

UNIVERSITE SIDI MOHAMED BENABDELLAH

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques Sciences

Biologiques Appliquées et Santé

***L'étude immunohistochimique dans
les tumeurs rares***

Réalisé par :

- ALAOUI SOSSE Soukayna

Encadré par:

- Pr BENNIS Sanae (FMPF)
- Pr GUISSI Sanae (FSTF)

Soutenu le : 07/ 06/ 2018

Année universitaire :2017/2018

Devant le jury composé de :

- Pr GUISSI Sanae
- Pr BENNIS Sanae
- Pr BEKHTI Khadija

Remerciement

Tous d'abord je tiens à remercier Dieu le tout puissant, de m'avoir donné courage, santé, souffle et patience pour accomplir ce travail.

*J'adresse mes remerciements au chef du laboratoire d'oncogénétique : Mme le professeur **BENNIS Sanae**, Vous avez manifesté à mon égard une grande disponibilité et vous m'avez accueillie avec bienveillance et sympathie, que ce projet soit pour moi l'occasion de vous exprimer ma respectueuse considération et ma profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines et de vous témoigner ma gratitude*

*Je remercie également Mme le professeur **GUISSI Sanae** de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, de m'avoir encadrée et orientée durant toute la période de ce stage. Je vous remercie pour tout ce que vous m'avez apporté, pour votre patience, votre écoute, votre aide et vos précieux conseils professionnels ainsi que pour votre disponibilité et pour le temps que vous m'avez consacré.*

*Ma gratitude s'adresse également à Mme le Professeur **BEKHTI Khadija**. Que vous acceptiez de siéger parmi cet honorable jury est pour moi un grand honneur.*

Mes vifs remerciements s'adressent aussi à tout le personnel du Laboratoire, pour leur soutien, aide, enthousiasme et leurs conseils qui m'ont beaucoup aidé pour réaliser ce travail.

Je saisie l'occasion pour exprimer toute ma reconnaissance et ma gratitude à la direction et à l'ensemble du personnel administratif et professoral de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès (FSTF).

Avec l'expression de mon profond respect, mon admiration et ma reconnaissance à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie mon projet de fin d'études

***A Mes Chers parents**, mes biens aimés. Avant d'aller plus loin, et avant de dire quoi que ce soit, je vous réserve cette courte dédicace pour vous témoigner ma reconnaissance et mon étroit attachement à vous deux. Je vois également qu'il est de mon devoir de vous remercier pour votre soutien, aussi bien matériel que moral, qui m'a accompagné durant toutes mes années d'études. Vous étiez toujours présents à mes appels, vous avez répondu avec "oui" à mes exigences. Votre attachement à mon suivi m'a donné plus d'énergie pour persévérer et mener à bien ma mission.*

***A ma chère tante Malika**, Aucun mot ne pourrait exprimer ma gratitude pour toutes les choses que tu as faites pour moi, que ce soit tes sacrifices, tes prières, tes conseils, et spécialement ton soutien tout au long de mes études. J'espère que ce travail sera une source de fierté pour toi.*

***A Ma chère sœur et Mes chers frères** Je n'oublierai jamais l'aide que vous m'avez réservée, aussi bien matérielle que morale. Vous étiez tous derrière ma réussite dans ma vie estudiantine, vous m'avez poussée à faire des pas en avant par vos encouragements. Le temps est venu de vous exprimer mon affection et ma gratitude.*

***A Toutes mes chères amies et mes camarades.** Notre travail en coopération allait bon train et a donné des résultats louables, espérant qu'il se couronnera de succès dans les années à venir.*

***A Toute personne** qui a œuvré et participé à ma formation, je lui dis que je resterai reconnaissante à vie pour les efforts qu'elle a déployés dans mon intérêt.*

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

***Introduction*.....1**

Etude Bibliographique

***I. Généralités sur les tissus Mous*.....2**

***1. Définition*2**

***2. anatomie*.....2**

***II. Sarcome*.....3**

***1. Définition*.....3**

***1.1 Histoire naturelle de STM*.....3**

***2.. Epidémiologie*.....4**

***2.1 Incidence*.....4**

***2.2 Types histologiques des STM*.....4**

***2.3 Age et sexe*.....4**

***3. Classification histologique selon l’OMS*.....6**

***4. Les critères diagnostiques*.....9**

***4.1 TDM*.....9**

***4.2 IRM*.....9**

***4.3 La biopsie*.....9**

***4.4 IHC*.....9**

4.5 Biologie moléculaire.....	11
III. Les types des STM.....	12
1. Sarcome d'Ewing.....	12
2. Dermatofibrosarcome.....	12
IV. La prise en charge thérapeutique des STM.....	13
1. La chirurgie.....	13
1.1 Principe.....	13
2. Radiothérapie.....	13
2.1 Principe.....	14
3. Chimiothérapie.....	14
3.1 Principe.....	14

Matériel et méthodes

I. Examen histologique du tissu fixé.....	15
1. Fixation.....	15
2. Inclusion.....	16
3. Microtomie.....	18
4. Coloration.....	19
5. Montage	20
II. Immunohistochimie.....	21
1. Principe.....	21
2. Protocole	22

Résultats et discussion

Résultats.....	23
I. Epidémiologie.....	23
1. Age et type histologique.....	24
2. Sexe.....	24
II. Tumeurs du groupe PNET/Ewing.....	25
1. Age.....	25
2. Sexe.....	25

3. <i>IHC</i>	26
<i>III. Dermatofibrosarcome</i>	28
1. <i>Age</i>	28
2. <i>Sexe</i>	29
3. <i>IHC</i>	30
<i>Discussion</i>	33
<i>Conclusion</i>	35

Liste des abréviations

GIST :gastro intestinal stromaltumor

STM : les sarcomes des tissus mous

CHU : centre hospitalier universitaire

OMS : Organisation mondiale de la santé

IHC : l'immunohistochimie:

TDM : tomodensitométrie

IRM : l'imagerie par résonance magnétique

SE : sarcome d'ewing

DFS : le dermatofibrosarcome de Darier et Ferrand

HES : hématoxyline, éosine, safran

PBS : phosphate buffered saline

FISH : hybridation fluorescente in situ

H2O2 : eau oxygénée AES : 3-Amino-9Ethylcarbazole

Listes des figures :

Figure 1 : Tissus mous du corps

Figure 2 : Incidence de sarcome des tissus mous en fonction de l'âge en France.

