



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN
ABDELLAH FACULTE DES SCIENCES
ET TECHNIQUE DEPARTEMENT
DE BIOLOGIE



Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
Sciences Biologiques Appliquées et Santé
(LST - SBAS)

L'intérêt de l'immunohistochimie dans le diagnostic des tumeurs stromales gastro intestinales

Présenté par : Nadia ElBouchikhi

Encadré par : Pr. Sanae GUISSI (FST Fès)

Pr. Laila CHBANI (CHU Fès)

Soutenu le : 09/06/2017

Devant le jury composé de :

- Pr. Sanae GUISSI : Présidente
- Pr. Laila CHBANI : Encadrante
- Pr. Hakima SQUALLI : Examinatrice

Stage effectué au : Laboratoire d'anatomopathologie. Centre hospitalier
Universitaire Hassan II Fès

Année universitaire 2016-2017

Dédicace

A mes très chers parents

Qui m'ont toujours soutenue, accordé leur amour et leur attention. Vraiment aucune dédicace ne saurait exprimer mon attachement, mon amour et mon affection.

A ma sœur et mon frère, pour leur dévouement et leur encouragement.

Aux membres de ma famille pour leur disponibilité

A tous mes professeurs, pour leurs efforts et leurs conseils

A mes amis, pour leur aide et leur fidélité.

Je vous témoigne tout mon amour en vous dédiant ce travail.

Remerciements

Ce mémoire n'aurait pas été possible sans l'intervention constante d'un grand nombre de personnes. Je souhaite ici les remercier pour leurs efforts.

Je tiens d'abord à remercier très chaleureusement **Pr. CHBANI Laila** qui m'a permis de bénéficier de son encadrement et pour les conseils qu'elle m'a prodigués. La patience, la confiance qu'elle m'a témoignées ont été déterminants dans la réalisation de ce travail.

Je tiens à remercier également **Pr. GUISSI Sanae** pour toute l'aide qu'elle m'a apportée au cours de mon travail. Son soutien, Sa rigueur scientifique, sa disponibilité, ses compétences m'ont été d'une aide inestimable.

Enfin, je tiens à remercier tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Présentation de CHU Fès.

La création d'un laboratoire central d'analyses médicales au sein du CHU est une première nationale. Cette conception adoptée récemment dans les laboratoires hospitaliers internationaux permet :

- D'optimiser les moyens techniques et le budget de fonctionnement du laboratoire.
- D'offrir des plateaux techniques spécialisés de grande qualité ouverts à toutes les disciplines biologiques, par une communication informatique inter laboratoires, un échange continu d'informations et une complémentarité dans les bilans réalisés .

Le Laboratoire Central d'Analyses Médicales est situé au bâtiment J. Il représente un pôle d'activité hospitalière comportant plusieurs spécialités d'analyses médicales. Ce bâtiment comprend

- ❖ Une salle de réception
- ❖ Une salle de prélèvements
- ❖ Plusieurs laboratoires, à savoir :
 - Laboratoire de biochimie/Pharmacotoxicologie
 - Laboratoire d'hématologie
 - Laboratoire de bactériologie /Immunologie
 - Laboratoire de parasitologie
 - Laboratoire de génétique
 - Laboratoire d'anatomie pathologique.

Ce travail a été réalisé à l'unité d'anapathie au CHU HASSAN II, dans le cadre de la réalisation du projet de fin d'études pour l'obtention du diplôme de licence sciences et techniques.

Abréviations

GIST : Tumeurs stromales gastro-intestinales

IHC: Immunohistochimie

KIT: protéine kinase

Kit: gène kit

PDGFRA: Récepteur pour les plaquettes dérivé du facteur de croissance

Pdgfr: gene pdgfr

SCF: Stem cell factor

CIC: cellule interstitielle de Cajal

IM : index mitotique

Résumé :

Les tumeurs stromales du tractus gastro-intestinal sont des tumeurs mésoenchymateuses qui se développent dans la majorité des cas aux dépens de l'estomac et du grêle, plus rarement dans le rectum, le colon, l'œsophage ou le mésentère. Dérivant des cellules de Cajal ou d'un de leur précurseur, et de phénotype typiquement CD117/KIT + (98%) CD34+ (70%), elles sont caractérisées par la fréquente expression des protéines KIT (80%), ou PDGFRA (5%) mutées et activées de manière mutuellement exclusive. 20 observations de tumeurs stromales gastro-intestinales diagnostiquées au service d'anatomopathologie de CHU Hassan II de Fès entre 2013 et 2017 ont été rapportées. L'étude a concerné 20 patients (8 hommes et 12 femmes) d'une moyenne d'âge de 59,85 ans. Les localisations tumorales étaient principalement l'estomac (11 cas), l'intestin grêle (5cas), Le colon (1cas), péritoine (1cas), localisation hépatique (1 cas) et mésentère (1cas). La taille tumorale varie entre 4cm et 42cm. Le diagnostic de certitude a été obtenu par une étude immunohistochimique des biopsies et des pièces opératoires. La forme fusiforme est la plus fréquente (75%), le C-kit est positive chez 17 patients soit un pourcentage de 85%.

Liste de figures

Figure 1 : Tube digestif et viscères.

Figure 2 : Aspect macroscopique typique d'une GIST.

Figure 3 : Aspects histologiques des GIST.

Figure 4 : Fonctionnement des KIT dans GIST.

Figure 5 : Mutations du KIT et PDGFRA au cours des GIST.

Figure 6 : Examen macroscopique d'une pièce opératoire.

Figure 7 : Appareil d'inclusion dans la paraffine.

Figure 8 : Histokinette.

Figure 9 : Technique histologique.

Figure 10 : Le principe de l'immunofluorescence.

Figure 11 : Répartition des cas des GIST en fonction de l'âge.

Figure 12 : Répartition des tumeurs stromales gastro-intestinales selon le sexe.

Figure 13 : Localisation malignes des GIST dans le tube digestif.

Figure 14 : Répartition des GIST en fonction de la taille.

Figure 15 : La morphologie cellulaire des GIST.

Figure 16 : Immunomarquage positif des GIST par CD117.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Risque de malignité des tumeurs stromales gastro-intestinales

Tableau 2 : Marqueurs employés dans la démarche diagnostique et clones correspondant

Tableau 3 : Renseignements sur les patients inclus dans l'étude

Tableau 4 : Répartition des GIST selon le nombre de mitoses (IM)

Tableau 5 : profil immunohistochimique des GIST

SOMMAIRE

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	Erreur ! Signet non défini.
Bibliographie	Erreur ! Signet non défini.
I. Généralité :	Erreur ! Signet non défini.
1) Définition :	Erreur ! Signet non défini.
2) Comment les tumeurs stromales se forment-elles ?	Erreur ! Signet non défini.
II. Epidémiologie :	Erreur ! Signet non défini.
III. Facteurs pronostiques :	Erreur ! Signet non défini.
IV. Diagnostic	5
1) Clinique :	5
2) Anatomopathologie :	Erreur ! Signet non défini.
a) Macroscopique :	Erreur ! Signet non défini.
b) Microscopique :	Erreur ! Signet non défini.
V. l'immunohistochimie :	Erreur ! Signet non défini.
1) Définition de la technique :	8
2) Types d'anticorps utilisés :	8
3) L'apport de l'immunohistochimie :	Erreur ! Signet non défini.
a) Le rôle général d'immunohistochimie	Erreur ! Signet non défini.
b) L'immunohistochimie dans les GIST	10
4) Application et limites de l'immunohistochimie	11
VI. Apport de la biologie moléculaire :	Erreur ! Signet non défini.
1) C-Kit ou CD117 :	Erreur ! Signet non défini.
2) PDGFRA :	Erreur ! Signet non défini.
Matériel et méthodes	Erreur ! Signet non défini.
❖ Matériel	Erreur ! Signet non défini.

I.Examen histologique : Erreur ! Signet non défini.

II.Immunohistochimie : 21

❖ Méthodes statistiques Erreur ! Signet non défini.

Résultats : Erreur ! Signet non défini.

I. Etude descriptive : Erreur ! Signet non défini.

1) Répartition des tumeurs gastro-intestinales selon l'âge :. Erreur ! Signet non défini.

2) Répartition selon le sexe : Erreur ! Signet non défini.

3) Type de prélèvement : Erreur ! Signet non défini.

Discussion 31

Conclusion Erreur ! Signet non défini.

Référence bibliographique

Introduction

Les tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST) étaient très souvent méconnues jusqu'en 1998, alors que ce sont les sarcomes les plus fréquents chez l'homme. Elles dérivent des cellules de Cajal (responsable de péristaltisme intestinale), et se développent dans le tractus digestif préférentiellement à partir de l'estomac ou de l'intestin grêle. Les GIST à cellules fusiformes ou à cellules épithélioïdes, ont depuis toujours posé le problème de leur diagnostic différentiel et de leur origine histogénétique.[1]

Ces tumeurs, longtemps considérées comme des tumeurs conjonctives au même titre que les léiomyomes, ont fait l'objet de nombreuses controverses en termes de définition, d'histogénèse et de classification. Elles sont caractérisées par une expression très fréquente de KIT (CD117), et des mutations de KIT ou de PDGFRA (alphatypeplateled-derivedgrowth factor receptor) sont observées dans 85 % des cas. Plus de 150 mutations différentes ont été décrites.[2]

Elles sont responsables d'une activation de ces récepteurs à activité tyrosine kinase en l'absence de leurs ligands spécifiques. La détection de ces mutations est réalisée par une étude immunohistochimique. Cette dernière joue un rôle important dans l'étude des GIST, à savoir aider à confirmer le diagnostic ou évaluer le pronostic.

Le diagnostic de ces tumeurs est basé sur une étude anatomopathologique complétée par une analyse moléculaire des mutations (kit et PDGFRA). En effet, c'est dans ce cadre que s'inscrit mon projet de fin d'étude et qui a pour but de

- Rapporter les aspects anatomopathologiques des tumeurs stromales.
- Evaluer l'expression de kit (CD117) et PDGFRA des GIST.
- Savoir l'apport de l'immunohistochimie dans la révélation de ces tumeurs.

Bibliographie

I. Généralités :

1) Définition :

Les GIST sont définies comme des tumeurs, mésoenchymateuses du tube digestif, éventuellement du mésentère, présentant des caractéristiques histologiques (prolifération de cellules le plus souvent fusiformes, parfois épithélioïdes) et exprimant habituellement, mais non constamment, la protéine KIT, à un niveau suffisant pour permettre sa détection par une technique immunohistochimique [3, 4].

