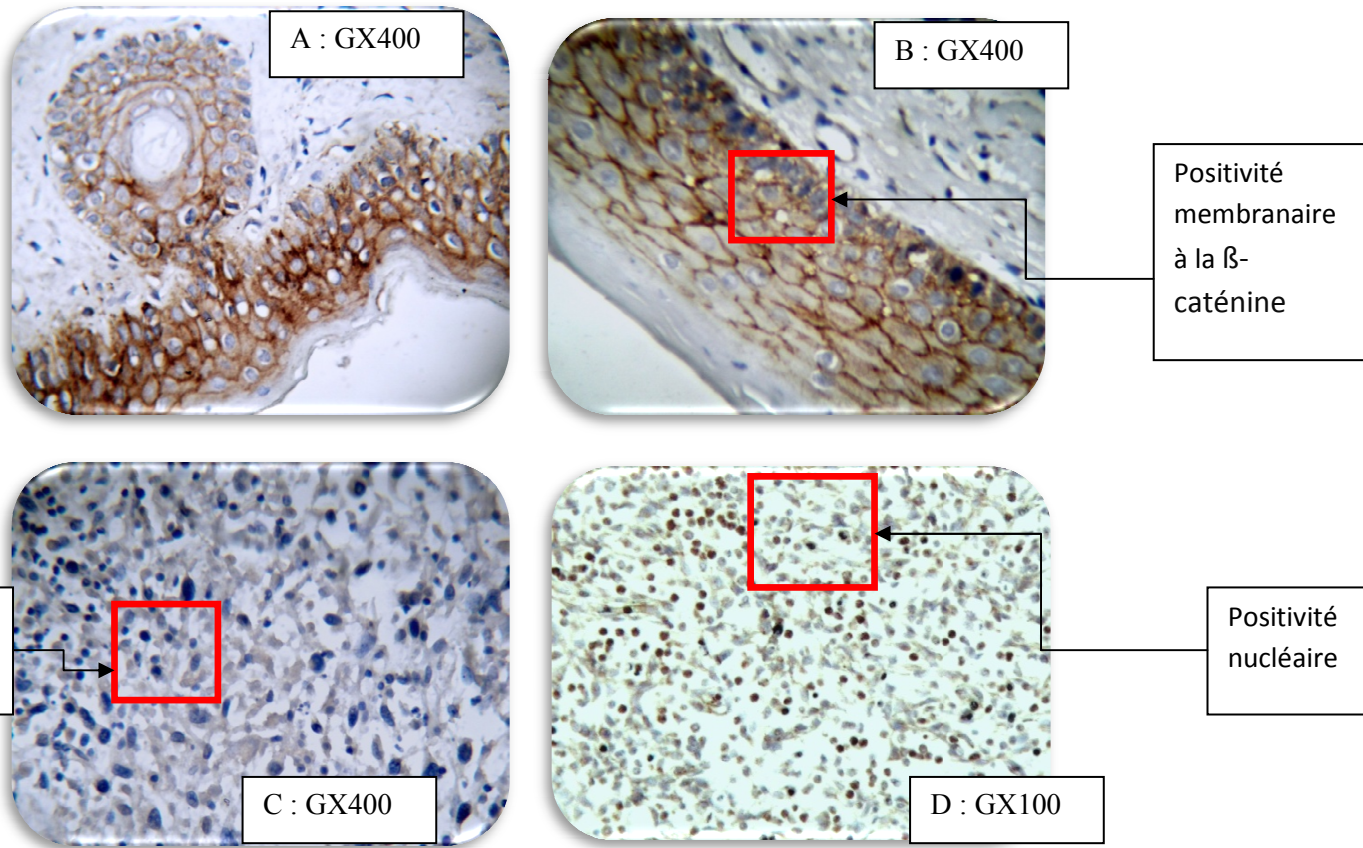
L'expression de β-catenine au niveau membranaire se répartie on seulement 1 seul cas de RMS qui le PRMS

L'expression cytoplasmique a été observée dans 2 cas, 1 casERMS et l'autre c'est ARMS

L'expression nucléaire a été observée dans 1 cas dans ERMS.

Tableau XVII : Répartition du type histologique selon cite d'expression de marquage anti β-caténine

Type	Cytoplasmique	Membranaire	Nucléaire	Total
ERMS	1	0	1	2
ARMS	1	0	0	1
PRMS	0	1	0	1
Total	2	1	1	4



Aet B : positivité membranaire au niveau de l'épithélium de surface

C : Coupe histologique d'immunomarquage à la β -caténine du ARMS de la racine de nez présente une faible positivité cytoplasmique (**G 400**)

D : Coupe histologique d'immunomarquage à la β -caténine du ERMS une positivité nucléaire (**G 400**)

Figure 27 : Coupes histologique de RMS après immunomarquage membranaire, cytoplasmique et nucléaire à la β -caténine observées au microscope optique à différents grossissements