Figure3 : une pièce de résection orientée.

Figure 4 : Fixation de la pièce

Figure 5 : Inclusion des fragments dans les cassettes.

Figure 6 : Histokinette

Figure 7 : Enrobage dans la paraffine

Figure 8 : Microtomie et étalement des coupes sur les lames.

Figure 9 : Lames montées et colorées

Figure 10 : La méthode immunoenzymatique indirecte

Figure 11 :Histogramme de la répartition des sarcomes selon l'âge et le type histologique

Figure 12 : Digramme de la répartition des sarcomes selon le sexe.

Figure 13 : histogramme de la répartition de sarcome d'Ewing selon l'âge.

Figure 14 : Diagramme de la répartition de Sarcome d'Ewing selon les sexe.

Figure15 : Expression membranaire intense du CD99 dans une tumeur du groupe PNET/Ewing (x250).

Figure16 : coloration HES montrant la prolifération diffuse des cellules rondes dans une tumeur du groupe PNET/Ewing (x400)

Figure17 : Répartition des cas selon les résultats de l'immunohistochimie

Figure 18 : histogramme de la répartition des DFS selon l'âge

Figure 19 : Diagramme de la répartition des DFS selon le sexe.

Figure 20 : Positivité intense et diffuse par le CD34.

Figure 21 : prolifération tumorale infiltrant le derme et l'hypoderme, d'architecture storiforme (HES x 100).

Figure 22 : Partie supérieure d'un dermatofibrome cellulaire, les cellules tumorales sont négatives pour CD117.

Figure23 : Répartition des cas selon les résultats de l'immunohistochimie

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification histologique selon l'OMS.

Tableau 2 : Sarcomes des tissus mous avec translocation spécifique.

Tableau 3 : Sarcomes pour lesquels l'immunohistochimie joue un rôle diagnostique déterminant.

Tableau 4 : Répartition du type histologique des STM selon le sexe

Introduction

Introduction

Les sarcomes des tissus mous sont des tumeurs malignes qui prennent naissance dans tout tissu conjonctif ou tissu de soutien du corps [1]. Ce sont des tumeurs rares, représentant moins de 1% des tumeurs malignes de l'adulte [2]. Elles ne représentent qu'une faible partie des tumeurs des tissus mous 1/200 [1,2]. Les sarcomes des tissus mous constituent un groupe très hétérogène, plus de 50 types histologiques différents ont été décrits [2], avec pour certains, des sous types histologiques, selon la dernière classification de l'organisation mondiale de la santé (OMS). Cette classification dite à l'origine « histo-génétique », fait référence à la différenciation en comparant la tumeur au type cellulaire qui lui ressemble le plus dans le tissu normal « classification analogique » [3, 4,5]. Elle a comme objectif, d'établir un pronostic aussi précis que possible, et en particulier définir les risques de récurrence locale et de métastase à distance et la prise de décision thérapeutique la plus adaptée [1,5]. Le mécanisme de la genèse des sarcomes des tissus mous reste inconnu, vu leur rareté relative qui rend difficile la détermination des facteurs oncogènes [5]. La difficulté de diagnostic des sarcomes des tissus mous est encore accrue par la rareté et le polymorphisme du syndrome tumoral [6,7], avec un risque ultime qui est de méconnaître initialement le diagnostic. Ceci peut entraîner la réalisation des gestes inadaptés, qui peuvent compromettre un traitement conservateur ultérieur, rendant ainsi leur prise en charge complexe et un pronostic très réservé [2]. Le traitement chirurgical reste la base du traitement curatif des sarcomes des tissus mous et la plaque tournante de l'arsenal thérapeutique [1,2]. Le but du traitement est d'obtenir une excision complète de la tumeur, tout en conservant le plus possible la fonction du membre atteint [8]. La connaissance du mode d'extension locale de ces tumeurs est indispensable pour comprendre les principes qui régissent l'excision chirurgicale [2,8]. La place de la radiothérapie et la chimiothérapie n'est pas encore codifiée et n'améliore en aucun cas la survie globale [2].

L'objectif de mon stage est de mettre en évidence les principaux marqueurs des tumeurs rares notamment les sarcomes et l'intérêt de leur utilisation dans le diagnostic / le pronostic.

Etude Bibliographique

I. Généralités sur les tissus mous.

1-Définition

- Les tissus mous représentent un ensemble d'éléments du corps humain. Ce sont des tissus non osseux et non composés d'épithélium, constituant les vaisseaux, le système nerveux périphérique, la graisse, le tissu fibreux et les muscles (lisses et striés). Le système nerveux central, le système lymphoïde et les viscères ne font donc pas partie des tissus mous. Les tissus mous peuvent être le siège de tumeurs bénignes ou malignes, bien que les tumeurs bénignes (lipomes, angiomes) soient rarement explorées.

2-Anatomie

- Il y a des tissus mous dans tout le corps. Ils comprennent les tissus qui relient, soutiennent ou entourent d'autres structures et organes. Les types de tissus mous regroupent entre autres, le tissu graisseux, les muscles, le tissu fibreux (tendons et ligaments), le tissu synovial (dans les articulations), les vaisseaux sanguins, les vaisseaux lymphatiques et les nerfs périphériques (figure 1).