2) Comment les tumeurs stromales se forment-elles ?

Nous ne savons pas exactement ce qui cause la tumeur stromale gastro-intestinale. D'après les connaissances actuelles sur le cancer, les cellules normales se transforment parfois en cellules cancéreuses à la suite de certains changements dans la structure de l'ADN, la molécule qui contient les instructions pour pratiquement tout ce que font les cellules. Ces changements se produisent entre autres lorsque les cellules se développent et se divisent. Les cellules doivent alors fabriquer une copie de l'ADN et, durant la copie, une erreur peut survenir et provoquer la mutation, ou une défectuosité, de l'un des gènes. [5]

Certains de nos gènes, appelés oncogènes, stimulent la croissance et la division des cellules; d'autres, appelés gènes suppresseurs de tumeurs, ralentissent la division des cellules et entraînent leur mort au bon moment. Il est bien établi qu'un cancer peut être la conséquence de mutations de l'ADN qui ont pour effet soit d'activer les oncogènes, soit de désactiver les gènes suppresseurs de tumeurs. Certaines mutations génétiques sont parfois transmises des parents aux enfants, mais c'est rarement le cas pour la tumeur stromale gastro-intestinale.

Chez la plupart des personnes atteintes d'une tumeur stromale gastro-intestinale, les cellules cancéreuses présentent une mutation de l'oncogène appelé c-kit, un gène présent dans toutes les cellules de l'organisme. Ce gène produit une protéine, appelée KIT, qui est activée seulement quand l'organisme a besoin d'un plus grand nombre de cellules interstitielles de Cajal (CIC). Dans la majorité des cas de tumeur stromale, la mutation du gène c-kit fait en sorte que le gène ne se désactive jamais; les cellules peuvent alors croître et se diviser sans interruption, ce qui explique l'apparition du cancer. Dans certains cas, la tumeur stromale gastro-intestinale est causée par une mutation qui entraîne une trop grande production d'une protéine, appelée PDGFRA, par les cellules. Cette protéine agit de la même façon que la protéine KIT.

Les protéines PDGFRA et KIT appartiennent à un groupe d'enzymes appelées tyrosine kinases, les quelles constituent un élément important du diagnostic et du traitement de la tumeur stromale gastro-intestinale.

II. Epidémiologie :

Les tumeurs mésoenchymateuses ne représentent que 1% de tous les cancers gastro-intestinaux primitifs [37,38]. Elles peuvent néanmoins se rencontrer chez les jeunes mais exceptionnellement chez les enfants avec un âge moyen et variable selon les séries, mais reste situé entre 50 et 60 ans., Il n'y a généralement pas de prédilection pour les deux sexes, mais certaines séries suggèrent une légère prédominance masculine. L'incidence est actuellement évaluée par des études rétrospectives entre 10 et 20 nouveaux cas/an/million d'habitant [35, 36], et ne semble pas varier en fonction des origines.

Toutefois, les données épidémiologiques sont encore très limitées pour ces tumeurs dont le diagnostic était encore rarement fait il y a 10 ans. Les GIST se forment dans n'importe quelle partie du tube digestif et se développent à partir de l'estomac dans 60 à 70 % des cas et de l'intestin grêle dans 20 à 30 % des cas. Tous les autres segments digestifs, œsophage (5 %),côlon, appendice, rectum, ainsi que le mésentère et la cavité péritonéale peuvent être atteints.

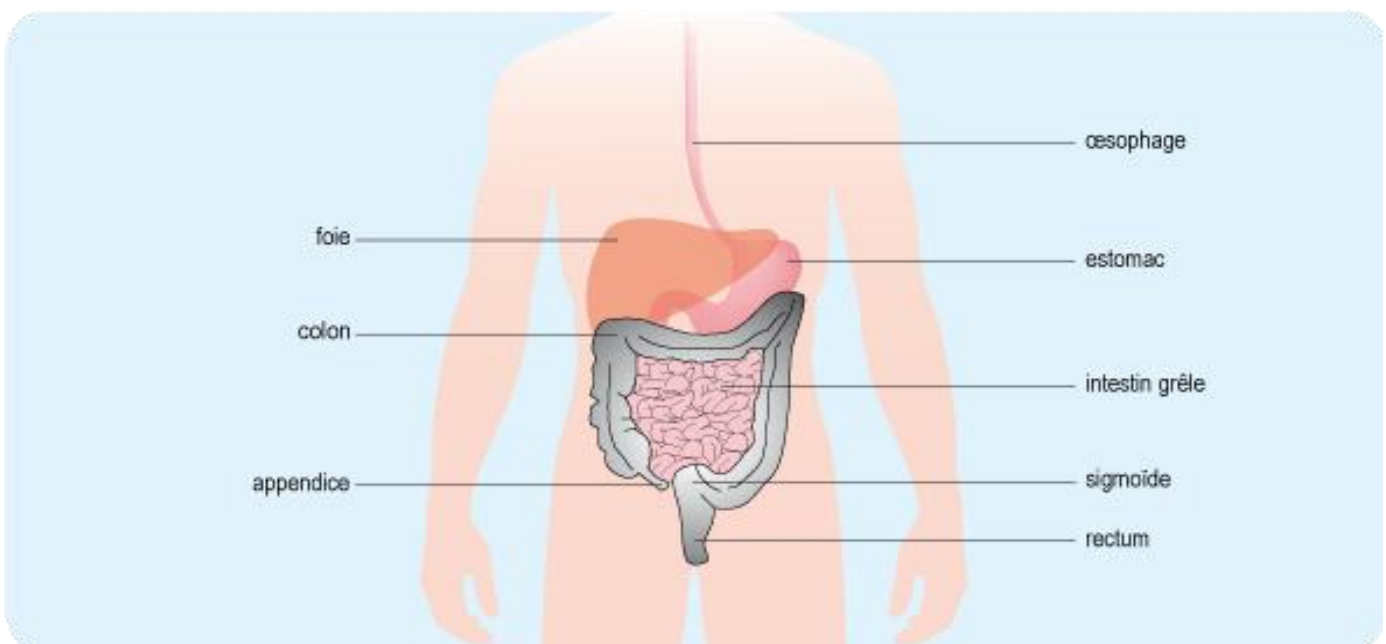


Figure 1 : Tube digestif et viscères [5].

III. Facteurs pronostiques :

Deux facteurs servent couramment à déterminer si une tumeur stromale gastro-intestinale risque d'être maligne (cancéreuse) ou si elle est bénigne : la taille de la tumeur et l'indice mitotique (nombre de cellules en train de se diviser). Plus la tumeur est grosse et l'indice mitotique élevé, plus le risque de malignité est grand. De façon générale, les petites tumeurs (diamètre inférieur à 5 cm) sont moins susceptibles de se propager, donc les résultats du traitement risquent d'être meilleurs. Les tumeurs dont le pronostic est le plus favorable sont celles de moins de 2,5 cm de diamètre.[6]

Tableau 1 : Risque de malignité des tumeurs stromales gastro-intestinales [5].

Degré de risque	Taille de la tumeur	Indice mitotique
Très faible	Moins de 2 cm	Moins de 5 cellules/50
Faible	De 2 à 5 cm	Moins de 5 cellules/50
Moyen	Moins de 5 cm et de 5-10 cm	De 6 à 10 cellules/50
Elevé	Plus de 5 et plus de 10 cm	Plus de 10 cellules/50

Il y a généralement deux types de classifications :

- Classification de Miettinen qui prend en compte la localisation tumorale en plus de la taille et de l'index mitotique.
- Classification de Fletcher basée sur l'évaluation du risque de malignité en fonction de la taille tumorale et de l'index mitotique.

La classification de Fletcher est maintenant remplacée par la classification de Miettinen qui prend en compte la localisation tumorale en plus de la taille et de l'index mitotique.

IV. Diagnostic

1) Clinique :

Les formes symptomatiques se manifestent généralement par un saignement, par des douleurs abdominales fréquentes mais atypiques et peu spécifiques, par des troubles du transit ou alors par la palpation d'une masse abdominale. Dans certains cas, la tumeur stromale gastro-intestinale se forme dans la gorge et cause des difficultés à avaler.

Il arrive aussi qu'elle naisse dans l'intestin et entraîne un blocage, occasionnant ainsi des douleurs aiguës et des vomissements. Il s'agit alors d'une obstruction intestinale, laquelle nécessite habituellement une intervention chirurgicale d'urgence où l'on procède à l'ablation de la tumeur. La présence d'une tumeur stromale gastro-intestinale est souvent difficile à déceler, car la tumeur peut se dissimuler dans la paroi de l'estomac et ne provoquer aucun signe ni symptôme au début. Comme il n'existe actuellement aucun test de dépistage efficace.

La tumeur peut devenir assez grosse ou se propager à un autre organe avant d'être détectée. Il arrive parfois qu'une tumeur stromale soit découverte fortuitement au cours d'un examen périodique; par exemple, d'une radiographie ou d'un examen par tomodensitométrie (scanner). [6]

2) Anatomopathologie :

Lorsqu'une anomalie est décelée, un prélèvement au niveau de cette anomalie doit être réalisé afin de l'analyser au microscope et d'établir un diagnostic.

a) Macroscopique :

Il s'agit de tumeurs bien limitées, non encapsulées, de consistance très ferme et de couleur blanchâtre, qui se développent surtout sur le versant séreux du tube digestif. Les lésions de petite taille sont habituellement homogènes. Les lésions les plus volumineuses présentent souvent des remaniements nécrotiques ou hémorragiques, voire pseudo-kystiques (Figure 2). Il est important de bien échantillonner la tumeur pour le diagnostic avec d'autres sarcomes [7 ; 8]

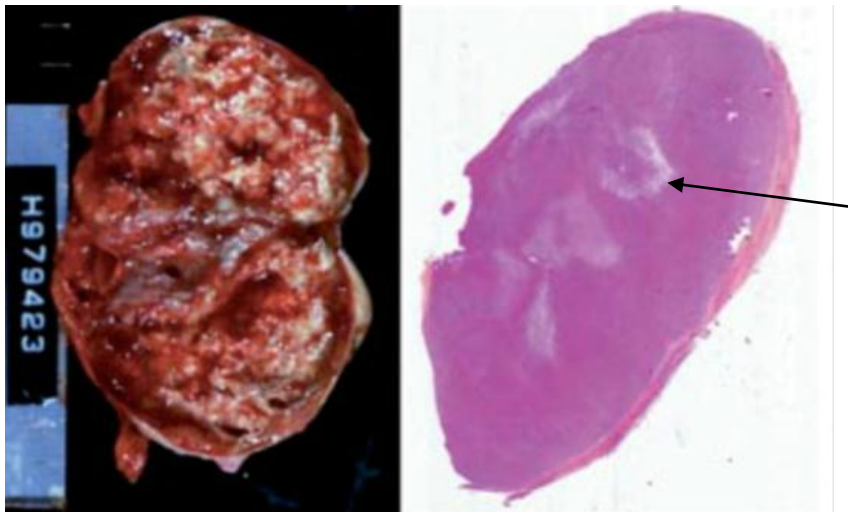


Figure 2 : Aspect macroscopique typique d'une GIST : la lésion est nodulaire, bien limitée, blanchâtre à la coupe, avec des remaniements hémorragiques et nécrotiques, ces derniers bien visibles sur la coupe montée correspondante [7, 8]

b) Microscopique :