Marqueur de différenciation myogénine desmine

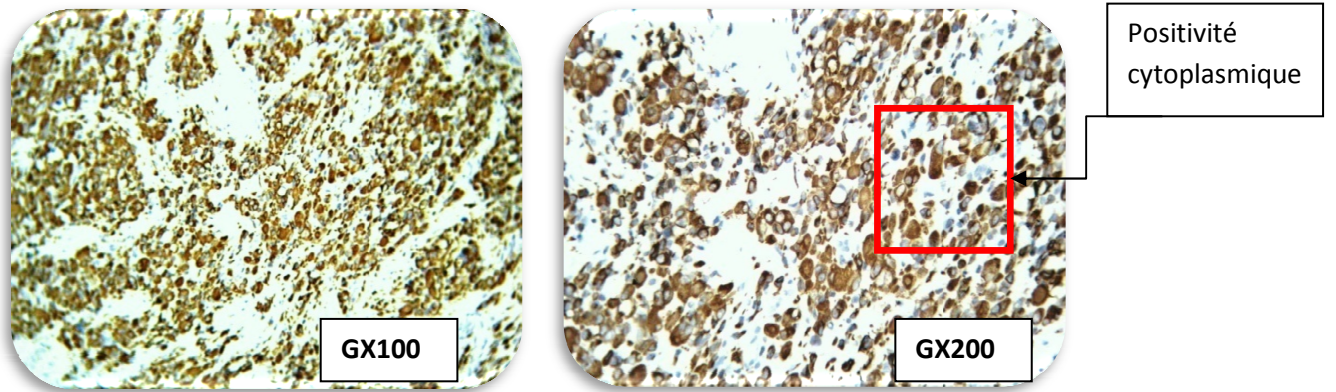


Figure 28 : positivité de desmine

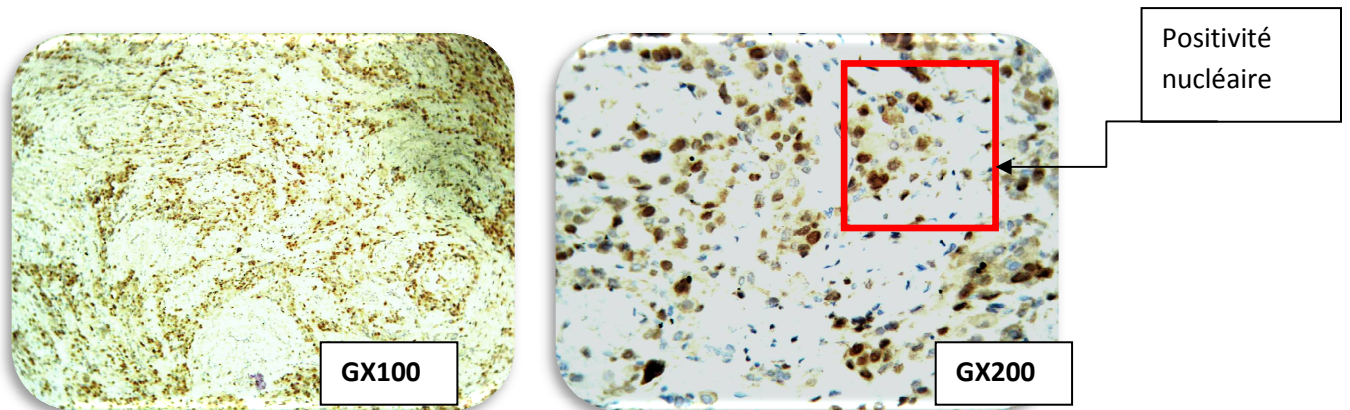


Figure 29 : Positivité à la myogénine

Le diagnostic de rhabdomyosarcome ne peut être retenu que si la nature musculaire de la tumeur est certaine : les doubles striations étant exceptionnelles, c'est habituellement l'immunohistochimie qui permettra d'affirmer le diagnostic par la positivité fréquente avec l'anti-desmine, et les anticorps dirigés contre la myogénine qui donne une positivité nucléaire. La microscopie électronique est une aide précieuse et parfois décisive au diagnostic.

Tableau XVIII : expression de la myogénine dans l'ERMS

expression	myogénine
focale	22
diffuse	7

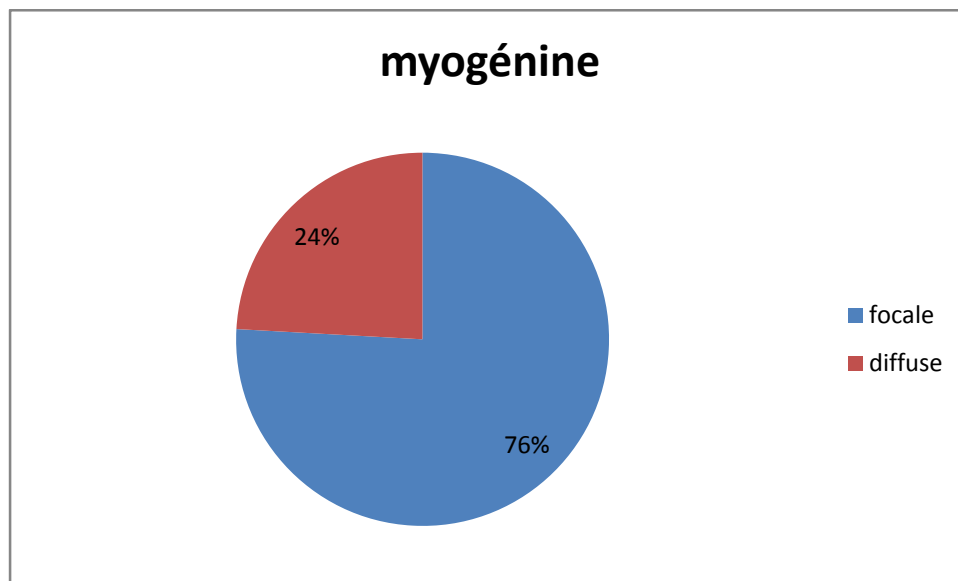


Figure30 :expression de la myogénine dans ERMS

Tableau XIX : Expression de la myogénine dans ARMS.

expression	myogénine
focale	2
diffuse	5

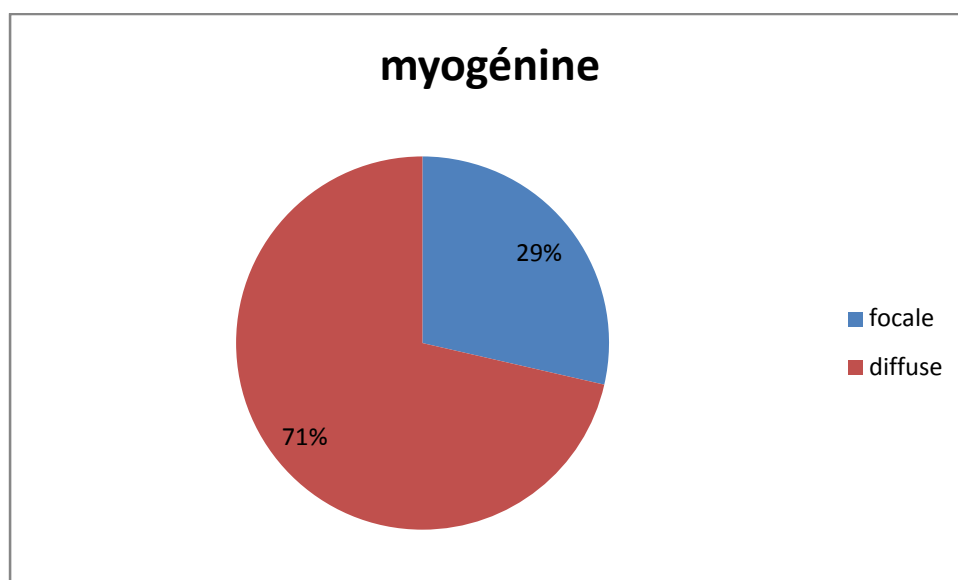


Figure 31 : expression de myogénine dans l'ARMS.

D'après les résultats deus figure 31 et 31, dans la première on voit que l'expression focale de la myogénine est très élevée par rapport l'expression diffuse alors que dans l'ARMS en voit la prédominance de l'expression diffuse.

III.2.Discussion :

Le rhabdomyosarcome (RMS) est une tumeur mésenchymateuse à différenciation musculaire striée, hautement maligne, classée en sous-types histologiques pléomorphe, alvéolaire et embryonnaire. Ce dernier est l'apanage de l'enfant et l'adolescent.

Notre étude consiste en une réévaluation de 40 cas de RMS colligés dans le service de Pathologie du CHU Mustapha sur une période de 5 ans allant de 2009 à 2013.

L'analyse des résultats obtenue en fonction de l'âge montre que la tranche d'âge le plus touché par RMS se situe entre 0-10 ans avec un pourcentage de 77.5 % et une prédominance masculine avec 58.54% ; ces résultats sont en corrélation à ceux retrouvés dans la littérature qui ont décrit que seulement 350 nouveaux cas de RMS sont diagnostiqués chaque année aux États-Unis chez les jeunes de moins de 21 ans. Environ 4 enfants pour un million d'enfants de moins de 15 ans en bonne santé développent un RMS chaque année. Ce cancer touche les garçons légèrement plus que les filles et est plus fréquent chez les jeunes enfants de moins de 5 ans. (Ferrari et al., 2003).

Selon la répartition des patients en fonction de siège, il ressort que ces tumeurs peuvent apparaître presque n'importe où, les emplacements les plus fréquentes du développement de ces tumeurs sont au niveau des structures de la tête et du cou représentant 26% de l'ensemble des cas, et en trouve au niveau de l'appareil génito-urinaire masculin ou féminin et la région rétropéritoniale avec 25% de tous les cas, et au niveau des membres (environ 53% des cas) ; nos résultats concordent les données de la littérature de l'EPU (2010).

Sur le plan histologique, Parmi les 40 cas de RMS, nous avons noté une prédominance du sous type embryonnaire (80%) survenant chez les enfants âgés <15 ans avec pourcentage 79.32%, la plupart des cas (36%) survenant chez les enfants âgés de <5 ans, et 13.79% cas de ERMS surviennent chez les adolescents. suivi du alvéolaire qui présente (20%)des RMS, ARMSse produitmoins fréquemment que les ERMS etreprésentent environ20% de tous les rhabdomyosarcomepédiatrique ,et enfin on a le sous type PRMS qui présente10% des RMS; ces résultats se rapprochent de ceux retrouvés dans l'EPU (2010) et l'OMS (2013) décrit que ERMS représente 3/4 des RMS alors que alvéolaire présente un quart des RMS.