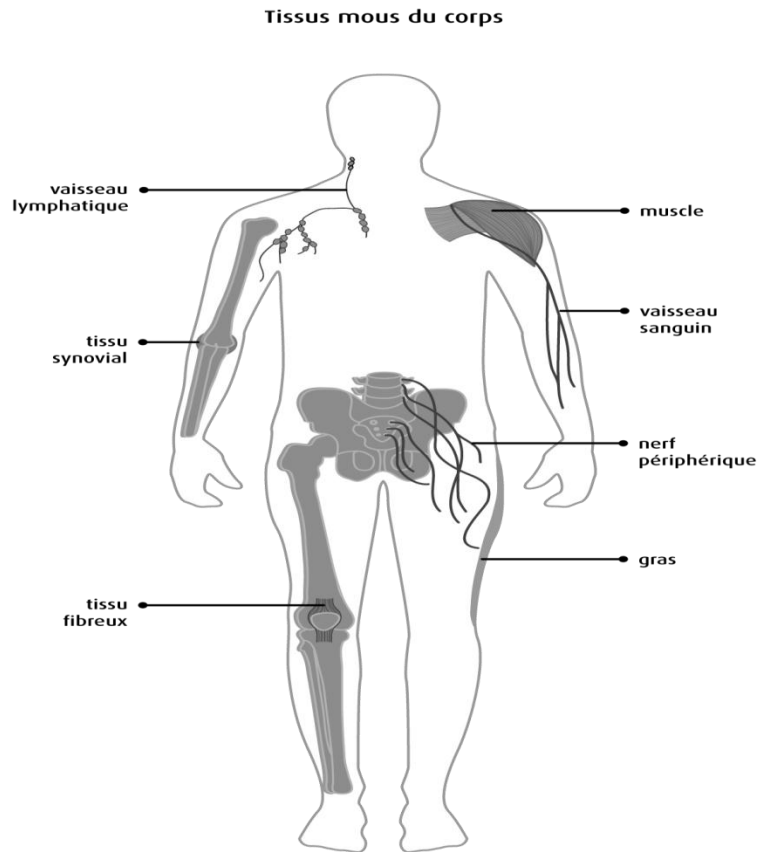


Figure 1 : Tissus mous du corps

II. Sarcome

1. Définition

• Les sarcomes sont des tumeurs malignes rares d'origine mésenchymateuse, développées à partir des tissus conjonctifs et de soutien, contrastant avec les carcinomes d'origine épithéliale qui sont plus fréquents et mieux connus [9]. Les sarcomes présentent une grande diversité pathologique avec plus de 70 sous-types histologiques et avec un nombre croissant de sous-types moléculaires. Ils se développent à tout âge, y compris chez l'enfant. Ils peuvent survenir anatomiquement de la tête aux pieds et ils sont d'une agressivité variable même au sein du même sous-type histologique [10,11]. On distingue trois catégories de sarcomes : les sarcomes osseux, les sarcomes viscéraux développés au sein d'un organe spécifique dont le représentant le plus emblématique est le gastro intestinal stromatumeur (GIST) et les sarcomes des tissus mous (STM) issus des tissus conjonctifs et de soutien extra-osseux, qui représentent environ 1 % des cancers de l'adulte [12-14].

1.1 Histoire naturelle des STM

•L'histoire naturelle des sarcomes des tissus mous a été décrite par Bowden et Boohar en 1958, puis complétée par Enneking et al. en 1981. La croissance de la tumeur se fait de façon centrifuge et entraîne au niveau de l'interface, avec le stroma périphérique une condensation périphérique appelée pseudo capsule. Cette zone de clivage est contaminée par des cellules tumorales et doit faire partie intégrante de la résection chirurgicale. La croissance tumorale est lente et la tumeur reste longtemps limitée dans une loge entourée de barrières anatomiques solides, appelée compartiment ; la tumeur est dite intracompartimentale [15-17].

2.Epidémiologie

2.1 Incidence

- L'incidence estimée des sarcomes des tissus mous (STM) est de 6 à 8 nouveaux cas par an pour 100 000 habitants soit 3000 à 4000 nouveaux cas par an en France [18,19]
- Au Maroc, les données sont très restreintes en ce qui concerne l'incidence des STM. Selon les données du Registre des Cancers de la Région du Grand Casablanca 2005-2007, les STM ne représentent que 1,4 % de tous les cancers [20].A Fès, selon une étude réalisée au sein du CHU Hassan II, les STM représentent 2,15% de l'ensemble des cancers diagnostiqués au service d'anatomopathologie [21].

2.2 Types histologiques

- Les léiomyosarcomes (incidence de 1,1/100 000), les histiocytofibromes malins (incidence de 0,84/100 000) et les liposarcomes (incidence de 0,32/100 000) sont les types histologiques les plus fréquents [22].

2.3 Age et sexe

- La répartition homme-femme dans plusieurs études est marquée par une légère prédominance masculine (57%) avec un sex-ratio de 1,3 [23-25]. Une étude réalisée entre 1982 et 2013, portant sur 10.000 patients admis à l'âge de 16 ans au MemorialSloanKettering Cancer Center, suggère qu'il y a un équilibre sexe ratio [26].

- Les sarcomes des tissus mous sont observés à tous les âges, mais l'incidence augmente avec l'âge : 50% de ces tumeurs sont observées après l'âge de 65 ans [27,28].

Par ailleurs, l'âge de survenue des sarcomes varie en fonction du type histologique. Ainsi, le rhabdomyosarcome embryonnaire survient quasi exclusivement chez l'enfant, le synoviosarcome atteint le plus souvent l'adulte jeune alors que le sarcome indifférencié à cellules pléomorphes, le liposarcome bien différencié, le léiomyosarcome et le myxofibrosarcome prédominent chez le sujet âgé [29].