Histologiquement, les tumeurs stromales digestives sont constituées dans 70% des cas de cellules fusiformes avec une architecture fasciculée (figure 3a), évoquant une prolifération musculaire lisse. Dans d'autres cas plus rares, les cellules fusiformes se disposent en palissade (figure 3b) ou en « bulbe d'oignon ». Elles sont caractérisées par une prolifération relativement dense. Les cellules tumorales sont caractérisées par un cytoplasme peu abondant, non éosinophile, et par un noyau régulier, à chromatine relativement dense. Le cytoplasme peut contenir une vacuole juxtanucléaire. Le stroma est habituellement peu abondant, typiquement collagénique ; les vaisseaux intra-tumoraux sont nombreux constitué de capillaires sanguins, et peut, dans les localisations intestinales, contenir des fibres skénoïdes très spécifiques du diagnostic (figure 3c). Dans 20 % des cas les cellules sont épithélioïdes et se localisent préférentiellement au niveau de l'estomac (figure 3d) [7 ; 10]. Les GIST ont le plus souvent une activité mitotique faible et la nécrose est présente dans 20 % des cas [7 ; 9].

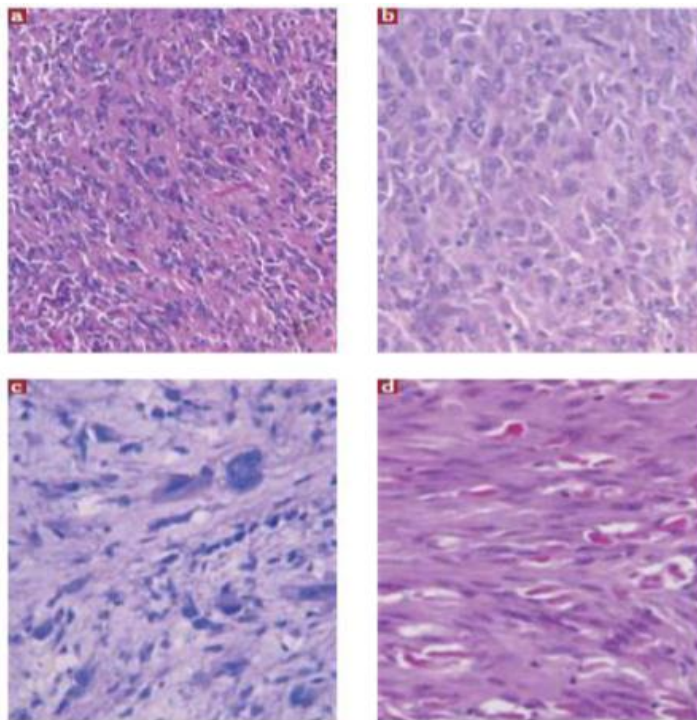


Figure 3 : Aspects histologiques des GIST : Les GIST ont le plus souvent une histologie fusiforme (a), avec parfois des agencements palissadiques des noyaux (b) ou, dans les localisations intestinales, des fibres skénoïdes (c). L'histologie peut également être épithélioïde (d).[7, 9,10]

V. L'immunohistochimie :

1) Définition de la technique :

L'immunohistochimie (IHC) est la technique qui permet de détecter des protéines ou d'autres antigènes dans des sections de tissu. À cet effet, les sections sont exposées à des anticorps marqués dirigés contre des épitopes de la protéine cible. Il est alors possible de visualiser une cible à l'aide d'un marqueur, par exemple, d'un colorant fluorescent, d'une enzyme, ou d'un traceur radioactif.

L'application des anticorps peut se faire de deux manières distinctes :

- par méthode directe, c'est-à-dire en liant un anticorps conjugué à un marqueur à sa substance cible.
- par méthode indirecte, en incubant l'anticorps primaire dans la substance cible, puis en liant un anticorps secondaire marqué à l'anticorps primaire.

Le profil immunohistochimique des tumeurs stromales a fait l'objet de nombreuses études. Différents anticorps ont été utilisés pour tenter de déterminer les modalités de différenciation de ces tumeurs. Des études les plus récentes, il ressort que les tumeurs stromales peuvent avoir une positivité souvent partielle pour les marqueurs musculaires, les marqueurs nerveux mais qu'à l'inverse ces deux types de marqueurs peuvent être parfois complètement négatifs. La découverte de cellules marquées avec l'anticorps anti CD34 constitue un argument important en faveur du diagnostic de tumeur stromale. Cependant, le marqueur le plus spécifique et le plus sensible serait, selon la grande majorité des auteurs, le c-kit [12].

2) Types de marqueurs utilisés :

➤ C-kit ou CD117 :

La recherche de l'expression de c-kit sur les cellules tumorales est nécessaire au diagnostic, elle est positive dans 85% des cas. Il est actuellement recommandé de faire ce marquage avec l'anticorps polyclonal A4502 au 1/50 sans restauration antigénique ou au 1/300 après restauration antigénique (tampon citrate pH 6). Le marquage positif peut être soit cytoplasmique soit membranaire soit juxta-nucléaire. Sa répartition peut être hétérogène et son intensité variable, sans incidence sur le pronostic [16].

➤ **CD34 :**

La protéine CD34 a été l'un des premiers marqueurs diagnostiques ayant contribué à l'émergence du concept de GIST au sein des tumeurs mésoenchymateuses digestives [18,19, 20]. CD34 est exprimée à l'état normal par les cellules souches Hématopoïétiques. La sensibilité de CD34 pour le diagnostic de GIST est inférieure à celle de KIT [21] : seulement 60 à 70 % des GIST expriment CD34, alors que KIT est exprimé dans 95 % des GIST. L'expression de CD34 est particulièrement fréquente dans les GIST de siège rectal et œsophagien (environ 90 % des cas) [22]. Elle est beaucoup plus rare dans les GIST de l'intestin grêle (47 % des cas) [22].

➤ **vimentine :**

La vimentine est une protéine de 52 Da ressemblant à la desmine [13]. Cette protéine est considérée comme un marqueur non spécifique, habituellement découverte dans les cellules dérivées du mésoenchyme. Elle peut être exprimée par les cellules tumorales des carcinomes peu différenciés [14]. Les tumeurs stromales expriment dans 95 % des cas (de 89 à 100% selon les études) la vimentine et dans 15 à 40 %, elle est le seul marqueur retrouvé [15]. Ce marqueur est parfois utile pour préciser les rapports de la tumeur avec la musculature digestive ou avec la musculature muqueuse, car les cellules musculaires lisses digestives normales n'expriment pas la vimentine.[24]

➤ **Desmine :**

La desmine est le filament intermédiaire des cellules des muscles lisses, myocardiques et striés. La desmine apparaît très tôt dans la différenciation du myoblaste. Elle n'est exprimée que par les cellules musculaires normales et par les cellules tumorales ayant une différenciation musculaire lisse ou striée [13]. Les GIST qui présentent une positivité avec l'anticorps anti-desmine sont extrêmement rares (moins de 5 % des cas dans la plupart des séries) ; la positivité est toujours focale [22]. Il convient de reconsidérer soigneusement un diagnostic de GIST si la desmine est fortement exprimée par les cellules tumorales.

➤ **Protéine S100 :**

Le terme de protéine S100 recouvre un ensemble de protéines intracellulaires de fonctions encore mal connues, mais très utilisées dans l'arsenal diagnostique.

Environ 5 % des GIST (jusqu'à 10 % dans certaines séries) présentent une positivité avec l'anticorps anti-protéine S100 ; cette positivité est le plus souvent focale ; l'expression de la protéine peut être cytoplasmique ou nucléaire [22].

➤ **Protéine Dog1 :**

Elle a été proposée comme un marqueur spécifique et hautement sensible des GIST [25]. La sensibilité de l'immunomarquage serait voisine de 100% pour les tumeurs associées à une mutation de KIT comme pour celles associées à une mutation de PDGFRA. La diffusion de cet anticorps reste confidentielle et son utilisation en routine réclame une confirmation de ces résultats à plus large échelle.

3) L'apport de l'immunohistochimie :

a) Le rôle général d'immunohistochimie

En général l'immunohistochimie a joué un rôle important dans :

- L'émergence et la validation du concept des GIST, Elle constitue actuellement une fonction diagnostique importante en facilitant l'identification et la classification de tumeurs indifférenciées [26] grâce à des marqueurs de différenciation épithéliale (Kératine, Cytokine ...), musculaire (actine, desmine ...), vasculaire (CD34), lymphocytaire, neuroendocrinienne, et nerveuse (S100),
- L'orientation vers une étiologie ou un point de départ de la tumeur dans le cadre de métastase, d'une porte d'entrée méconnue et dans le cadre d'un diagnostic différentiel large en cas de tumeur peu différenciée ou indifférenciée (pour certains tumeurs pulmonaires ou thyroïdiennes).
- La révélation hormonale (Gastrine, somatostatine.)
- La mise en évidence des protéines d'intérêt contribuant au pronostic (intérêt pronostique).

b) L'immunohistochimie dans les GIST :

C'est l'outil quotidien du diagnostic anatomopathologique. Plus de 20 ans d'usage l'ont perfectionnée, enrichie, et surtout standardisée [39]. Elle s'est enrichie de nouveaux anticorps plus spécifiques est devenue l'un des instruments du ciblage thérapeutique, par exemple avec l'anticorps

CD117, qui reconnaît dans les tumeurs stromales digestives l'expression des mutations du proto-oncogène C-kit, en particulier l'expression de kit (CD117) retrouvé positif dans 95 % des cas. Il est actuellement recommandé de faire ce marquage avec l'anticorps polyclonal A4502 au 1/50 sans démasquage antigénique au 1/300 ou avec démasquage antigénique (tampon citrat pH6).