L'étude immunohistochimique utilisant les marqueurs de différenciation la myogénine, il s'agit d'un facteur de transcription musculaire striée dont la protéine appartient à la famille des Myo-D. Cette protéine est exprimée au stade précoce de la différenciation musculaire striée avant la desmine et l'actine. Cet anticorps est sensible et spécifique pour le diagnostic des rhabdomyosarcomes avec une positivité dans 90% des cas. Et semble de meilleure qualité que le Myo D1. Et qu'on le retrouve est exprimé au niveau nucléaire. 76% des ERMS ont une expression focale de la myogénine alors que dans ARMS ont une prédominance de l'expression diffuse de la myogénine avec 71% ; ces données concordent avec les résultats publiés dans l'OMS (2013).qui rapportent dans leur étude que l'expression de la myogénine est focalement positive dans les ERMS et dans ARMS l'expression de la myogénine est diffuse. Et pour le deuxième marqueur on la desmine est une protéine de filament

intermédiaire que l'on retrouve dans le muscle strié cardiaque, et dans toutes les cellules musculaires en général. Desmine est positif dans le rhabdomyosarcome, et exprimé au niveau cytoplasmique mais elle n'est pas suffisant pour confirmer la différenciation du muscle squelettique.

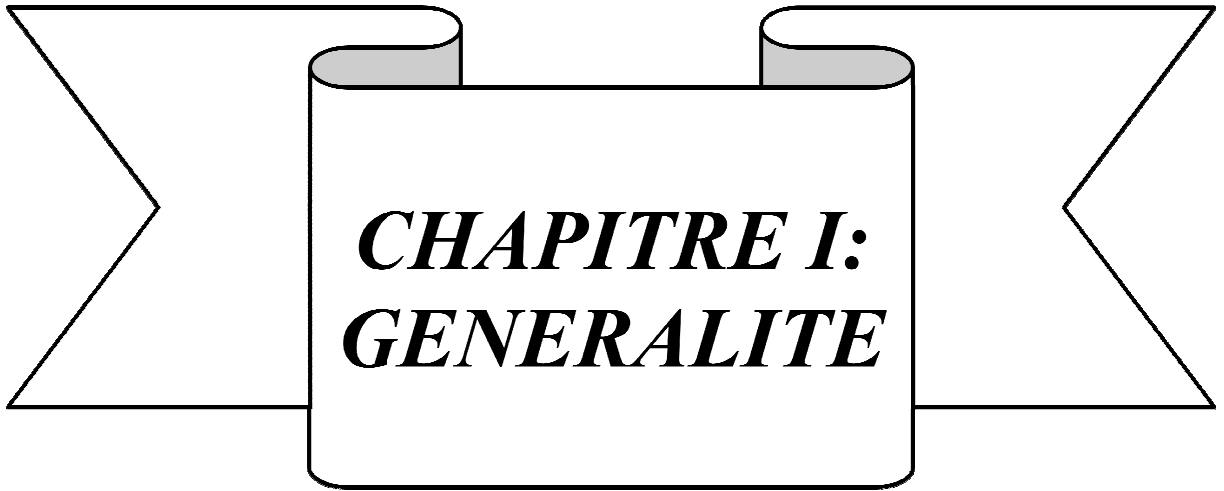
Voie de Signalisation Wnt est une voie évolutionnaire conservée qui est opérationnelle dans le développement du squelette des invertébrés et vertébrés. Le facteur de transcription nucléaire multifonctionnel β -caténine est le principal effecteur de la voie de signalisation Wnt et est impliqué dans la transformation de la cellule. La voie de signalisation Wnt est également impliquée dans la myogenèse embryonnaire et la structuration des somites. La voie de signalisation Wnt est cruciale dans la prolifération et la migration cellulaire. Dysrégulation de la signalisation Wnt/ β -caténine facilite l'invasion des tumeurs et leur développement. Les résultats de la signalisation Wnt inactifs on trouve β -caténine au niveau cytoplasmique associé à un complexe contenant de la caséine multimoléculaire kinase A, la glycogène synthase kinase-3b (GSK-3b), axine et polyose adénomateuse coli (APC). Ce complexe favorise la phosphorylation et la dégradation ultérieure de la protéine β -caténine. Lorsque la voie Wnt est activée le ligand se lie aux récepteurs Frizzled et co-récepteurs sur la surface cellulaire. Signalisation Wnt activée favorise la cascade de signalisation en aval l'activation de protéines dishevelled (Dsh), qui à son tour inactive GSK3b. Cela permet la translocation de β -caténine dans le noyau où il se lie au T-cell factor/lymphoid-enhancing factor (TCF / LEF), conduisant à l'activation de gènes cibles, y compris c-Myc, 19 cycline D1, 20, 21 c-Jun, 22 Slug 23, 24 et Cox2. En effet, ces gènes tels que la cycline D1 et c-Myc, ont un rôle crucial dans la croissance des cellules, prolifération et la différenciation, et sont déréglés dans de nombreux types de cancer.

Dans notre étude La β -caténine a été positive dans 4/10 cas. Parmi les quels 3/4 montraient une expression membranaire/cytoplasmique et 1 nucléaire ; le cas avec expression nucléaire c'est un ERMS et pour les 2 cas cytoplasmique on a 1 cas ARMS et l'autre ERMS et 1 cas membranaire c'est PRMS. ces données sont concordent avec les résultats publiés par Srinivas R Annavarapu et al (2013) Évaluation immunohistochimique de tissus inclus en paraffine de 44 RMS a montré une expression β -caténine dans 34 échantillons RMS exprimé β -caténine dans le cytoplasme/membrane, tandis que seulement 2 cas (deux RMS embryonnaire) ont montré une expression nucléaire.

Conclusion

L'étude rétrospective histologique et immunohistochimique des rhabdomyosarcomes a permis de ressortir les observations suivantes :

- Le rhabdomyosarcome est plus fréquent des sarcomes des tissus mous chez l'enfant et l'adolescent.
- Les trois sous types de rhabdomyosarcome (rhabdomyosarcome embryonnaire 72%, rhabdomyosarcome alvéolaire 18%, rhabdomyosarcome pléomorphe 10%) ont une prédominance pour le sexe masculin.
- La myogénine a enregistré une positivité focale et nucléaire dans une grande proportion des rhabdomyosarcome embryonnaire alors qu'elle a une positivité diffuse dans les rhabdomyosarcome alvéolaire. Et pour la desmine, elle donne une positivité membranaire dans tous les cas des rhabdomyosarcomes. La myogénine et la desmine sont des marqueurs importants pour le diagnostic de ce type de tumeur, il a été démontré que sa sensibilité est supérieure à celle des autres marqueurs.
- L'évaluation de l'expression de la protéine β -caténine chez les patients montre que la β -caténine est positive dans $\frac{3}{4}$ des cas de rhabdomyosarcome embryonnaire et 1 seul cas pour les rhabdomyosarcomes alvéolaires. Et elle est exprimée négativement dans 6/10 cas des rhabdomyosarcomes.
- La biologie moléculaire peut compléter les données de l'immunohistochimie mais elle reste une technique très coûteuse, difficilement utilisable en routine. L'immunohistochimie a l'avantage d'être rapide et facilement utilisable en routine, elle apparaît indispensable à la précision du diagnostic histopathologique de certains tumeurs.
- A leur actuelle on peut considérer que la myogénine et la desmine sont des facteurs histopronostique par la communauté scientifique alors que la β -caténine reste insuffisant pour le diagnostic.
- En perspective, l'évaluation des altérations de la β -caténine dans le rhabdomyosarcome rend la thérapie ciblée peut être la meilleure façon de traiter RMS.