Une représentation graphique de l'évolution de l'incidence des STM en fonction de l'âge, est illustrée dans la figure 2 :

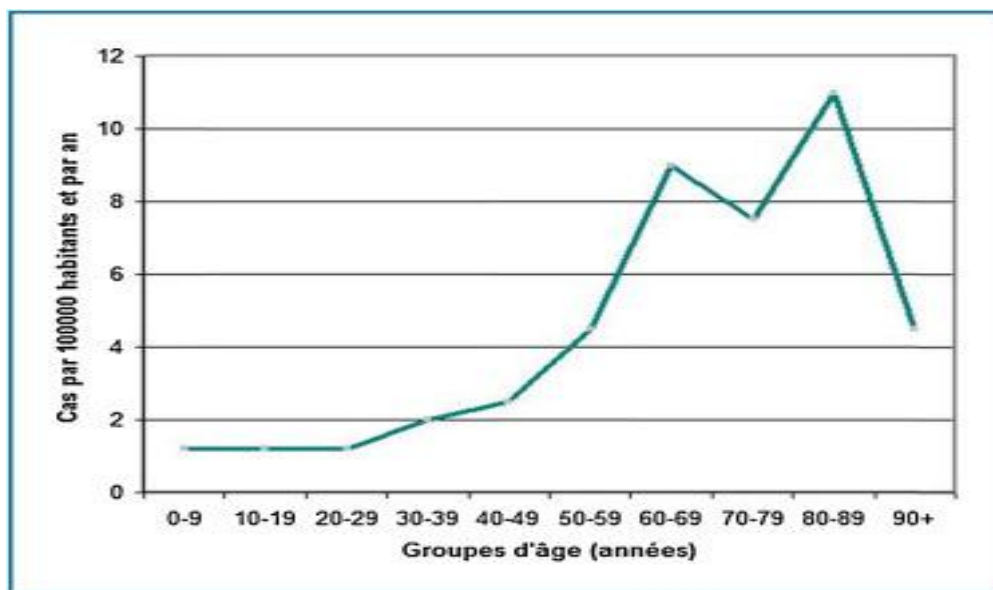


Figure 2 : Incidence de sarcome des tissus mous en fonction de l'âge en France.

- ❖ L'incidence des STM est faible (1 cas par 100000 habitants) dans la tranche d'âge 0-25ans mais elle augmente pour le groupe d'âge entre 25-65ans où elle atteint 9cas par 100000 habitants. Cette incidence baisse légèrement entre 65 et 75ans pour évoluer jusqu'à 11cas par 100000 habitants. A partir de 85ans l'incidence diminue.

La tranche d'âge la plus susceptible de développer un sarcome est celle allant de 65 à 85 ans.

3. Classification histologique selon l’OMS (2013)

- La classification histologique de référence des STM est celle de l’OMS qui a été récemment mise à jour [30]. Elle répertorie les tumeurs bénignes et malignes des tissus mous en 12 grandes classes (Tableau 1), secondairement subdivisées en 113 sous-types histologiques [30].

Cette classification repose sur des arguments histologiques obtenus en microscopie optique avec un complément d’analyse immunohistochimique.

Tableau1. Classification histologique selon l’OMS.

<i>Tumeurs adipeuses</i>
<i>Tumeurs fibroblastiques/myofibroblastiques</i>
<i>Tumeurs fibrohistiocytaires</i>
<i>Tumeurs musculaires lisses</i>
<i>Tumeurs péricytaires (périvasculaires)</i>
<i>Tumeurs musculaires striées</i>
<i>Tumeurs vasculaires</i>
<i>Tumeurs chondro-osseuses</i>
<i>Gastro-intestinal stromal tumor (GIST)</i>
<i>Tumeur des gaines nerveuses</i>
<i>Tumeurs à différenciation incertaine</i>
<i>Sarcomes inclassés et indifférenciés</i>

-
- Pour certains sarcomes où aucune ligne de différenciation n'est clairement identifiable, la biologie moléculaire permet de faire le tri car des anomalies moléculaires spécifiques ont été caractérisées dans presque la moitié des sarcomes qui constituent des marqueurs d'identification et permettant une classification objective et reproductible (Tableau 2) [31,32]. On peut actuellement classer les sarcomes en cinq grandes catégories moléculaires :
 - Les sarcomes avec mutations activatrices : Il s'agit des tumeurs stromales du tube digestif ou GIST (gastro-intestinal stromaltumor) qui présentent des mutations activatrices des gènes KIT ou PDGFRA et constituent le modèle moléculaire pour l'utilisation d'une thérapeutique ciblée efficace dans les tumeurs solides [33].
 - Les sarcomes avec mutations inhibitrices : Il s'agit principalement de la tumeur rhabdoïde maligne avec mutation inactivatrice du gène INI1.
La tumeur rhabdoïde maligne extrarénale touche surtout l'enfant et le sujet jeune.
 - Les sarcomes avec translocations : Les sarcomes avec translocation réciproque spécifique représentent environ 10 à 15 % de l'ensemble des sarcomes. Les plus fréquents sont le dermatofibrosarcome protubérant de Darier et Ferrand, le liposarcome myxoïde, le sarcome d'Ewing et le synovialosarcome.
 - Les sarcomes avec amplifications simples : Il s'agit principalement des tumeurs adipeuses atypiques ou liposarcomes bien différenciés, des liposarcomes dédifférenciés [34] et plus accessoirement du sarcome intimal (sarcome peu différencié des gros vaisseaux) et de l'ostéosarcome parostéal.
 - Les sarcomes avec anomalies génomiques complexes : Cinquante à 60 % des sarcomes montrent un profil génomique complexe avec de nombreux gains et pertes géniques difficiles à catégoriser [35]. Ces tumeurs sont principalement représentées par des léiomyosarcomes, des myxofibrosarcomes, des liposarcomes pléomorphes, des rhabdomyosarcomes pléomorphes et des sarcomes peu différenciés, anciennement

dénommés histiocytofibromes malins pléomorphes. Elles surviennent le plus souvent chez l'adulte après 50 ans et sont constituées, sur le plan histologique, de cellules fusiformes et surtout pléomorphes.

Tableau2. Sarcomes des tissus mous avec translocation spécifique.