Le marquage est considéré positif, qu'il soit cytoplasmique, membranaire ou en point juxtanucléaire. Sa répartition peut être hétérogène et son intensité variable. [40]

D'autres marqueurs sont souvent utilisés pour étayer le diagnostic CD34 (dans 70 % des cas) [41], actine musculaire lisse (dans 40% des cas), PS100 (dans 5% des cas), desmine (dans 2% des cas). Une forte positivité diffuse de la PS100 ou de la desmine doit faire remettre en cause le diagnostic, même si la tumeur est Kit positive. Il est à rappeler que l'expression de Kit n'est pas spécifique des GIST, et que d'autres tumeurs digestives ou intra-abdominales ou endocrines peuvent simuler une GIST.

Le plus fréquemment confondues avec une GIST sont les tumeurs musculaires lisses et les fibromatoses. Moins de 5% des GIST suspectées histologiquement sont kit négatives. Il faut en premier lieu éliminer un faux négatif, lié à un problème technique ou d'échantillonnage. La négativité des cellules tumorales ne peut être affirmée que s'il existe un témoin interne positif (cellules interstitielles de Cajal, mastocytes). Pour affirmer un diagnostic de GIST kit négatif, il est actuellement recommandé de rechercher une mutation des gènes kit et PDGFRA [42].

4) Application et limites de l'immunohistochimie

Les applications de l'immunohistochimie sont innombrables. Parmi les plus importantes citons :

- Biologie de développement,
- biologie végétale,
- oncologie, cancérologie, toxicologie ou histopathologie.

Les limitations de la technique sont d'ordre purement pratique, d'où l'importance cruciale d'une formation adéquate des techniciens dans la manipulation et l'utilisation des anticorps d'une part, et d'une expérience minimale du pathologiste dans l'interprétation des images d'autre part. L'immunohistochimie ayant un prix, il est indispensable de faire le bon choix parmi les très nombreux anticorps disponibles, leur importance diagnostique étant fort variable.

En bref, l'immunohistochimie permet au pathologiste de préciser son diagnostic au maximum, ce qui à son tour, donne au clinicien la possibilité de choisir le traitement optimal pour son patient.

VI. Apport de la biologie moléculaire :

Une recherche par biologie moléculaire d'une mutation activatrice de c-kit ou PDGF-RA peut être utile à but diagnostique (si l'immunohistochimie est négative par exemple) voire thérapeutique. Les tumeurs stromales digestives sont pour la plupart caractérisées par une mutation activatrice dans deux gènes codant pour des protéines de forte homologie appartenant à la famille des récepteurs à activité tyrosine kinase, c-kit et PDGFRA [27,28]. Ces mutations aboutissent à une activation permanente de la voie de transduction sous-jacente et à une activation des signaux mitogènes.

1) C-Kit ou CD117 :

La protéine c-kit, produit du proto-oncogène c-kit, est un récepteur transmembranaire à activité tyrosine kinase dont le ligand naturel est le facteur de croissance stem cell factor (SCF). Le gène Kit est situé sur le bras long du chromosome 4. Lorsque le récepteur kit est activé par la fixation de son ligand ou induit par une mutation, des signaux intracellulaires sont transmis. Une cascade de réactions moléculaires intracellulaires permet la transduction du signal de la membrane plasmique au noyau, entraînant ainsi la prolifération, la différenciation, la croissance et la survie de la cellule [29,30].

Les mutations de kit, et d'une manière plus générale son activation, pourraient jouer un rôle oncogénique initial dans le développement de cette maladie [31]. Ces mutations sont réparties sur plusieurs exons (9, 11, 13,17). Les mutations de l'exon 11 sont de loin les plus fréquentes et sont présentes dans environ 2/3 des GIST [34,29]. Elles se trouvent de part et d'autre de la région transmembranaire du récepteur impliquée dans la dimérisation de la kinase après fixation de son ligand. La nature des mutations semble influencer le devenir des tumeurs stromales [32,33].

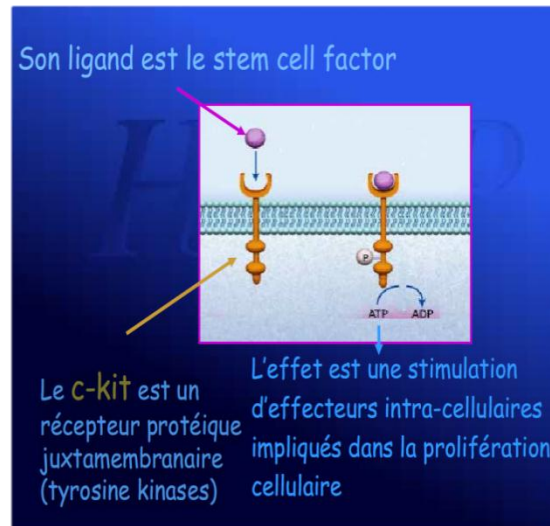


Figure 4 : Fonctionnement des KIT dans GIST [51]

2) PDGFRA :

PDGFR Alpha est un récepteur transmembranaire, son ligand est le PDGF sécrété essentiellement par les plaquettes et également par l'endothélium et les mastocytes. En se liant au PDGFR, PDGF augmente la synthèse de certaines protéines, l'activité de la stromélysine (une collagénase) et la prolifération cellulaire. Il a un effet vasoconstricteur et angiogénique. Les mutations concernent le PDGFR Alpha se voient dans environ 7% des cas de GIST. Ces mutations siègent principalement au sein de l'exon 18 (6%), plus rarement au niveau de l'exon 12 (moins de 1%). La surexpression de ces deux récepteurs tyrosine kinase KIT et PDGFR A, semble exclusive, puisque les tumeurs surexprimant kit expriment peu ou pas PDGFR A et vice versa.

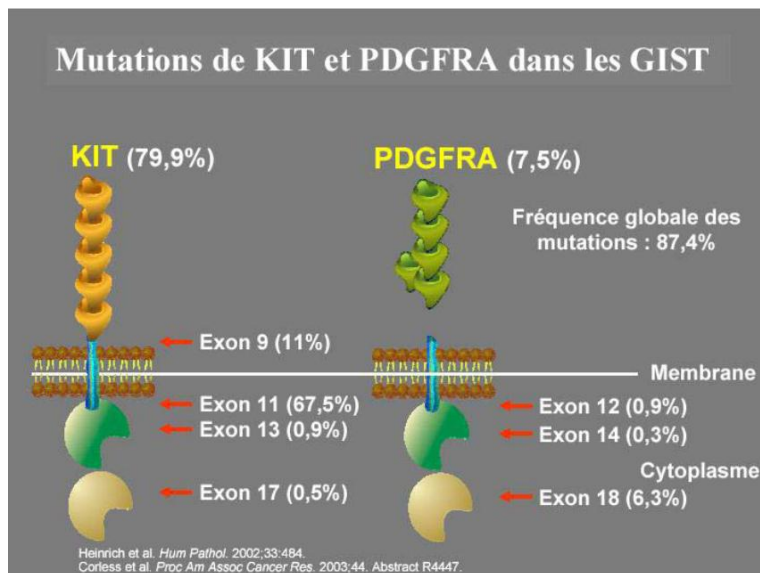


Figure 5 : Mutations du KIT et PDGFRA au cours des GIST [52]

En effet, les mutations de KIT et de PDGFR sont des phénomènes précoces de la tumorigénèse des GIST puisqu'on les retrouve dans la majorité des micro-GIST (GIST de moins de 1 cm de découverte fortuite). De plus, leurs propriétés transformantes ont été démontrées : la présence de ces mutations entraîne une activation constitutionnelle du récepteur tyrosine kinase indépendante de la présence du ligand.

Matériel et méthodes

❖ Matériel

Notre étude est une analyse rétrospective ayant porté sur 20 cas de prélèvements des tumeurs stromales réalisés dans le service d'anatomie pathologique de Centre hospitalier Universitaire Hassan II de Fès, sur une durée de 4 ans (2013 ; 2015. 2016 et 2017).

I. Examen histologique :

Les prélèvements destinés au laboratoire pour un examen histologique, passent par une série d'étapes avant qu'ils ne soient lus et interprétés par le pathologiste responsable.

La technique est réalisée en cinq étapes qui sont principalement :

- La fixation.
- L'inclusion.
- La microtomie.
- La coloration.
- Le montage.

1) Fixation :

C'est une étape essentielle dans la préparation tissulaire. Son but est de s'opposer à l'autolyse tissulaire et à la putréfaction, de garantir la conservation des structures et le durcissement des pièces, afin de garder le prélèvement dans un état aussi proche que possible de l'état vivant. Les échantillons sont fixés dans du formol à 10%. La durée de fixation est variable et la quantité de fixateur utilisée doit être au moins dix fois plus importante que le volume de tissu à fixer : quelques heures suffisent donc pour fixer la biopsie.

Les prélèvements ayant terminés leur fixation sont déposés dans des cassettes en plastique directement, qu'il s'agisse de biopsies ou de pièces opératoires, (après l'étape d'examen macroscopique au cours de laquelle sont prélevés des fragments de petite taille). Les tissus contenus dans les cassettes sont déshydratés par passage dans des alcools (dans l'automate), et ensuite inclus dans la paraffine.



Figure 6 : Examen macroscopique d'une pièce opératoire. [53]

2) Inclusion :

Elle a pour but d'enfermer le prélèvement dans une substance qui le pénètre et l'infiltré. Les tissus acquièrent ainsi une consistance permettant d'obtenir des coupes minces au microtome.

La substance d'inclusion, généralement la paraffine, est une substance liquide à chaud, solide à température ambiante et insoluble dans l'eau et dans l'alcool.

Comme cette substance est hydrophobe (non miscible à l'eau), la pièce anatomique doit être entièrement déshydratée avant son inclusion dans la paraffine. Vu qu'elle est aussi non soluble dans l'alcool utilisé pour la déshydratation ; une double substitution doit être réalisée. L'eau est remplacée par l'alcool (déshydratation) et l'alcool par le toluène (substitution).

Pour réaliser cette étape, un automate d'inclusion appelé histokinette est utilisé (Figure 7).

Cet automate peut se charger de toutes les phases conduisant à la mise à disposition d'un bloc de paraffine prêt à être coupé au microtome.



Figure 7 : Appareil d'inclusion dans la paraffine

L'inclusion ne se fera de façon satisfaisante que si la pièce à couper ne contient ni eau ni solvant intermédiaire (alcool). Cette étape se fait par un appareil d'enrobage représentée par la (figure7).