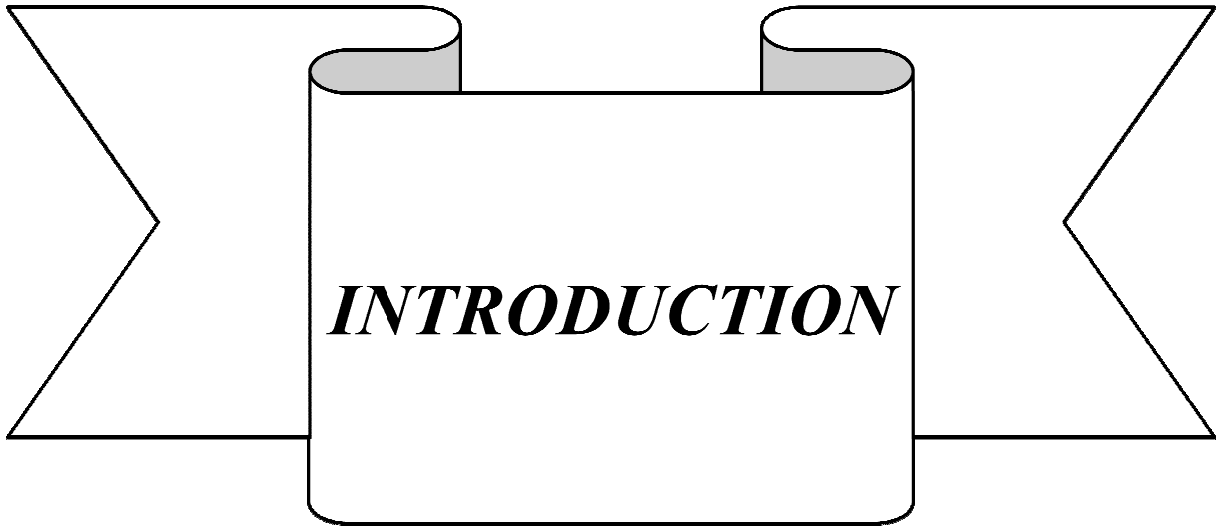
***CHAPITRE I:
GENERALITE***

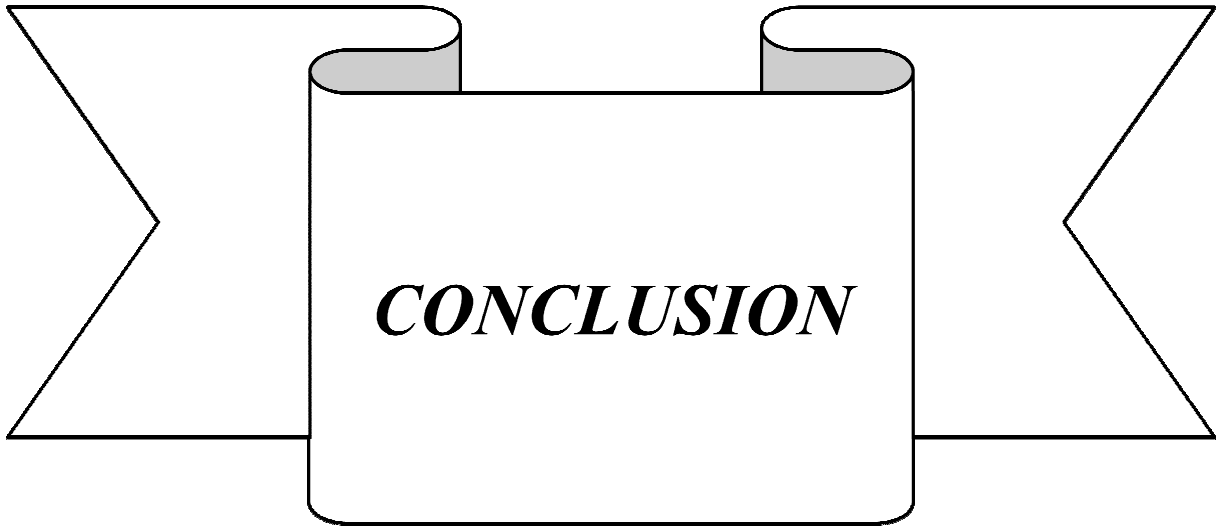


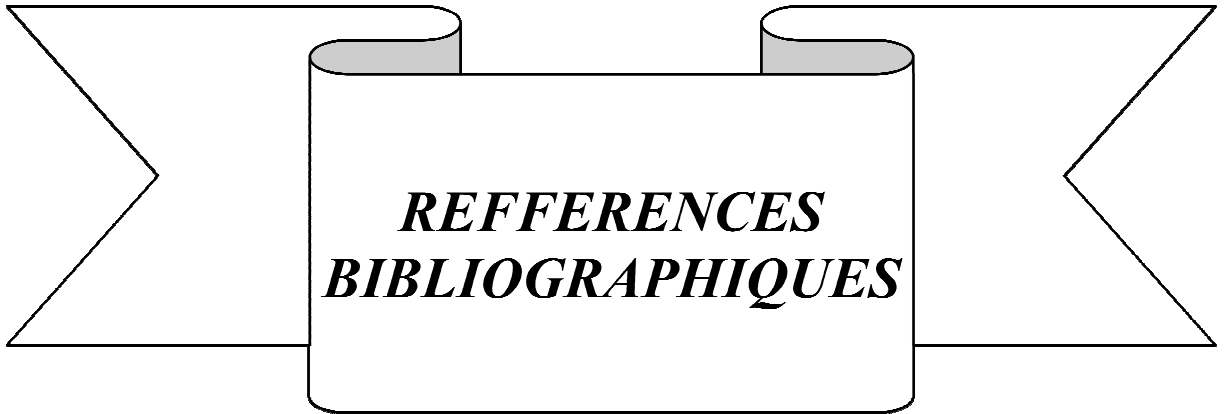
***CHAPITRE II:
MATERIEL ET
METHODE***



***CHAPITRE
III:
RESULTATS
ET
DISCUSSION***







***REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES***

Références bibliographiques

- ❖ Asakura A, Seale P, Girgis-Gabardo A, Rudnicki MA. 2002. Myogenic specification of side population cells in skeletal muscle. *J Cell Biol.* 159:123-34.
- ❖ ASMAR L, GEHAN E, NEWTON W. 1994. Agreement among and within groups of pathologists in the classification of rhabdomyosarcoma and related childhood sarcomas. *Cancer.* P; 74, 2579-88.
- ❖ Astrid Lièvre, Pierre Laurent-Puig. 2010. La voie de signalisation RAS/MAPK
RAS/MAPK signaling pathway. *Cancéro dig.* Vol. 2 N° 1.
- ❖ COFFIN CM, DEHNER LP, O'SHEA PA. 1997. Pediatric soft tissue tumors. A clinical, pathological and therapeutic approach.
- ❖ Charytonowicz E, Cordon-Cardo C, Matushansky I, Ziman M. 2009. Alveolar Rhabdomyosarcoma. is the cell of origin a mesenchymal stem cell? *Cancer Lett.* 279:126-36.
- ❖ Dias P, Parham DM, Shapiro DN, Webber BL, Houghton PJ. 1990. Myogenic regulatory protein (MyoD1) expression in childhood solid tumors: diagnostic utility in rhabdomyosarcoma. *Am J Pathol.* p 137:1283-91.
- ❖ Davis RJ, DiCruz CM, Lovell MA, Biegel JA, Barr FG. 1994. Fusion of PAX7 to FKHR by the variant t(1;13)(p36;q14) translocation in alveolar rhabdomyosarcoma. *Cancer Res.* 54:2869.