<i>Sarcome d'Ewing</i>	<i>t(11;22);t(21;22)</i>
<i>Synoviosarcome</i>	<i>t(X;18)</i>
<i>Rhabdomyosarcome alvéolaire</i>	<i>t(2;13);t(1;13)</i>
<i>Liposarcome myxoïde</i>	<i>t(12;16);t(12;22)</i>
<i>Chondrosarcome myxoïde</i>	<i>t(9;22)</i>
<i>Sarcome à cellules claires</i>	<i>t(12;22)</i>
<i>Sarcome fibromyxoïde</i>	<i>t(7;16);t(11;16)</i>
<i>Tumeur desmoplastique à petites cellules rondes</i>	<i>t(11;22)</i>
<i>Fibrosarcome infantile</i>	<i>t(12;15)</i>
<i>Sarcome alvéolaire des parties molles</i>	<i>t(X;17)</i>
<i>Tumeur myofibroblastique inflammatoire</i>	<i>t(2;19);t(1;2)</i>
<i>Histiocytofibromeangiomatoïde</i>	<i>t(12;16);t(12;22)</i>

4. Les critères diagnostiques des sarcomes des tissus mous

4.1 TDM

- La TDM présente peu d'intérêt dans le diagnostic des sarcomes des tissus mous, elle n'est utilisée dans le bilan local que si l'imagerie par résonance magnétique (IRM) n'est pas disponible, ou contre-indiquée[36, 37].

4.2 IRM

- C'est la méthode principale d'imagerie des tumeurs malignes des parties molles, Elle a un intérêt dans la description anatomique de la lésion et dans sa prédiction d'opérabilité, sans oublier sa grande valeur dans l'évaluation de la chimiothérapie préopératoire,

4.3 La biopsie

- Si une tumeur superficielle de moins de 3 cm (voire même 2 cm pour certaines équipes) peut faire l'objet d'une biopsie exérèse, il est indispensable pour toute tumeur plus volumineuse ou profonde, sous-aponévrotique, de pratiquer d'abord une biopsie à visée diagnostique.
- Le rôle de la biopsie est de fournir un diagnostic de malignité, de typer la tumeur, d'établir le grade et la surveillance après traitement [38 ,39].

4.4 L'IHC

- Elle est actuellement la technique la plus importante Elle est surtout utile pour confirmer un type de sarcome suspecté sur la morphologie, mais sa contribution dépend du type histologique envisagé [40]
- Les types de sarcomes dont l'immunohistochimie joue un rôle diagnostique essentiel sont résumés dans le tableau 3 :

Tableau 3. Sarcomes pour lesquels l'immunohistochimie joue un rôle diagnostique .

<i>Types de tumeurs</i>	<i>Anticorps principaux</i>
<i>Liposarcomes bien différenciés ou dédifférenciés</i>	<i>MDM2</i> <i>CDK4</i>
<i>Rhabdomyosarcomes</i>	<i>Myogénine</i>
<i>GIST</i>	<i>CD117</i> <i>CD34</i>
<i>Angiosarcomes</i>	<i>CD31</i> <i>CD34</i> <i>HHV8</i>
<i>Sarcomes synoviaux</i>	<i>Cytokératines</i> <i>EMA</i> <i>CD34 (toujours négatif)</i>
<i>Sarcome épithélioïde</i>	<i>Cytokératines</i> <i>EMA</i> <i>CD34</i>
<i>Sarcome à cellules claires</i>	<i>PS100</i> <i>HMB 45</i> <i>Melan-A</i>
<i>Sarcomes à cellules rondes</i>	<i>CD99</i>

4.5 La biologie moléculaire

- En pratique de routine, les tests moléculaires sont utiles et parfois indispensables au diagnostic dans trois situations principales :

4.5.1 Distinguer une tumeur bénigne d'un sarcome

- La biologie moléculaire permet dans certaines situations de trancher entre une tumeur bénigne et maligne (particulièrement sur microbiopsies). Ainsi, l'identification d'une amplification du gène MDM2 par FISH permet de distinguer une tumeur adipeuse atypique/liposarcome bien différencié d'un lipome [41]. La mise en évidence d'une mutation de l'exon 3 du gène CTNNB1 par séquençage, permet de distinguer une tumeur desmoïde d'un processus réactionnel/cicatriciel [42]. L'identification d'une amplification du gène MYC par FISH permet de distinguer un angiosarcome en territoire irradié d'une lésion vasculaire atypique [43].

4.5.2 identifier un type spécifique de sarcome

- Dans les sarcomes à cellules rondes, en particulier pédiatrique, l'utilisation de la biologie moléculaire est indispensable pour différencier un sarcome d'Ewing, une tumeur desmoplastique à cellules rondes, un rhabdomyosarcome alvéolaire, un synoviosarcome peu différencié et, éventuellement, un liposarcome à cellules rondes ou un chondrosarcome mésenchymateux [44].

4.5.3 affirmer un diagnostic face à des formes cliniques et histologiques inhabituelles

- L'utilisation de la biologie moléculaire de manière de plus en plus systématique permet de poser un diagnostic formel dans un contexte inattendu et différent de la présentation clinique classique : un diagnostic de sarcome d'Ewing chez un sujet âgé, un sarcome d'Ewing de localisation inhabituelle (peau, dure-mère...) ou un diagnostic de synoviosarcome au niveau d'un viscère.

III. Les types des STM

1. Sarcome d'Ewing

- Le S.Ese caractérise par le développement d'une tumeur maligne au niveau des os et des tissus mous. Cette tumeur possède la caractéristique d'être à fort potentiel métastatique. La propagation de cellules tumorales au sein de l'ensemble de l'organisme est souvent recensée dans cette pathologie. Il s'agit d'une maladie rare touchant plus généralement les enfants. Son incidence s'élève à 1/ 312 500 enfants de moins de 15 ans. La tranche d'âge la plus impactée par le développement de cette forme tumorale se situe entre 5 et 30 ans avec une incidence d'autant plus importante entre 12 et 18 ans [45].

2-Dermatofibrosarcome

- DFS est une tumeur cutanée mésoenchymateuse à développement intradermique, décrite pour la première fois par Taylor [46] comme une tumeur sarcomateuse. C'est une tumeur, située entre le pôle de bénignité très fréquent et inoffensif fibrome cutané et le pôle de malignité fibrosarcome cutané vrai. Sa transformation sarcomateuse franchement maligne avec métastase est exceptionnelle. La fréquence de cette tumeur est non négligeable dans les pays africains [47].

IV. La prise en charge des STM

- L'objectif du traitement est d'assurer le contrôle local et surtout le risque de diffusion à distance [48]. La majorité des patients décèdent d'évolution métastatiques surtout de localisation pulmonaire [49].