L'étape de circulation consiste à faire introduire les pièces dans une série de liquides intermédiaires (figure 8).

- **Fixation** dans 2 bains de Formol 10% (30 min x 2).
- **Déshydratation par l'alcool**: consiste à débarrasser le tissu de l'eau qu'il contient,
- Tenant compte que l'agent déshydratant doit être miscible en même temps à l'eau et à la paraffine, la déshydratation se fait dans 5 bains d'Alcool de degré croissant 75%, 80%, 90%, 95%, et absolu (1h x 3, 1h30 et 2h).
- **Eclaircissement par le toluène** : cette étape est destinée à remplacer l'alcool par un solvant de la paraffine et à chasser l'alcool par trois bains successifs de toluène. En remplaçant l'agent déshydratant, le toluène rend le tissu transparent d'où le nom d'éclaircissement. Cette opération se déroule dans 3 bains de Toluène (1h, 1h30 et 2h).
- **Enrobage dans la paraffine** : c'est l'étape terminale de la circulation, réalisée par passage du tissu dans la paraffine liquide. 2 bains de Paraffine (2h et 3h) sont utilisés.



Figure 8 : Histokinette, Automate permettant l'inclusion des échantillons fixés dans de la paraffine après déshydratation.

3) Réalisation des coupes ou microtomie

Après montage du bloc dans le porte-bloc du microtome destiné à produire de fines tranches (3-5 μ m), la réalisation des rubans est effectuée à l'aide du microtome (Figure 9).



Figure 9 : Coupe au microtome

Ces coupes sont immergées dans des bains d'alcool, puis étalées en les dépliant sur la lame par flottation à la surface d'un bain chaud.

4) Coloration

Cette opération permet de teinter de façon différentielle les divers territoires de l'échantillon biologique. Tous les colorants utilisés sont hydrosolubles, alors ils ne fonctionnent que si les cellules sont réhydratées. Ceci nécessite l'emploi d'une série d'alcools des titres décroissants, pour arriver à l'eau.

La coloration utilisée est de type H.E.S (hématoxyline-éosine safran). Elle a pour but de permettre la mise en évidence des noyaux et du cytoplasme des cellules ainsi que des fibres de collagène. L'hématoxyline colore le noyau en violet, l'éosine colore le cytoplasme en rose, et le safran colore les fibres de collagène en jaune. Les lames doivent être préparées, afin de pouvoir recevoir les colorants. La coloration est précédée de déparaffinage et d'hydratation.

- **Déparaffinage :**

Cette étape consiste à enlever la paraffine de la coupe tissulaire pour que les colorants (préparés en phase aqueuse), puissent pénétrer le tissu et le colorer. Pour cela les lames sont mises dans l'étuve à 70°C pendant une heure, puis plongés dans le toluène.

- **Hydratation :**

Elle a pour but de retirer le toluène du tissu et le remplacer par de l'eau. Le toluène et l'eau n'étant pas miscibles, le toluène est d'abord remplacé par l'alcool, puis les lames sont passées dans un bain d'eau courante, permettant de remplacer l'alcool par l'eau.

5) Montage des lames

Cette opération consiste, une fois la coloration terminée, à fixer une lamelle de verre sur la coupe tissulaire à l'aide d'une substance appelée milieu de montage (composé de glycérol, de gélatine et de thymol). Le montage permet une protection mécanique des coupes, ainsi qu'une protection chimique des colorants. Les lames préparées sont ensuite étudiées en immunohistochimie.

II. Immunohistochimie :

Cette étude a pour but de rechercher l'expression de kit soit par automate qui se charge d'effectuer toutes les étapes nécessaires à la réalisation de l'IHC, et permet ainsi de gagner du temps et de commettre moins d'erreurs lors de la technique, soit par technique manuelle.

○ Principe

C'est une méthode qui permet la détection des antigènes situés dans les cellules d'un tissu à l'aide des anticorps. Lorsque la protéine recherchée est exprimée, les anticorps se fixent sur leur cible et donnent une nouvelle coloration aux tissus tumoraux, permettant ainsi au pathologiste de confirmer le diagnostic évoqué lors de l'analyse histologique.

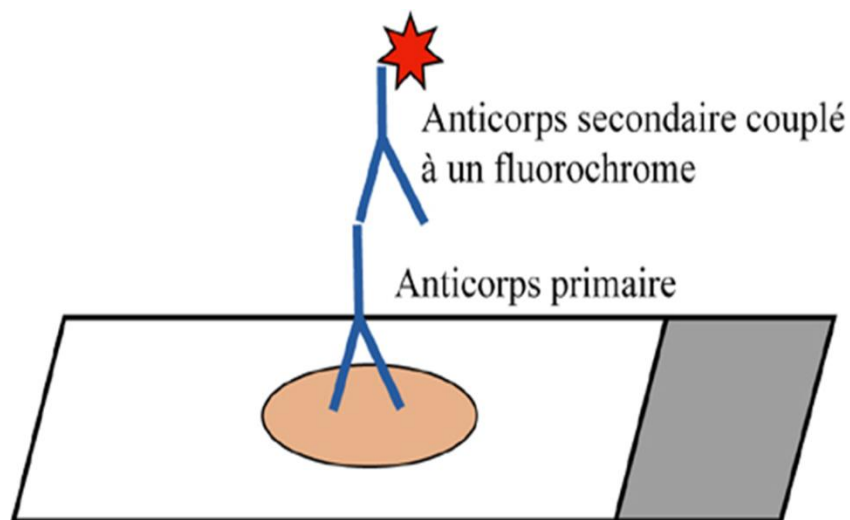


Figure 10 : Le principe de l'immunofluorescence

(Véronique Fortin, LOEX)

Le mot immunohistochimie désigne la combinaison de l'immunologie et de l'histochimie, elle a 3 buts essentiels :

- confirmer ou préciser l'origine du cancer primitif du patient.
- identifier des cellules cancéreuses très indifférenciées.
- donner des facteurs pronostiques ou prédictifs.

○ Les marqueurs utilisés

Une étude immunohistochimique a été faite selon une technique manuelle en utilisant un panel d'anticorps : le CD117, le Dog1, mais aussi le CD34, AML, et la PS100 qui ont un intérêt pour le diagnostic différentiel.

Tableau 2 : Marqueurs employés dans la démarche diagnostique et clones correspondant

Anticorps	Clone	Laboratoire
CD117	Pathway Anti-c-kit (9-7) Primary Antibody 5ml (5ug/ml)	Référence: Ventana Medical Systems, Inc
DOG1	(SP31) Rabbit monoclonal Antibody	Référence: Cell Marque Corporation USA 6600 Sierra Bvd Rocklin, CA 95677

○ **Protocol expérimental de l'immunohistochimie**

La première étape pour la préparation des lames commence par le déparaffinage. Cette étape consiste à incuber les lames dans l'étuve pendant une nuit à 60 °C, ensuite la paraffine est éliminée par deux passages successives dans des bains de toluène (5 min pour chacun), après dans deux bains d'alcool absolu (5 min pour chaque bain) et réhydratées par un rinçage à l'eau courante (10 min).

Les lames sont ensuite égouttées, puis incubées dans du peroxyde d'Hydrogène (H₂O₂) à 3% pendant 10 minutes afin de bloquer les peroxydases endogènes qui peuvent provoquer des réactions non spécifiques. Les lames sont ensuite rincées à l'eau courante (10 min). Après cette étape, un démasquage antigénique qui consiste à mettre les lames dans un tampon citrate pendant 20 min est réalisé. Après refroidissement, les coupes sont trempées dans une solution de PBS pendant 5 min. Elles sont par la suite égouttées puis entourées par le PAP-PEN, la protéine bloquante est par la suite déposée dans le fragment pendant 10 min et les lames sont disposées dans une chambre humide pendant 15 minutes. Le surplus du bloquant est enlevé en secouant la lame. Après, deux gouttes d'anticorps primaire sont appliqués pendant 1h au cours de laquelle les lames sont disposées dans une chambre humide, puis rincées 3 fois par PBS pendant 5 min.

L'anticorps secondaire est appliqué (2 gouttes), puis les lames seront disposées dans une chambre humide pendant une heure. L'application de la peroxydase est réalisée pendant 15 minutes suivie d'un rinçage dans deux bains de PBS de 5 minutes chacun soit 10 minutes. Après, le substrat chromogène est appliqué pendant 4 à 15 min. Après rinçage à l'eau courante (10min), les lames sont incubées dans un bain d'hématoxyline pendant 4 min pour la coloration du noyau, rincées à l'eau

puis passées rapidement dans du carbonate de lithium saturé avant rinçage à l'eau distillée. Le montage des lames se fait finalement à l'eau.

❖ Méthodes statistiques

Recueil des données :

Les données ont été recueillies d'une façon prospective à partir des comptes rendus anatomopathologiques, des fiches pré-remplis par les services de gastro-entérologues du CHU Hassan II de Fès et adressé avec le prélèvement comportant les renseignements suivants : nom du patient, âge, sexe, service, localisation de la tumeur, type histologique et expression de kit et dog1

L'archivage des données a été réalisé dans un tableau Excel.

Tableau 3 : Renseignements sur les patients inclus dans l'étude

N° ORDRE	AGE	Année	Type Pvt	Site	Taille	IM/50 Ch	Morphologie	Risk	CD117	Dog1
1	58	2015	Pièce	estomac	42	10	F	haut	p	p
2	47	2015	Pièce	estomac	6,5	15	F+E	haut	P	P
3	58	2015	Biopsie	péritoine	B	6	F	haut	P	P
4	55	2015	pièce	estomac	7		F	haut	P	P
5	61	2015	Pièce	estomac	19		F		P	P
6	56	2015	Pièce	grêle	7 et 0,5 cm	20 et 6	E et F	Haut et intermédiaire	P	P
7	59	2015	Pièce	grêle	12	13	F	haut	P	P
8	67	2015	Pièce	grêle	4	13	F	haut	P	P
9	75	2015	Pièce	estomac	6	13	F	haut	P	P
10	52	2016	Pièce	Grêle	7,5	36	E	Haut	P	P
11	65	2016	Pièce	estomac	17		F		N	P
12	61	2016	Pièce	mésentère		11	E	haut	P	P
13	70	2016	Pièce	FOIE	9	7	F	haut	P	P
14	57	2016	Pièce	Grêle		0	F	Haut	N	P
15	72	2016	Biopsie	estomac			F		P	P
16	75	2016	Pièce	estomac	5	9	F	intermédiaire	P	P
17	50	2017	Pièce	estomac	5,5 cm	13	F	Haut	P	P
18	61	2017	Pièce	estomac	8 cm	13	E	haut	P	P
19	77	2017	Biopsie	ESTOMAC	6 cm	9	F	haut	P	P
20	21	2013	Pièce	Colon	20cm	6	F	haut	N	N

Résultats

I. Etude descriptive

1) Répartition des tumeurs gastro-intestinales selon l'âge

Cette étude est réalisée sur 20 patients dont l'âge varie entre 21 et 77 ans avec une moyenne de 59,85 ans.