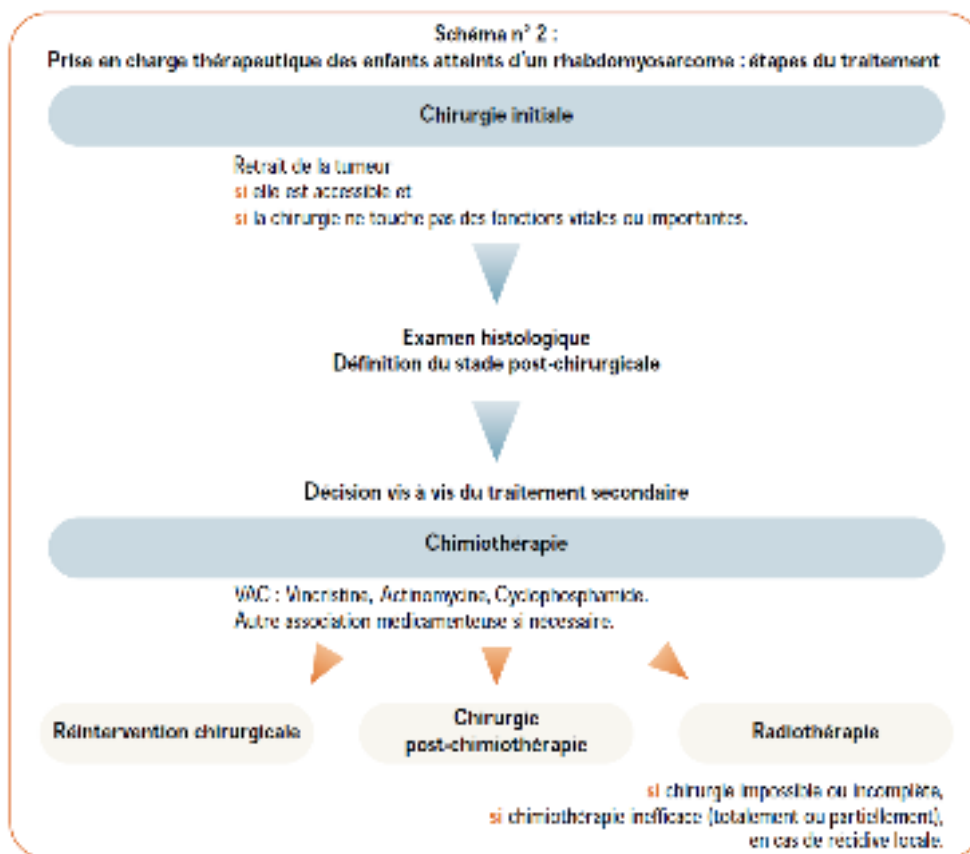
- ❖ EL SAYADI Hiba. 2009. Identification de nouvelles voies de signalisation activées dans les léiomyosarcomes. *DIPLOME DE DOCTORAT L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1.* Pa ; 160.
- ❖ Edoardo Missiaglia, Martins Ana Sofia, Olmos David, and Janet Shipley. 2011. Targeting the Insulin-Like Growth Factor Pathway in Rhabdomyosarcomas. *Rationale and Future Perspectives.* Article ID 209736. 11 pages.
- ❖ Ferrari A, Dileo P, Casanova M. 2003. Rhabdomyosarcoma in adults. A retrospective analysis of 171 patients treated at a single institution. *Pa;* 98:571-580.
- ❖ Fredrik M, PANCRAS CW, Julia A, Christopher DM. 2013. WHO Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone. *OMS International Agency for Research on cancer lyon.* P; 127-135.
- ❖ FURLONG MA, FANBURG-SMITH JC. Pleomorphic rhabdomyosarcoma in children. 2001. Four cases in the pediatric age group. *P;* 5:199-206.

Références bibliographiques

- ❖ GUILLOU L, COQUET M, CHAUBERT P, COINDRE JM. 1998 Skeletal muscle regeneration mimicking rhabdomyosarcoma. a potential diagnostic pitfall. *Histopathology*. Pa; 33:136-144.
- ❖ Genet J Med. 2013. Insights Into the Regulation of Genomic Imprinting at the Human 11P15/Mouse Distal Chromosome 7 Region. © 2013 BMJ Publishing Group. 50(1):11-20.
- ❖ Hettmer S, W.A. 2010. Muscling in: Uncovering the origins of rhabdomyosarcoma. *Nature medicine*. 16, 171-173.
- ❖ Hennekam RC. 2003. Costello syndrome: an overview. *American Journal of Medical Genetics*. P; 117C:42-48.
- ❖ Jane de Lartigue, PhD. 2012. ALK Inhibitors: Moving Rapidly From Discovery to Clinical Approval and Beyond. Published Online.
- ❖ KUMAR S, PERLMAN E, HARRIS CA, RAFFELD M, TSOKOS M. 2003 myogenin is a specific marker for rhabdomyosarcoma . an immunohistochemical study in paraffinembedded tissues. P;13:988:93.
- ❖ Keller C, Hansen MS, Coffin CM, Capecchi MR. 2004. Pax3:Fkhr interferes with embryonic Pax3 and Pax7 function. Implications for alveolar rhabdomyosarcoma cell of origin. 18:2608-13.
- ❖ Leonard H. Wexler, MD. 2004. rhabdomyosarcome. Sección de Sarcomas de Cabeza y Partes Blandas Miembro asociado. Departamento de Pediatría Memorial Sloan-Kettering Cancer Center. ([V7N3 ESUN](#) Copyright © 2010 Liddy Shriver Sarcoma Initiative en Français).
- ❖ PARHAM DM, ROLOSON GJ, FEELY M, GREEN DM, BRIDGE JA, BECKWITH JB. 2001. Primary malignant neuroepithelial tumors of the kidney. a clinicopathologic analysis of 146 adult and pediatric cases from the National Wilms' Tumor Study Group Pathology Center. P; 25 : 133-146.
- ❖ Seale P, Sabourin LA, Girgis-Gabardo A, Mansouri A, Gruss P, Rudnicki MA. 2000. Pax7 is required for the specification of myogenic satellite cells. *Cell*. 102:777-86.
- ❖ Stocia. 2014. ALK Altérations. (emailPCT@mdanderson.org).
- ❖ Tiffin N, Williams RD, Shipley J, Pritchard-Jones K. 2003. PAX7 expression in embryonal rhabdomyosarcoma suggests an origin in muscle satellite cells. *Br J Cancer*. 89:327-32.

Références bibliographiques

- ❖ Tonin PN, Scrabble H, Shimada H, Cavenee WK. 1991. Muscle-specific gene expression in rhabdomyosarcomas and stages of human fetal skeletal muscle development. 51:5100-6.
- ❖ WIJNAENDTS JC, VAN DER LINDEN JC, VAN UNNIK AJ. 1994. Histopathological features and grading in rhabdomyosarcomas of childhood. Histopathol .P; 24:9- 303.
- ❖ WIJNAENDTS JC, VAN DER LINDEN JC, VAN UNNIK AJ. 1996. Rhabdomyosarcoma. Results of a Dutch unicenter study. Current Diagnostic Pathology. P ; 3, 137-42.
- ❖ Zaanani A, Laurent-Puig P, Taieb J.2014. Voie de signalisation MET et son implication thérapeutique dans les cancers digestifs.
- ❖ Zemoura L. 2012. Rhabdomyosarcome de l'enfant aspects histopathologiques et immunologiques et immunohistochimiques. Mémoire en vue d'obtention du diplôme d'étude médicale spécialisée en anatomie pathologique.