1-La chirurgie

1.1 Principe

- Le traitement chirurgical reste la base du traitement curatif des sarcomes des tissus mous et la plaque tournante de l'arsenal thérapeutique[48,50].
- La connaissance du mode d'extension locale des sarcomes des tissus mous est indispensable pour comprendre les principes qui régissent l'exérèse chirurgicale [50,51].
- ✓ Le geste chirurgical consiste en une exérèse extracompartimentale avec marges de résection saines.



Figure 4 : une pièce de résection orientée.

2-La radiothérapie

- La radiothérapie constitue un standard après la chirurgie et améliore le contrôle local, en diminuant significativement le risque de récurrence locale en particulier pour les sarcomes des tissus mous de haut grade [51]. L'adjonction d'une radiothérapie après la chirurgie inadéquate peut améliorer le contrôle local, mais sans pouvoir attendre celui obtenu après une chirurgie adéquate. Il faut systématiquement discuter en milieu spécialisé une reprise d'exérèse.

2.1 Principe

- Cette modalité de traitement repose essentiellement sur la contention du membre, une simulation virtuelle ou avec scanner de contrôle qui permettra de contourner le volume tumoral (tumeur, lit opératoire, cicatrice). Le volume irradié comporte, pour un membre l'ensemble de la cicatrice et la totalité de la loge musculaire concernée. Pour le tronc, il comporte la cicatrice et le lit opératoire avec une marge de 5 cm. La dosimétrie doit être informatisée (coupes multiples) avec un repérage des volumes cibles et des organes et l'utilisation des photons et couches ou collimateurs mutilâmes[52-54].

3-Chimiothérapie

3.1 Principe

- Son efficacité sur les sarcomes des tissus mous n'est pas encore démontrée, mais certaines tumeurs ont des sensibilités importantes. Elle est habituelle dans les sarcomes des tissus mous de haut grade de malignité, en complément de la chirurgie [51,55].

Matériel et méthodes

- Dans le cas des sarcomes, le matériel biologique correspond le plus souvent à une biopsie réalisée sur le nodule tumoral, situé dans la pièce d'exérèse chirurgicale. Les échantillons destinés au laboratoire d'anatomie pathologique doivent être placés rapidement dans une solution de fixation et transportés au laboratoire d'oncogénétique. L'étude est réalisée sur 58 patients présentant un sarcome, colligés au sein de l'Unité de Génétique Médicale et d'Oncogénétique du CHU de Fès.

I. Examen histologique sur tissu fixé

- 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.

I.1. La fixation

C'est une étape essentielle dans la préparation tissulaire qui permet 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. Toute fixation défectueuse rend l'étude anatomopathologique difficile voire impossible. Le choix du fixateur dépend de la nature du tissu à couper, le laboratoire d'anatomie pathologique utilise le formol à 10% dont la durée d'action et le volume sont proportionnels à la taille de la pièce (Généralement le volume du fixateur représente environ 10 fois le volume de la pièce) (Figure 4).



Figure 4 : Fixation de la pièce

Un examen macroscopique est d'abord effectué, au cours duquel un descriptif détaillé de la biopsie ou de la pièce est établi (taille mesurée dans les 3 dimensions, couleur, forme, aspect de la coupe,...etc.). Après cet examen macroscopique, le pathologiste incube les fragments dans des cassettes identifiées à l'aide d'un crayon pour subir par la suite une inclusion dans la paraffine (Figure5)



Figure 5 : Inclusion des fragments dans les cassettes.

I.2. L'inclusion

- Elle a pour but d'enfermer le prélèvement dans une substance qui le pénètre et

l'infiltrer. 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, 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 6). Il peut se charger de toutes les phases conduisant à la mise à disposition d'un bloc de paraffine prêt à être microtomisé.



Figure 6 :Histokinette.

L'étape de circulation consiste à faire séjourner les pièces dans une série de liquides intermédiaires.

- Fixation dans 2 bains de Formol 10% (30 min × 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 × 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 3 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. L'inclusion ne se fera de façon satisfaisante que si la pièce à couper ne contient ni eau ni solvant intermédiaire (alcool) (Figure7).

Le bloc devient plus facile à manipuler que le tissu seul et il peut s'attacher à la pince porteobjet du microtome sans briser la pièce



Figure 7 : Enrobage dans la paraffine.

I.3. Microtomie

Après montage du bloc dans le porte-bloc du microtome destiné à produire de fines tranches (4 μ m), la réalisation des rubans est effectuée. 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 (Figure 8).



Figure 8 : Microtomie et étalement des coupes sur les lames.

I.4. Coloration

- La coloration histologique permet de différencier finement tous les éléments d'un tissu. Elle consiste à accentuer les contrastes pour mieux reconnaître les différents éléments de la préparation. 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 se charge de colorer les fibres de collagène en jaune. Les lames doivent être préparées afin de pouvoir recevoir les colorants.
- La première étape de déparaffinage consiste à enlever la paraffine de la coupe tissulaire pour que les colorants puissent pénétrer le tissu et le colorer. Pour ce, les lames contenant les coupes tissulaires sont passées à l'étuve à 58-60°C pendant toute une nuit, elles sont traitées par deux bains successifs de toluène pour une durée de 5min chacun. Ensuite, le tissu est mis dans des bains d'éthanol à concentration croissante (70%, 80% et 100%) durant 5min pour chaque bain afin de retirer le toluène du tissu. Puis, un lavage pendant 1min à l'eau courante est réalisé. L'étape de déparaffinage est alors terminée et nous passons à l'application des différentes colorations. Les lames sont alors immergées dans un bain d'hématoxyline pendant 5min puis lavées à l'eau courante pendant 1min avant un passage dans des bains d'alcool chlorhydrique et d'alcool ammoniacal.

Après un rinçage à l'eau courante, les lames sont mises dans un bain d'éosine à 2% pendant 5min. Ensuite, un passage rapide dans une succession de bains

d'alcool à concentrations croissantes est réalisé. Les lames passent alors dans un bain de safran pendant 10 min avant de passer dans un bain d'éthanol-méthanol pendant 1min puis dans un bain de toluène. Une fois la coloration terminée, et à l'aide d'un milieu de montage, une lamelle de verre est fixée sur la coupe tissulaire. Le montage permet une protection mécanique des coupes, ainsi qu'une protection chimique des colorants.