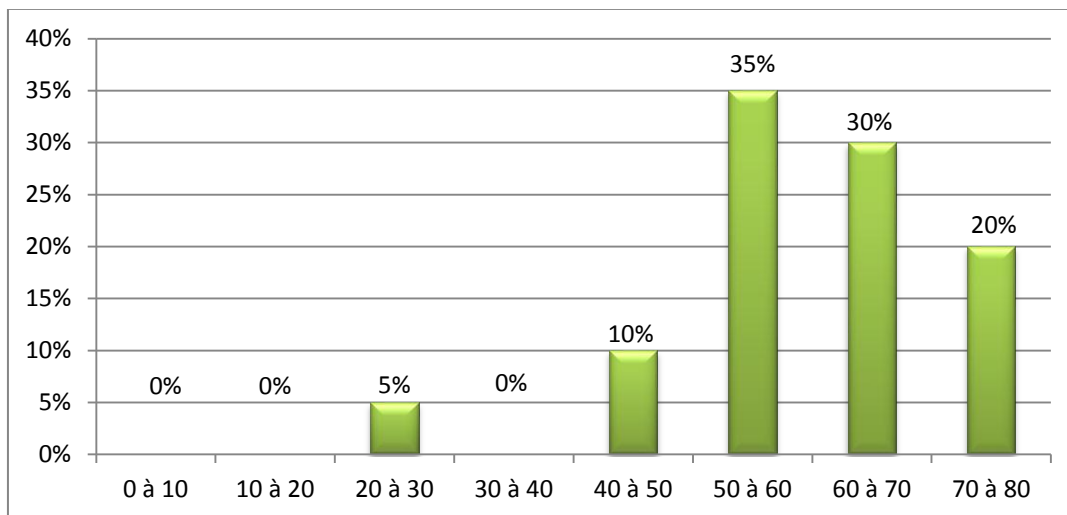


Figure 11 : Répartition des cas des GIST en fonction de l'âge

Cette figure illustre le nombre des cas des tumeurs stromales gastro intestinales en fonction de la tranche d'âge des patients. La tumeur est plus dominante au niveau de la tranche d'âge située entre 50 et 60 ans, avec un pourcentage maximum de 35%.

2) Répartition selon le sexe

L'étude de la répartition des tumeurs stromales gastro-intestinales selon le sexe, montre qu'il y a une prédominance du sexe féminin avec 60% des femmes (12 cas) et 40% des hommes (8cas). Le sexe ratio de 0,66.

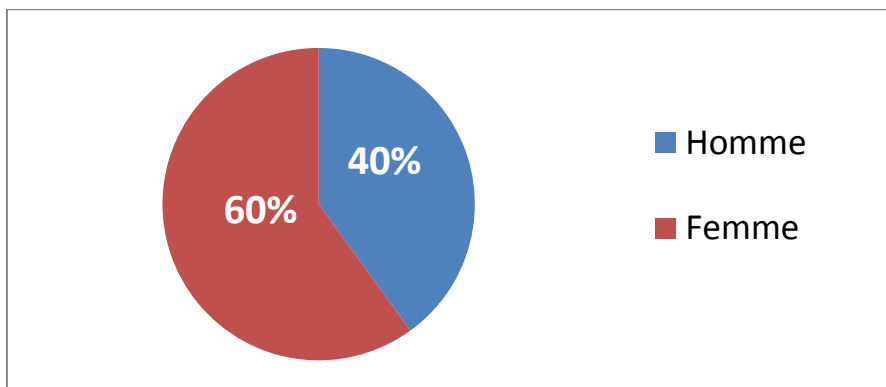


Figure 12 : Répartition des tumeurs stromales gastro-intestinales selon le sexe

3) Type de prélèvements :

Le pathologiste a fait une étude anatomopathologique sur 17 cas de pièces opératoires et 3 cas de biopsies.

4) Localisation des tumeurs stromales gastro-intestinales sur le tube digestif

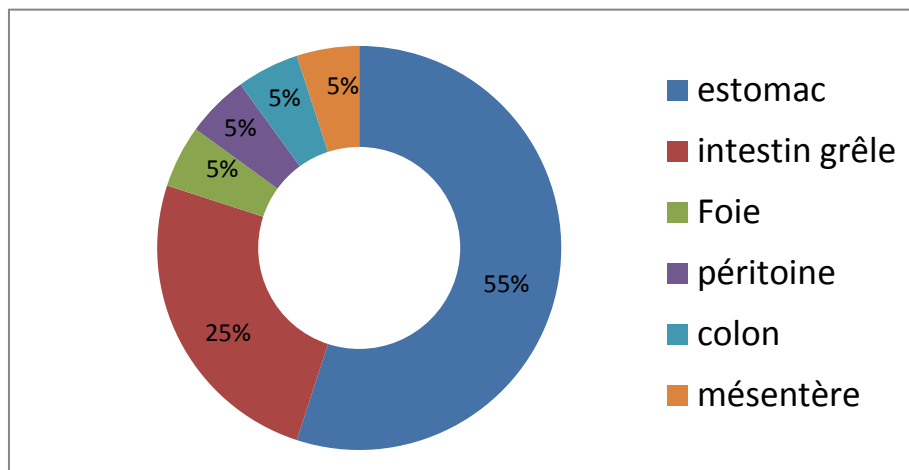


Figure 13 : Localisation malignes des GIST dans le tube digestif

Les résultats obtenus montrent que les GIST se développent plus fréquemment dans l'estomac (55%), suivis de l'intestin grêle (25%). Les localisations hépatique, mésentérique, colorectale, péritonéale sont plus rares et occupent en totalité 20% des cas.

5) Répartition des GIST selon la taille tumorale

La taille tumorale est un facteur déterminant pour évaluer le risque métastatique.

Dans notre étude la taille n'a pas été précisée pour 4 cas (soit 20% de l'ensemble des prélèvements) qui ont été adressés pour relecture.

La figure suivante présente les résultats obtenus:

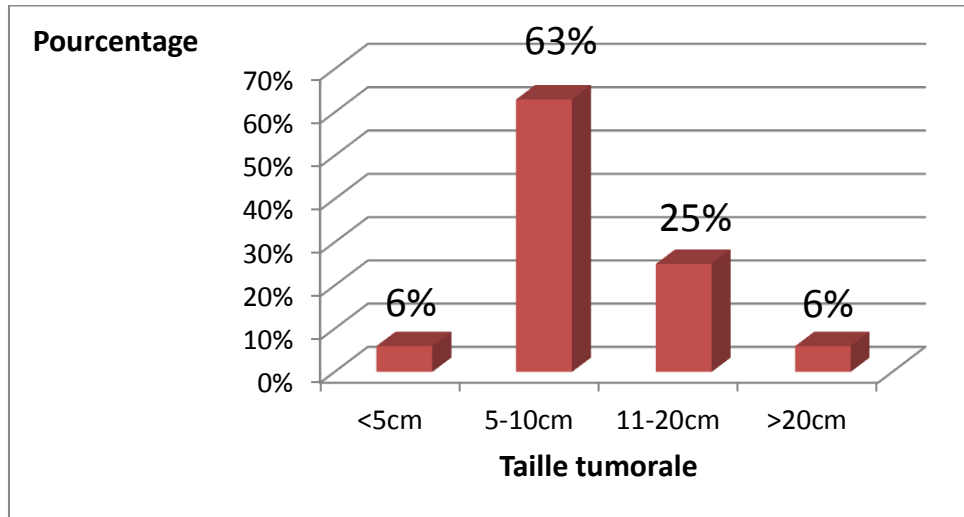


Figure 14: Répartition des GIST en fonction de la taille

Ces résultats montrent que la tumeur dont la taille est entre 5 et 10 cm est la plus dominante avec un pourcentage de 63%.

La taille moyenne étant de 11,38 cm

6) L'index mitotique

Le nombre de mitoses par 50 champs au fort grossissement (fragments biopsiques) n'a pas été précisé pour 5 cas. 40% des cas présentent un index mitotique entre 5 et 10 mitoses par 50 champs et 53% entre 11 et 20 mitoses par 50 champs. Les patients qui ont un nombre de mitose >20 par 50 champs représentent 7% des cas.

Tableau 4 : Répartition des GIST selon le nombre de mitoses (IM)

IM/50 champs	<5	5-10	11-20	>20
Nombre des cas	0	6	8	1
Pourcentage	0%	40%	53%	7%

Le tableau suivant de la répartition des GIST selon le nombre de mitoses montre que le pourcentage maximum de 53% présente un nombre de mitoses par 50 champs entre 11 et 20

L'index mitotique au-delà de 5 mitoses par 50 champs, est une indication du danger au cours du diagnostic.

7) Risque métastatique selon Miettinen

Les patients qui ont un risque intermédiaire représentent 40%, alors que ceux qui ont un risque élevé représentent 60%. Aucun patient ne présente un risque faible parce que toutes les tumeurs possèdent une taille >5 cm et un nombre de mitoses par 50 champs > 5.

8) Type histologique

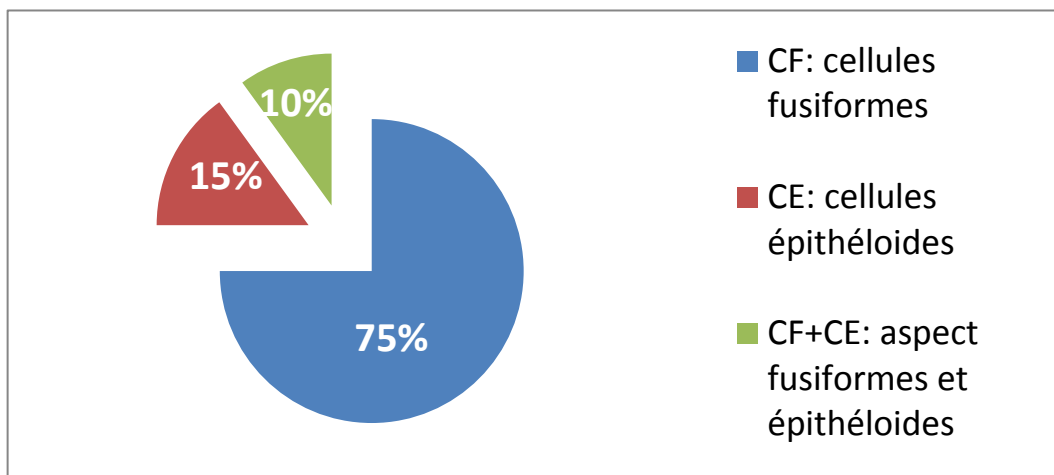


Figure 15 : la morphologie cellulaire des GIST

Deux types de cellules sont plus fréquemment rencontrées au niveau des échantillons analysés : cellules fusiformes (CF) (15 cas soit 75%) ; cellules épithéloïdes (CE) (3cas soit 15%) ; et 2 cas des cellules d'aspect commun (CF+CE) soit un pourcentage de 10% .