Matériel non biologique :

- **Équipement et petit matériel**

Cassette en plastique, moules en métal (porte cassette), gants stérilisés, pinces, automate à circulation (Leica), distributeur de paraffine (Leica), moules d'inclusions, congélateur, microtome (Leica), bain marie, lames rodées, lames silanisées type DAKO, lamelles, porteurs inoxydables, graveur, étuve, portes lames, bacs de coloration et rinçage, paniers de lames thermorésistants, éprouvette graduée, chambre humide, micropipettes réglables et cônes correspondants, verrerie, stylo délimitant (DAKO Pen), minuterie, agitateur magnétique, filtres, microscope photonique (Leica), appareil photo numérique.

- **Réactifs**

-Acide nitrique 5%, xylène (C₈H₁₀), alcool (Ethanol).

-Eau distillée et l'eau de robinet eau oxygénée (H₂O₂).

-Panels d'anticorps primaires.

ANNEX 1

-Anticorps anti-myogénineDako- réf MO706.

-Anticorps anti desmineDako-réf Mob322.

-Anticorps anti β -caténineDako-réf M3539.

-Tampon PBS « Phosphate Buffered Saline» DAKOCytomation-réf: s3024, Ph=7,4.

-Solution de démasquage : TRS «Target Retrieval solution » pH6/9-réf s2369.

-Système de révélation : Substrat chromogène DAB (3,3 Diaminobenzidine) DAKOCytomation-réf : 3468.

-Hématoxyline de Harris, éosine.

-Hématoxyline de Meyer, eau ammoniaquée.

-Anticorps secondaire : polymérase d'enzyme couplé avec la peroxydase Emegro Europe réf : KP500.

-Eukitt type Faramount.



Moules en métal (porte cassette)



Automate à circulation (Leica)



Distributeur de paraffine (Leica)



Moules d'inclusions



Microtome (Leica)



Bain marie

ANNEX 1



Paniers de lames thermorésistantesétuve



Bacs de xylène

Bacs d'alcool



Eukitt

bain marie

ANNEX 1



Dako Pen



Anticorps primaire



Anticorps secondaire Système de révélation : Substrat chromogène DAB



microscope photonique (Leica)

Annexe 2

Tableau I : classification des sarcomes des tissus mous selon OMS 2013

Ligne de différenciation	Tumeurs à malignité intermédiaire (rarement métastasiantes)	Tumeurs malignes
Tumeurs adipeuses	*Tumeur lipomateuse atypique *Liposarcome bien différencié	*Liposarcome dédifférencié *Liposarcome myxoïde *Liposarcome à cellules rondes *Liposarcome pléomorphe *Liposarcome mixte *Liposarcome (sans autre spécification)
Tumeurs fibroblastiques myofibroblastiques	*Tumeur fibreuse solitaire *Hémangiopéricytome *Tumeurs myofibroblastique inflammatoire *Sarcome myéofibroblastique de faible grade *Sarcome fibroblastique myxo-inflammatoire *Fibrosarcome infantile	*Fibrosarcome de type arduin *Myxofibrosarcome *Sarcome fibromyxoïde de faible grade - Tumeur hyalinisante à cellules fusiformes *Fibrosarcome épithélioïde sclérosant
Tumeurs dites fibrohistiocytaires	*Tumeur fibrohistiocytaire plexiforme *Tumeur à cellules géantes des tissus mous	*Sarcome indifférencié pléomorphe (MFH pléomorphe «)» *Sarcome indifférencié pléomorphe à cellules géantes («MFH à cellules géantes «)» *Sarcome indifférencié pléomorphe inflammatoire («MFH inflammatoire «)» *Léiomyosarcome
Tumeurs du muscle lisse Tumeurs péricytaires (périvasculaires)		*Tumeur glomique maligne
Tumeurs du muscle strié		Rhabdomyosarcome sclérosants Rhabdomyosarcome embryonnaire Rhabdomyosarcome alvéolaire Rhabdomyosarcome pléomorphe
Tumeurs vasculaires	*Hémangiopendothéliome rétriforme *Angioendsthéliome papillaire *Hémangiopendothéliome composite *Sarcome de Kaposi	*Hémangiopendothéliome épithélioïde *Angiosarcome
Tumeurs chondro-osseuses		* Chondrosarcome mésenchymateux * Ostéosarcome extrasquelettique
Tumeurs à différenciation incertaine	*Histiocytifibrome angiomatoïde *Tumeur fibromyxoïde ossifiante *Tumeur mixte - myoépithéliome- parachondrome	*Sarcome synovial *Sarcome épithélioïde *Sarcome alvéolaire des parties molles *Sarcome à cellules claires des tissus mous *PNFT (tumeur périphérique neuroectodermique) *Tumeur d'Ewing extrasquelettique *Tumeur desmoplastique à cellules rondes *Tumeur rhabdoïde extra-rénale *Mésenchymome malin *Tumeurs à différenciation périvasculaire épithélioïde (PECome) *Sarcome muqueux

Annexe 2

Tableau II : classification des rhabdomyosarcome selon leur type histologique (OMS 2013).

Tumeurs du muscle squelettique

Bénigne
Rhabdomyosarcom 1-Type adulte 2-Type fœtale 3-Type génitales
Malin
1-Rhabdomyosarcome embryonnaire 2-Rhabdomyosarcome alvéolaire 3-rhabdomyosarcome pléomorphe 4-rhabdomyosarcome sclérosante

Tableau III: signe clinique de Rhabdomyosarcome (Ferrari *et al.*, 2003)

localisation	Signe
RMS orbitaire	peuvent présenter un oeil gonflé ou enflé (proptose / Exophtalmie). Bien que cela puisse parfois être confondu avec une infection des sinus (douleur, fièvre, décoloration violette de l'oeil).
RMS de l'appareil génito-urinaire	peuvent présenter une masse scrotale indolore (tumeurs paratesticulaires), une masse en forme de grappe au niveau du vagin (RMS "botryoïde"), du sang dans les urines (tumeurs de la vessie), ou une urination fréquente, avec parfois brûlure ou hésitation.
RMS de jambes ou les bras	Ces tumeurs peuvent passer de la taille d'une piqûre de moustique ou d'une petite bille à la taille d'une balle de baseball ou d'un pamplemousse en seulement quelques semaines. Ces tumeurs sont généralement dures au toucher mais sont rarement douloureuses à moins qu'elles ne compressent un nerf adjacent.

Annexe 2

Tableau IV : Anticorps les plus utiles au diagnostic des tumeurs des tissus mous (J Coindre 2010 Institut Bergonier)

Anticorps	Clone	Provenance	Commentaires
Cytokératine(M)	AE1/AE3	Dako	- Différenciation épithéliale (synovialo-sarcome, sarcome épithélioïde)
EMA (M)	E29	Dako	
ProtéineS100(P)		Dako	Marqueur des cellules de Schwann, des chondrocytes, adipocytes, mélanocytes
HMB45 (M)	HMB45	Dako	Différenciation mélanocytaire
CD45 (M)	2B11PD7/26	Dako	Différenciation lymphoïde
Desmine(M)	D33	Dako	Différenciation musculaire
Actine muscul.lisse α(M)	1A4	Sigma	Différenciation musculaire lisse
Myogénine (M)	F5D	Dako	Différenciation musculaire striée
H-caldesmone (M)	h-CD	Dako	
Facteur VIII (P)		Dako	- Différenciation endothéliale
CD34 (M)	QBEND10	Immunotech	
CD 31 (M)	1C/70A	Dako	
MIC2 (CD99) (M)	1ZE7	Dako	Marqueur du sarcome d'Ewing
CD163 (M)	10D6	Novocastra	Marqueur des histiocytes
KIT (P)	A4502	Dako	GIST, séminomes, mastocytes
Chromogranine A(M)	DAK.A3	Dako	Marqueur neuro-endocrine
HHV8 (M)	LNA-1	Advanced Biotechnologies	Sarcome de Kaposi