I.5. Le montage

- Cette opération consiste, une fois la coloration terminée, à fixer à l'aide d'un milieu de montage, une lamelle de verre sur la coupe tissulaire. Le montage permet une protection mécanique des coupes, ainsi qu'une protection chimique des colorants (Figure 9)



Figure9 : Lames montées et colorées :

- La lame colorée est ensuite transmise au médecin anatomopathologiste de la plateforme pour identifier une zone contenant plus que 50% de cellules tumorales. La zone d'intérêt est cerclée avec un marqueur et séparée du reste de l'échantillon par macrodissection afin de s'assurer d'une proportion de cellules tumorales supérieure à 50% et de réduire ainsi la contamination par les cellules normales. S'il y a plus de 50% de cellules tumorales, le test est considéré comme fiable. Dans le cas contraire, les cellules saines peuvent interférer et il y a un risque de conclure à un résultat faux négatif. Les lames préparées sont ensuite étudiées par l'immunohistochimie

II. L'immunohistochimie

1. Principe

- Le but de l'immunohistochimie est de mettre en évidence certaines protéines cellulaires, qu'elles soient cytoplasmiques, membranaires ou nucléaires, spécifiques pour un type ou une fonction cellulaire, à l'aide d'une réaction antigène – anticorps, le complexe formé étant rendu visible, donc localisable, par un marqueur coloré. Le réactif principal est un anticorps spécifiquement dirigé contre ce motif. Un traceur fixé directement ou indirectement sur l'anticorps permet de détecter la liaison entre l'anticorps et sa cible. L'immunohistochimie permet ainsi d'analyser et de localiser, par visualisation directe, les composants cellulaires et tissulaires, et d'en déduire des fonctionnalités potentielles



Figure 10 : La méthode immunoenzymatique indirecte

L'immunohistochimie est largement utilisée pour le diagnostic et/ou le suivi des cancers par détection de cellules anormales telles que celles trouvées dans les tumeurs cancéreuses. Les anticorps primaires utilisés dans la réalisation de ce travail sont :

- Anti CD117 : c-Kit (DFS)
- Anti CD34 glycoprotéine transmembranaire (DFS)
- Anti CD99 :MIC-2(SE)

2. Protocole expérimental de l'immunohistochimie manuelle

- La préparation des lames pour l'IHC commence par le déparaffinage. Cette opération nécessite le passage des lames une nuit à l'étuve à 60°C. Les lames sont déparaffinées grâce à 2 bains de toluène absolu (10 min chacun) et 2 bains d'alcool absolu (5 min chacun). Un rinçage à l'eau courante est effectué pendant 10 min. Ensuite, après avoir égoutté les lames, elles sont passées dans H₂O₂ à 3% pendant 10 min. Plusieurs tissus contiennent des peroxydases endogènes qui peuvent donner des réactions non spécifiques, les tissus sont donc traités par H₂O₂ puis rincés avec l'eau courante. Après cette opération, ils sont placés dans le tampon citrate bouillant (95°C) pendant 25 min. Le démasquage antigénique permet aux anticorps d'accéder aux antigènes en rompant les liaisons covalentes et intramoléculaires entre les protéines, les glycoprotéines, les polysaccharides et les acides nucléiques. Les lames sont à nouveau rincées avec du PBS pendant 5 min. Elles sont par la suite égouttées et les fragments sont entourés par le PAP-PEN. Le bloquant est déposé sur le fragment (lait écrémé 0,4%) pendant 15 min dans une chambre humide, le surplus du bloquant est enlevé en secouant la lame. L'anticorps primaire est appliqué pendant 1 heure. Les lames sont rincées 2 fois pendant 10 min dans du PBS. L'anticorps secondaire est appliqué pendant 15 min et les lames sont ensuite rincées dans 2 bains de PBS, 5 min chacun. La peroxydase est appliquée pendant 15 min et les lames sont ensuite rincées dans 2 bains de PBS pendant 10 min. Le substrat chromogène fraîchement préparé (2 gouttes+5ml d'AEC) est appliqué pendant 15 min. Un rinçage à l'eau courante est effectué suivi par un égouttage des lames. L'hématoxyline est appliquée sur chaque lame pendant 4 min afin de colorer les noyaux. Les lames sont rincées à l'eau courante et sont passées rapidement dans du carbonate de lithium saturé. Cette opération est suivie d'un rinçage à l'eau de robinet. Le montage des lames se fait finalement dans un milieu de montage (2 à 3 gouttes) avant d'être lues par les anatomopathologistes à l'aide d'un microscope optique.

Résultats et discussion

Résultats

Notre étude a porté sur 58 patients atteints de sarcome des tissus mous. Deux types histologiques ont fait l'objet de cette étude : le sarcome d'Ewing et le dermatofibrosarcome. Les résultats sont répartis selon le sexe, l'âge ainsi que selon le type histologique du patient.

I. Epidémiologie

1. Répartition selon l'âge et le type histologique

- Dans notre série, la moyenne d'âge de patients est de 27 ans, avec des extrêmes d'âge allant de 6 ans à 62 ans (voir le diagramme 1).