9) Expression du CD117 en immunohistochimie

⇒ 17 patients présentent un immunomarquage CD117 positif soit 85% des cas.

⇒ 3 patients présentent un immunomarquage CD117 négatif soit 15% des cas.

10) Expression du Dog1 en immunohistochimie

⇒ 19 patients présentent un immunomarquage Dog1 positif soit 95% des cas.

⇒ Un patient présente un immunomarquage Dog1 négatif soit 5% des cas.

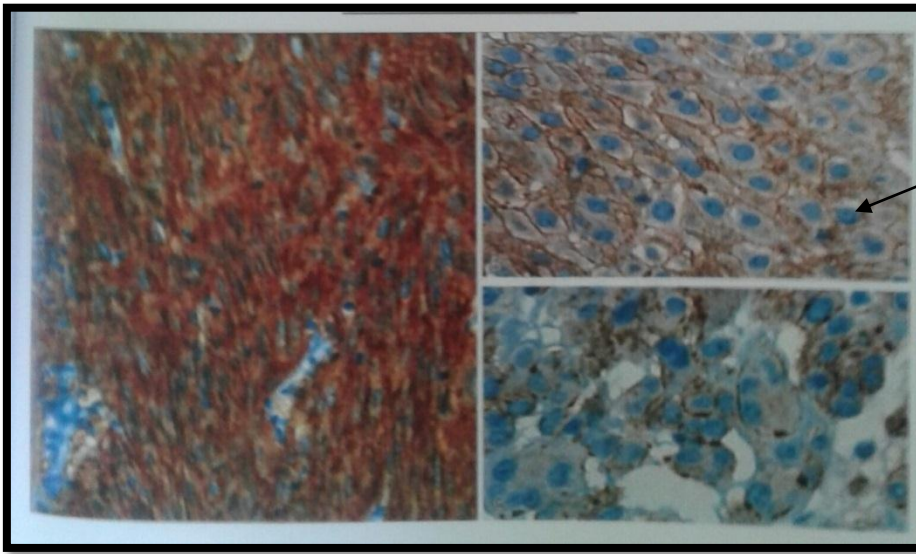


Figure 16 : Marquage immunohistochimique positif des GIST par Dog1

Les tissus tumoraux se colorent en bleu, la protéine Dog1 est exprimée.

11) Expression du CD117 et Dog1 en immunohistochimie

le profil immunohistochimique des GIST des cas étudiés est résumé dans le tableau suivant

Tableau 5 : profil immunohistochimique des GIST

Nombre des cas	CD117	Dog1	Pourcentage
17 cas	+	+	85%
1 cas	Négatif	Négatif	5%
2 cas	Négatif	+	10%

⇒ 17 patients présentent un immunomarquage CD117 et Dog1 positif soit 85% des cas.

⇒ Un patient présente un immunomarquage CD117 et Dog1 négatif soit 5% des cas.

⇒ 2 patients présentent un immunomarquage CD117 négatif et Dog1 positif soit 10% des cas.

Discussion

Notre étude réalisée sur 20 patients a montré que la répartition des GIST en fonction d'âge intéresse une tranche d'âge entre 50- 70 ans avec un âge moyen de 59,85 ans. Une étude réalisée au CHU Hassan II de Fès en 2012 a noté un âge moyen de 57,45 ans [53,54]. Ce résultat est en concordance avec notre étude.

Concernant le sexe ratio, la plupart des études rapportent une prédominance masculine, c'est également le cas de l'étude faite au CHU Hassan II de Fès en 2012. Notre série a montré une prédominance féminine avec un sexe ratio de 0,66. Ce résultat peut être expliqué probablement par la taille de notre échantillon d'étude qui n'est pas large.

Dans notre série d'étude. La localisation gastrique est la plus fréquente (55%), suivie de l'intestin grêle (25%). Les localisations hépatique, colorectale, mésentérique, péritonéale sont plus rares occupant (20%). Ces données sont proches de l'étude de sekkate S al 2012 qui a montré que la localisation la plus fréquente des GIST est l'estomac, où siègent 60-70% des cas [45-60]. Les autres cas sont par ordre de fréquence décroissante l'intestin grêle (20-30%), le côlon et le rectum (environ 5% des cas), l'œsophage (moins de 5% des cas). Les formes extradigestives, notamment mésentériques, représentent moins de 5% des cas [51].

Sur le plan histologique, le type cellulaire fusiforme est prédominant, il est observé dans 75% des cas (15 cas), le type épithélioïde est présent dans 15% des cas (3 cas), alors que le type mixte est retrouvé dans 10% des cas. Notre résultat est proche des données de la littérature qui ont montré que dans 70% des cas les cellules sont fusiformes, dans 20% des cas sont épithélioïdes et 10% des cas présentent un aspect mixte [52].

Les tumeurs se caractérisent dans notre série par une positivité constante du marqueur CD117 et Dog1. Cette caractéristique immunohistochimique est similaire aux données de la littérature qui rapportent une bonne sensibilité des marqueurs CD117 et Dog1 pour le diagnostic des GIST avec des taux de positivité entre 80-95% [49,50]. La recherche de mutations est actuellement recommandée pour les GIST kit négatif.

Conclusion

Les tumeurs stromales digestives sont des tumeurs rares, mais elles constituent les tumeurs mésenchymateuses les plus fréquentes du tube digestif. Elles peuvent se développer à partir de tous les segments du tractus digestif, depuis l'œsophage jusqu'à l'anus, ainsi qu'exceptionnellement, à partir du méésentère et du péritoine. Elles sont toutefois plus fréquentes au niveau de l'estomac (deux tiers des cas) et de l'intestin grêle (un quart des cas).

Leur diagnostic positif est relativement amélioré grâce aux moyens immunohistochimiques actuels. En effet, la caractérisation des tumeurs stromales digestives a été possible grâce à la mise en évidence de l'expression de la protéine C-kit à la surface des cellules tumorales. La recherche des autres marqueurs Dog1, CD34, PS100, et desmine est fortement recommandée. Le recours à l'identification de la mutation des gènes KIT ou PDGFRA reste une option pour le rare cas de GIST négatives au C-kit.

La prise en charge requiert une approche multidisciplinaire faisant appel à la chirurgie, qui reste le seul traitement curatif, et aux inhibiteurs de KIT, avec en chef de file l'imatinib. Ce dernier est le premier médicament intelligent en oncologie médicale ayant révolutionné le traitement des GIST malignes ou à potentiel malin.

Références

[1] : Mazur MT, Clark HB. Gastric stromal tumors, reappraisal of histogenesis. *Am J Surg Pathol* 1983 ; 7 : 507-19.

[2]: Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors : definition, clinical, histological, immunohistochemical, and molecular genetic features and differential diagnosis. *Virchows Arch* 2001 ; 438 : 1-12.

[3] : Demetri GD, von Mehren M, Blanke CD, Van den Abbeele AD, Eisenberg B, Roberts PJ *et al.* Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors. *N Engl J Med* 2002; 347: 472-80.

[4]: Fletcher CD, Berman JJ, Corless C, Gorstein F, Lasota J, Longley BJ *et al.* Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: consensus approach. *Hum Pathol* 2002 ; 33 : 459-65.

[5]: Cancer Research UK. What is the treatment for GIST - Gastrointestinal Stromal Tumour

[6]: American Cancer Society. Gastrointestinal Stromal Tumor (GIST) Detailed Guide

[7]: Sekkate, S., Kairouani, M., Abahssain, H., Serji, B., Boutayeb, S., Mrabti, H., & Errihani, H. Tumeurs stromales gastro-intestinales. *La presse médicale*, (2012). 41(10), 917-926.

[8] : Emilea JF, Bacheta JB, Tabone-Eglinger S, Brahimia S. Histologie et pathologie, moléculaire des tumeurs stromales gastrointestinales. *Rev Fr Lab* 2008 (No. 398).

[9] : Dei Tos AP, Laurino L, Bearzi I, Messerini L, Farinati F. Gastrointestinal stromal tumors: the histology report. *Dig Liver Dis* 2011;43S:S304-9.

[10] : Emilea JF, Bacheta JB, Tabone-Eglinger S, Brahimia S. Histologie et pathologie moléculaire des tumeurs stromales gastrointestinales. *Rev Fr Lab* 2008 (No. 398).

[11] : Coindre JM, Emile JF, Monges G, Rancher D, Scoazec JY. Tumeurs stromales gastrointestinales : définition, caractéristique histologiques immuno-histochimique et génétiques, stratégie diagnostique *ann Pathol* 2005 25 :358-85 .

[12]: HERRERA G.A., PINTO DE MORAES H., GRIZZLE W.E., HAN S.G : Malignant small bowel neoplasm of enteric plexus derivation (Plexosarcomas) . Light and microscope study confirming the origin of the neoplasm. *Dig Dis Sei* 1984 ; 29 : 275-284.

[13]: BATTIFORA H. : Antigènes et anticorps. Leurs utilisations diagnostiques. In : L'immunohistochimie dans le diagnostic des tumeurs. Paris - Villejuif Académie internationale de pathologie. Division française, 1991. Octobre: 27-83.

[14]: STOUT A.P. : Bizarre smooth muscle tumors of the stomach. *Cancer* 1992 ; 15 : 400-409.