Tableau V : classification TNM des RMS (SIOP)

STADE I	<ul style="list-style-type: none"> ☞ Tumeur localisée au tissu ou à l'organe primitif: T1 T1A= T ≤ 5 cm T1B= T > 5 cm ☞ Pas de preuve en faveur d'une diffusion ganglionnaire: N0 ☞ Pas de preuve d'une métastase: M0
STADE II	<ul style="list-style-type: none"> ☞ Tumeur impliquant 1 ou plusieurs organes ou tissus contigus ou épanchement malin adjacent T II A= T ≤ 5 cm TII B= T > 5 cm ☞ Pas de preuve en faveur d'une diffusion ganglionnaire: N0 ☞ Pas de preuve d'une métastase: M0
STADE III	<ul style="list-style-type: none"> ☞ Toute taille tumorale ☞ Preuve d'une diffusion ganglionnaire: N1

Annexe 2

	☞ Pas de preuve d'une métastase: M0
STADE IV	☞ Tous T ☞ Tout N ☞ Métastases à distance

Tableau VI : Classification post-chirurgicale des rhabdomyosarcomes, selon l'extension locale, et l'atteinte ganglionnaire. (Dr Anne d'Andon et al., 2003)

Classification anatomique	Signification
> T : tumeur primitive	
T0	Pas de tumeur
T1	Tumeur limitée à l'organe d'origine
T2	Tumeur intéressant un ou plus d'un organe ou l'ésu adjacent à la tumeur d'origine, ou intéressant plusieurs sites du même organe
Tx	Les données sur la tumeur primitive ne sont pas disponibles
> N : ganglions à proximité de la tumeur	
N0	Absence de ganglions à proximité de la tumeur
N1	Existence de ganglions à proximité de la tumeur
Nx	Pas de données sur les ganglions à proximité de la tumeur
> M : métastases à distance	
M0	Absence de métastases
M1	Existence de métastases
Mx	Pas de données sur les métastases

Tableau VII: Groupes histo-pronostiques des rhabdomyosarcomes. . (Dr Anne d'Andon et al., 2003)

Pronostic	Forme histologique du rhabdomyosarcome
Favorable	Botryoïde ¹ A cellules fusiformes, variant des rhabdomyosarcomes dits embryonnaires ²
Intermédiaire	Embryonnaire ²
Mauvais	Alvéolaire ³ Sarcomes indifférenciés ⁴

Annexe 2

Tableau IX: données globales de 40 patients

date	sexe	age(ans,mois)	siege	type	conclusion	desmine	myogénine
2009	F	3mois	œil gauche	biopsie	ARMS	positivité de desmine	positivité diffuse à la myogénine
2009	H	22	para testiculaire	biopsie	ERMS à cellule fusiforme	positivité de desmine	positivité focale myogénine
2009	F	26mois	pelvienne	biopsie	ERMS	positivité de desmine	faible focale de myo
2009	H	3	Une prolifération néoplasique de nature mésenchymateuse mal limité infiltrant le muscle strié et la graisse en périphérique	biopsie	ERMS	positivité de desmine	positivité focale myogénine
2009	H	27	La paroi latéro postéro vésicale jusqu'à la prostate	pièce	ERMS de type botryoïde	positivité de desmine	positivité focale de myogénine
2009	H	2	masse vésicale	biopsie	ERMS de type botryoïde	positivité de desmine	positivité focale de myogénine
2009	H	55	fesse	biopsie	PRMS	positivité de desmine	positivité focale de myogénine
2010	H	6	thoracique	pièce	ERMS	positivité de desmine	positivité focale de myogénine
2010	H	3	interviscorectale	biopsie	ERMS	positivité de desmine	positivité focale de myogénine
2010	F	23mois	maxillaire inférieur (lèvre) + bras droit	pièce	ERMS	positivité de desmine	positivité focale de myogénine
2010	F	5	voie biliaire et du peritone	pièce	ERMS	positivité de desmine	positivité focale de myogénine
2010	F	3	masse pelvienne inter vesicorectale	biopsie	ERMS	positivité de desmine	positivité diffuse de myogénine
2010	H	4	cuisse droit	biopsie	ARMS	positivité de desmine	positivité diffuse à la myogénine
2011	F	16mois	périnéale	biopsie	ERMS	positivité de desmine	positivité diffuse à la myogénine
2011	H	3	muscle face postérieur cuisse	pièce	ERMS	positivité de desmine	positivité focale de myogénine
2011	F	7	cerveaux	pièce	ARMS	positivité de desmine	positivité focale de myogénine
2011	H	3ans 1/2	canal défèrent droit et gauche	pièce	ERMS	positivité de desmine	positivité focale de myogénine
2011	H	4	masse pratesticulaire inter scrotale	pièce	ERMS	positivité de desmine	positivité focale de myogénine
2011	H	23mois	tumeur intravésicale	biopsie	ERMS	positivité de desmine	positivité diffuse à la myogénine

Annexe 2

2011	H	21	l'épaule droit	biopsie	ARMS	positivité de desmine	ppositivité diffuse de myogénine
2011	F	6	masse bourgeonnante au niveau du cavum	pièce	ERMS de type botryoïde	positivité de desmine	positivité focale de myogénine
2011	H	3	plancher vésicale et prostate	pièce	ERMS	positivité de desmine	positivité focale de myogénine
2011	H	7	muqueuse malpighienne	bloc	ERMS	positivité de desmine	positivité focale de myogénine
2011	H	15	pli inguinal gauche	bloc	ERMS à cellule fusiforme	positivité de desmine	positivité diffuse à la myogénine
2012	F	4	para vésicale épigastrique et région inguinal	biopsie	ERMS	positivité de desmine	positivité focale de myogénine
2012	H	22	muqueuse malpighienne	biopsie	ERMS	positivité de desmine	positivité diffuse à la myogénine
2012	H	5mois	latéraux fessière	biopsie	ERMS	positivité de desmine	positivité diffuse à la myogénine
2012	H	13mois	plancher vésicale et vessie	biopsie	ERMS	positivité de desmine	positivité focale de myogénine
2012	F	1	retrosarcococcygienne	bloc	ARMS	positivité de desmine	positivité focale de myogénine
2012	H	2	racine du nez	pièces	ARMS	positivité de desmine	positivité diffuse de myogénine
2013	F	64	épaule droit	biopsie	PRMS	positivité de desmine	la myogénine est non contributive
2013	F	3mois	Fosse nasal gauche	bloc	ERMS	positivité de desmine	positivité diffuse de myogénine
2013	H	6	orchidectomie gauche	bloc	ERMS à cellule fusiforme	positivité de desmine	une positivité focale myogénine
2013	F	3	pavillon de l'oreille droit	pièces	PRMS	positivité de desmine	positivité focale de myogénine
2013	F	14		bloc	ERMS	positivité de desmine	positivité diffuse de myogénine
2013	H	10	globe oculaire droit	bloc	ERMS	positivité de desmine	positivité focale de myogénine
2013	H	14mois	epiploïque	biopsie	PRMS	positivité de desmine	positivité focale de myogénine
2013	F	21mois	épaule	biopsie	ERMS	positivité de desmine	positivité focale de myogénine
2013	H	3	retro vésicale	biopsie	ERMS	positivité de desmine	positivité focale de myogénine
2013	F	6	face postéro- ext de la jambe droite	biopsie	ARMS	positivité de desmine	positivité diffuse de myogénine

Annexe 2

Tableau X : Répartition des RMS selon l'âge

Classe d'âge	effectifs	pourcentage%
[0-10]	31	77,5
[10-20]	3	7,5
[20-30]	4	10
[55-65]	2	5

Tableau XI: Répartition des RMS selon la localisation.

siège	effectifs	pourcentage %
tête et cou	10	26,31
le tractus génito-urinaire et la région rétropéritonéale	20	52,63
les extrémités, membres supérieurs et inférieurs	8	21,05

Tableau XII: Répartition des RMS selon le type histologique

type	pourcentage %	effectifs
ERMS	70,27	26
ARMS	17,07	7
PRMS	9,75	4

Tableau XIII: répartition des ERMS selon âge

âge	0-10	10-20	20-30
effective	23	3	3
%	79,31	10,34	10,34

Tableau XIV: répartition des ARMS selon âge.