- [15]:** SUSTER S. : Gastrointestinal stromal tumors. *Sernin Diagn Pathol*; Vol 13, n° 4, 1996. (November), 297-313.
- [16]:** Nilsson B, Bummig P, Meis-Kindblom JM, Oden A, Dortok Gustavsson B, et al. Gastrointestinal stromal tumors : the incidence, prevalence, clinical course, and prognostication in the preimatinib mesylate era. *Cancer* 2005 ; 103 : 821-9.
- [17]:** Miettinen M, Lasota J Gastrointestinal stromal tumors : pathology and prognosis at different sites. *Semin Diagnpathol* 2006 23: 70-83.
- [18]:** Monihan JM, Carr NJ, Sobin LH. CD34 immunoeexpression in stromal tumours of the gastrointestinal tract and in mesenteric fibromatoses. *Histopathology* 1994 ; 25 : 469-73.
- [19]:** Miettinen M, Lindenmayer AE, Chaubal A. Endothelial cell markers CD31, CD34, and BNH9 antibody to H- and Y-antigens--evaluation of their specificity and sensitivity in the diagnosis of vascular tumors and comparison with von Willebrand factor. *Mod Pathol* 1994 ; 7 : 82-90.
- [20]:** van de Rijn M, Hendrickson MR, Rouse RV. CD34 expression by gastrointestinal tract stromal tumors. *Hum Pathol* 1994 ; 25 : 766-71.
- [21]:** Sarlomo-Rikala M, Kovatich AJ, Barusevicius A, Miettinen M. CD117: a sensitive marker for gastrointestinal stromal tumors that is more specific than CD34. *Mod Pathol* 1998 ; 11(8) : 728-34.
- [22]:** Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors-definition, clinical, histological, immunohistochemical, and molecular genetic features and differential diagnosis. *Virchows Arch* 2001 ; 438 : 1-12.
- [23]:** Taniere P, Poncet G, Atieh R, Saurin JC, Henry L, Scoazec JY. Toutes les tumeurs digestives exprimant la protéine c-kit ne sont pas des tumeurs stromales. *Gastroenterol Clin Biol* 2002 ; 26 : 1057.
- [24]:** Sarlomo-Rikala M, Tsujimura T, Lendahl U, Miettinen M. Patterns of nestin and other intermediate filament expression distinguish between gastrointestinal stromal tumors, leiomyomas and schwannomas. *APMIS* 2002 ; 110 : 499-507.
- [25]:** West RB, Coruss CL, Cheu X, Rubin BP, Subramanian S, Montgomery K, et al. The novel marker, DOG 1, is expressed ubiquitously in GIST irrespective of Kit or PDGFRA mutant status *Am J Pathol* 2004; 164: 107- 13.
- [26]:** Bahrami A et al. Undifferentiated tumor: true identity by immunohistochemistry. *Arch Pathol Lab Med*, 2008 Mar;132(3):326-48. doi: 10.1043/1543-2165(2008)132.
- [27]:** Sanders KM. A case for interstitial cells as pacemakers and mediators in neurotransmission in the gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 1996 ; 111 : 492-515.
- [28]:** Daimaru Y, Kido H, Hashimoto H, Enjoji M. Benign schwannoma of the gastrointestinal tract : a clinicopathologic and immunohistochemical study. *Hum Pathol* 1988 19 : 257-64.
- [29]:** Hirota S, Isozaki K, Moriyama Y, Hashimoto K, Nishida T, Ishiguro S, Kawano K, et al. Gain-of-function mutations of c-KIT in human gastrointestinal stromal tumors. *Science* 1998 ; 279 : 577-80.

[30]: Lasota J, Jasinski M, Sarlomo-Rikala M, Miettinen M. Mutations in exon 11 of c-KIT occur preferentially in malignant versus benign gastrointestinal stromal tumors and do not occur in leiomyomas and leiomyosarcomas. *Am J Pathol* 1999 ; 154 : 53-60.

[31]: El Rifai W, Sarlomo-Rikala M, Anderson LC, Knuutila S, Miettinen M. DNA sequence copy number changes in gastrointestinal stromal tumors : tumor progression and prognostic significance *Cancer Res* 2000 ; 60 : 3899-903.

[32]: Van Oosterom AT, Judson I, Verweij J, Stroobants S, Donato di Paola E, Dimitrijevic S. Safety and efficacy of imatinib (STI571) in metastatic gastrointestinal stromal tumors : a phase I study. *Lancet* 2001 ; 358 : 1421-3.

[33] : Lux M, Rubin BP, Biase TL, Chen CJ, Maclure T, Demetri G, et al. KIT extracellular and kinase domain mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Am J Pathol* 2000 ; 156 : 791-6.

[34]: Yantiss RK, Spiro IJ, Compton CC, Rosenberg AE. Gastrointestinal stromal tumor versus intra-abdominal fibromatosis of the bowel wall. *Am J Surg Pathol* 2000 ; 24 : 947-57.

[35]: Monges G., Coindre J.M., Scoazec J.Y., Bouvier A., Blay J.Y., Loria- Kanza Y., Mathieu-Boue A., Bisot-Locard S., Incidence of gastrointestinal stromal tumors (GISTs) in France: results of the PROGIST survey conducted among pathologists, *J. Clin. Oncol. ASCO 2007, Ann. Meet. Proc., Part I, Vol. 25,18S, 2007, 10047.*

[36]: Nilsson B., Bumming P, Meis-Kindblom J.M., Oden A., Dortok A., Gustavsson B., Sablinska K., Kindblom L.G., Gastrointestinal stromal tumors: the incidence, prevalence, clinical course, and prognostication in the preimatinib mesylate era-a population-based study in western Sweden, *Cancer* 103(4) (2005) 821-829.

[37]: Blay J.Y., Bonvalot S., Casali P., Choi H., Debiec-Richter M., Dei Tos A.P., Emile J.F., Gronchi A., Hogendoorn P.C., Joensuu H., Le Cesne A., McClure J., Maurel J., Nupponen N., Ray-Coquard I., Reichardt P., Sciot R., Stroobants S., van Glabbeke M., van Oosterom A., Demetri G.D., GIST consensus meeting panellists, Consensus meeting for the management of gastrointestinal stromal tumors, Report of the GIST Consensus Conference of 20-21 March 2004, under the auspices of ESMO, *Ann. Oncol.* 16(4) (2005) 566-578.

[38]: Blay J.Y., Landi B., Bonvalot S., Monges G., Ray-Coquard I., Duffaud F., Bui N.B., Bugat R., Chayvialle J.A., Rougier P., Bouche O., Bonichon F., Lassau N., Vanel D., Nordlinger B., Stoeckle E., Meeus P., Coindre J.M., Scoazec J.Y., Emile J.F., Ranchere D., Le Cesne A., Recommendations for the management of GIST patients, *Bull. Cancer.* 92(10) (2005) 907-918.

[39]: F. Collin et M. Gelly-Marty , M. Bui Nguyen Binh, J.M. Coindre / *Cancer/Radiothérapie* 10 (2006) 7–14

[40]: Lasota J., Dansonka-Mieszkowska A., Stachura T., Schneider- Stock R., Kallajoki M., Steigen S.E., Sarlomo-Rikala M., Boltze C., Kordek R., Roessner A., Stachura J., Miettinen M., Gastrointestinal stromal tumors with internal tandem duplications in 3' end of KIT juxtamembrane domain occur predominantly in stomach and generally seem to have a favorable course, *Mod. Pathol.* 16(12) (2003) 1257-1264.

[41]: Coindre J.M., Emile J.F., Monges G., Ranchere-Vince D., Scoazec J.Y., Gastrointestinal stromal tumors: definition, histological, immunohistochemical, and molecular features, and diagnostic strategy, *Ann. Pathol.* 25(5) (2005) 358-385.

[42]: Blay J.Y., Bonvalot S., Casali P., Choi H., Debiec-Richter M., Dei Tos A.P., Emile J.F., Gronchi A., Hogendoorn P.C., Joensuu H., Le Cesne A., McClure J., Maurel J., Nupponen N., Ray-Coquard I., Reichardt P., Sciot R., Stroobants S., van Glabbeke M., van Oosterom A., Demetri G.D., GIST consensus meeting panellists, Consensus meeting for the management of gastrointestinal stromal tumors, Report of the GIST Consensus Conference of 20-21 March 2004, under the auspices of ESMO, *Ann. Oncol.* 16(4) (2005) 566-578.

[43]: Coindre JM, Emile JF, Monges G, Rancher D, Scoazec JY. Tumeurs stromales gastrointestinales : définition, caractéristique histologiques immuno-histochimique et génétiques, stratégie diagnostique *ann Pathol* 2005 25 :358-85

[44]: Dei Tos AP. The reappraisal of gastrointestinal stromal tumors: from Stout to the KIT revolution. *Virchows Arch* 2003 ; 442 : 421-8.

[45]: Fletcher CD, Berman JJ, Corless C, Gorstein F, Lasota J, Longley BJ et al. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: A consensus approach. *Hum Pathol* 2002; 33 : 459-65.

[46]: Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors-definition, clinical, histological, immunohistochemical, and molecular genetic features and differential diagnosis. *Virchows Arch* 2001 ; 438 : 1-12.

[47]: Yamada Y, Kida M, Sakaguchi T, et al. A study on myogenic tumors of the gastrointestinal tract by endoscopic ultrasonographic. *Digestive Endosc* 1992;4:396-408.

[48]: Palazzo L, Landi B, Cellier C, et al. Endoscopic features predictive of benign and malignant gastrointestinal stromal cell tumors. *Gut* 2000;46:88-92.

[49]: Demetri GD, van Oosterom AT, Garrett CR, et al. Efficacy and safety of sunitinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumour after failure of imatinib: a randomised controlled trial. *Lancet.* 2006;368:1329-38

[50]: Miettinen M, Sobin LH, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors of the stomach: a clinicopathologic immunohistochemical, and molecular genetic study of 1765 cases with long-term follow-up. *Am J Surg Pathol* 2005 Jan;29(1):52-68.

[51]: Sekkate S, Kairouani M, Abahssain H, Serji B, Boutayeb S, Mrabti Hind et al. Tumeurs stromales gastro-intestinales. *La presse médicale* 2012 ; 41:917-26.

[52]: Fletcher CD, Berman JJ, Corless C, Gorstein F, Lasota J, Longley BJ, et al. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: A consensus approach. *Hum Pathol.* 2002;33:459-65.

[53]: Benesch M, Wardelmann E, Ferrari A, Brennan B, Verschuur A. Gastrointestinal stromal tumors (GIST) in children and adolescents: A Comprehensive review of the current literature. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 15; 53 (7):1171-9.

[54]: Miettinen M, Sobin LH, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors of the stomach: a clinicopathologic immunohistochemical, and molecular genetic study of 1765 cases with long-term follow-up. *Am J Surg Pathol* 2005; 29(1):52-68.