âge	0-4	4-8	12-22
effective	4	2	1
%	57,14	28,57	14,28

Glossaire

Tissus mous : Tous les tissus du corps autres que les os, tels que les muscles, la graisse, le tissu fibreux, les vaisseaux sanguins ou tout autre tissu de soutien du corps.

Sarcome : Un sarcome est une tumeur maligne, rare se développant au niveau du tissu conjonctif, tissu de connexion des organes, et qui évolue rapidement dans l'ensemble de l'organisme.

Cellule mésenchymateuse : Les cellules mésenchymateuses sont des cellules souches présentes dans le mésenchyme de l'embryon. Elles sont capables de se différencier en de nombreux types cellulaires. Elles sont présentes en très faibles quantités chez l'adulte.

Mésenchyme : Le mésenchyme correspond à un tissu de soutien embryonnaire à l'origine de certains tissus chez l'adulte, principalement les muscles, les vaisseaux, le squelette ou encore le cartilage.

Muscle squelettique : Les muscles squelettiques sont les principaux muscles constituant l'ensemble des muscles striés. Ces muscles sont sous contrôle volontaire du système nerveux central.

Syndrome : Un syndrome est un ensemble de signes cliniques et de symptômes qu'un patient est susceptible de présenter lors de certaines maladies, ou bien dans des circonstances cliniques d'écart à la norme pas nécessairement pathologiques.

Rhabdomyoblastique : caractéristique de cellules de tumeurs malignes provenant du muscle squelettique. D'ordinaire, une raquette (arrondi dans la zone qui contient le noyau et effilée à l'autre bout) ou fusiforme. Dans la plus différenciée, dans le cytoplasme, peut être perçu stries qui ressemblent à ceux des cellules musculaires matures.

Cellule atypique : C'est une cellule qui a perdu ses caractères normaux habituels en particulier au niveau de son noyau.

On désigne sous ce terme les cellules cancéreuses ou en train de le devenir.

Desmine : est une protéine de filament intermédiaire que l'on retrouve dans le muscle strié cardiaque, et dans toutes les cellules musculaires en général. C'est un homopolymère. En tant que telle, elle participe à la charpente du cytosquelette de la cellule en stabilisant le sarcomère au moment de la contraction musculaire. Les myofibrilles sont alignées grâce à la desmine qui va s'ancrer au sarcolemme au niveau du costamère. Cet alignement garantit une synchronisation des contractions.

Myogénine : il s'agit d'un facteur de transcription musculaire striée dont la protéine appartient à la famille des Myo-D. Cette protéine est exprimée au stade précoce de la différenciation musculaire striée

Myoblaste : Un myoblaste (du grec *myo* muscle et *blastos* germe) est une cellule souche responsable de la formation des muscles squelettiques dans l'embryon (myogenèse). Ces cellules proviennent de la détermination des cellules somatiques, induite par les facteurs de transcription spécifiques du muscle MyoD et myf5. Ces cellules migrent, s'alignent entre elles et, sous l'influence de la myogénine, fusionnent afin de former un syncytium plurinucléé appelé myotube.

Myotube : Un myotube (du grec *myo* muscle) est un syncytium pluri-nucléé formé par la fusion de plusieurs myoblastes lors de la myogenèse. Les myotubes se différencient ensuite en fibres musculaires.

MyoD : En biologie, MyoD est une protéine, un facteur de transcription ayant un rôle-clé dans la détermination et la différenciation des cellules musculaires striées. Il fait partie des MRF¹, les facteurs de transcription myogéniques.

Disomie uniparentale : anomalie caractérisée par le fait que deux chromosomes homologues proviennent d'un même parent alors que, normalement, les parents apportent chacun un des chromosomes homologues.

Hétérozygotie : Un organisme est hétérozygote pour un gène quand il possède deux allèles différents de ce gène sur un même locus pour chacun de ses chromosomes homologues.

Méthylation : La méthylation est une modification chimique consistant en l'ajout d'un groupe méthyle (CH₃) sur un substrat. La méthylation se retrouve couramment en biologie, où elle est effectuée par des enzymes. L'ADN peut être méthylé au niveau des cytosines, mais aussi au niveau des protéines qui l'entourent, les histones.

Cellule satellite musculaire : Les cellules satellites musculaires sont des cellules souches situées entre la lame basale et les cellules musculaires striées dans le tissu musculaire, y compris adulte. Ces cellules sont généralement quiescentes, mais lors d'une lésion musculaire, ces cellules sont capables de proliférer, puis de se différencier en cellules musculaires. Certaines cellules restent indifférenciées et reconstituent ainsi le stock de cellules satellites.

Myogénèse : La myogenèse est un phénomène biologique qui conduit à la formation des tissus musculaires. Elle a d'abord lieu lors du développement de l'embryon, puis lors de certains phénomènes de réparation.

Marqueur de différenciation : Un marqueur de différenciation est une protéine spécifiquement exprimée par une cellule au cours de son processus de différenciation cellulaire. Cette expression est généralement contrôlée par l'activation et la régulation du gène spécifique correspondant.

Oncogène : sont une catégorie de gènes dont l'expression favorise la survenue de cancers. Ce sont des gènes qui commandent la synthèse d'oncoprotéines (protéines stimulant la division) et déclenchent une prolifération désordonnée des cellules. Le terme vient du grec *onkos*, signifiant vrac, masse ou tumeur.

Anatomopathologie : Spécialité médicale étudiant l'aspect des organes et des tissus malades. Les constatations faites par les médecins anatomopathologistes au moyen d'analyses microscopiques permettent de définir et de classer précisément les maladies. Dans le cadre des cancers, cette étude permet de confirmer le diagnostic de cancer et d'apporter des éléments pronostiques essentiels.

Anticorps : Substance de défense produite par certains globules blancs en réaction à une substance étrangère, un antigène. L'anticorps la reconnaît comme n'appartenant pas à l'individu et la détruit.

Antigène : Substance repérée par le système de défense de l'organisme qui produit alors des anticorps pour la neutraliser. Dans le cadre du cancer, certaines molécules de la surface des cellules cancéreuses peuvent être des antigènes et permettre la destruction de ces cellules cancéreuses par le système immunitaire.

Biopsie : Prélèvement d'un fragment d'organe ou de tissu destiné à être examiné au microscope et analysé par un anatomopathologiste. Cette analyse a pour but de préciser le diagnostic d'une maladie. Les techniques utilisées pour le prélèvement dépendent de l'endroit où est placée la tumeur et du type de tissu à analyser.

Cancer : Les tumeurs malignes ou cancers sont des proliférations cellulaires anormales autonomes, agressives, capables de récidiver après traitement et surtout capables de disséminer dans l'organisme, l'apparition de métastases étant l'élément le plus spécifique du cancer.

Caryotype : Représentation, formule et ordonnancement (taille) des chromosomes du noyau d'une cellule.

Chimiothérapie : Traitement du cancer par des médicaments qui détruisent les cellules cancéreuses ou les empêchent de se multiplier. Les médicaments de chimiothérapie peuvent être administrés par injections ou sous forme de comprimés.