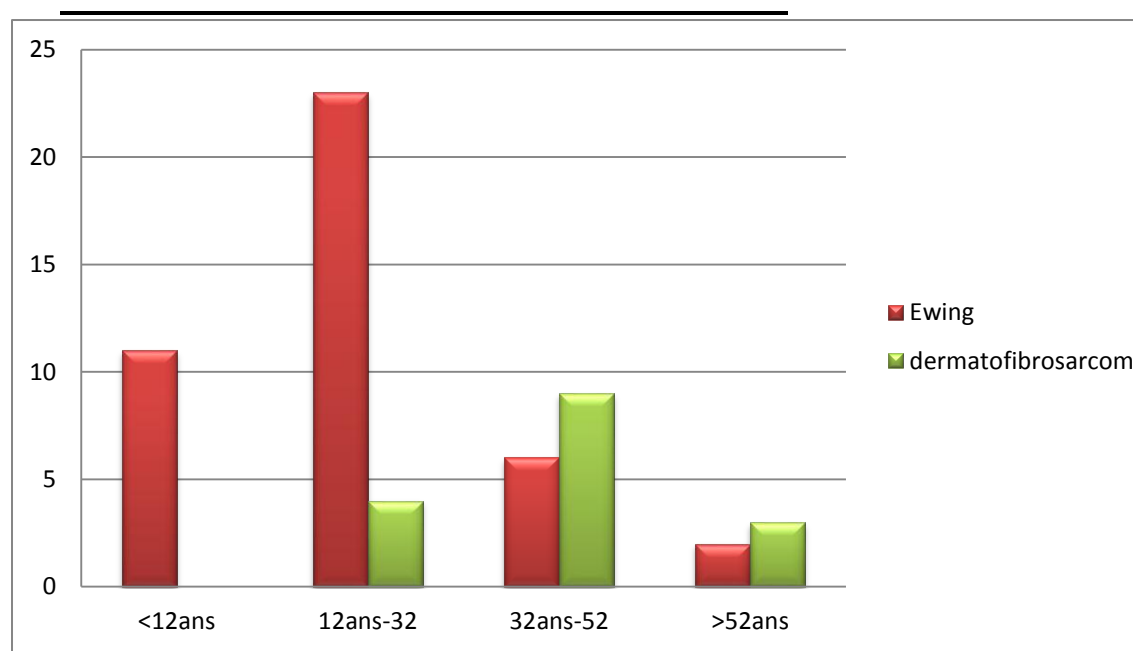


Figure 11 : Histogramme de la répartition des sarcomes selon l'âge et le type histologique.

L'historgramme de la répartition des sarcomes selon l'âge et le type histologique, montre que la tranche d'âge qui domine est celle entre 12ans-32 ans avec une

prédominance de sarcome d'Ewing.

- Les patients ayant moins de 12 ans sont tous touchés par le sarcome d'Ewing.

Pour la tranche d'âge entre 32ans-52 ans ainsi que celle supérieure à 52 ans, une prédominance du dermatofibrosarcome est remarquée.

• 2. Répartition des sarcomes selon le sexe et le type histologique

- L'étude de notre série révèle une prédominance masculine avec 56% des hommes et 44 % des femmes (voir le diagramme 2). Le sexe ratio = Hommes/Femmes = 35/28 =1,25.

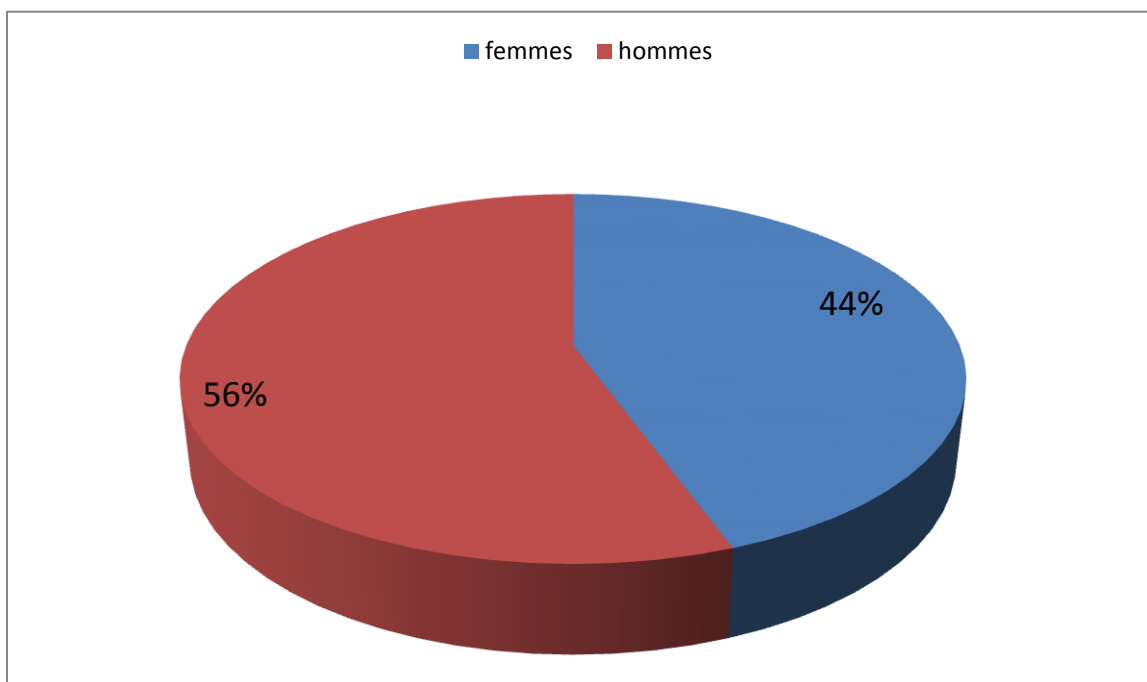


Figure 12 : Diagramme de la répartition des sarcomes selon le sexe.

La répartition du type histologique des STM selon le sexe est représentée dans le tableau 4.

Tableau4. Répartition du type histologique des STM selon le sexe

<u>Type histologique</u>	<u>Nombre de cas</u>	
	<u>femmes</u>	<u>hommes</u>
<u>Sarcome d'Ewing</u>	<u>14</u>	<u>28</u>
<u>dermatofibrosarcome</u>	<u>9</u>	<u>7</u>

- Cette répartition montre une prédominance masculine pour le sarcome d'Ewing, et une prédominance féminine pour le dermatofibrosarcome.

II. Tumeurs du groupe PNET/Ewing

- Notre étude a été réalisée sur 42 patients atteints de sarcome d'Ewing

1. Répartition de sarcome d'Ewing selon l'âge

La répartition de sarcome d'Ewing selon l'âge est illustrée dans l'histogramme dans la figure 3.

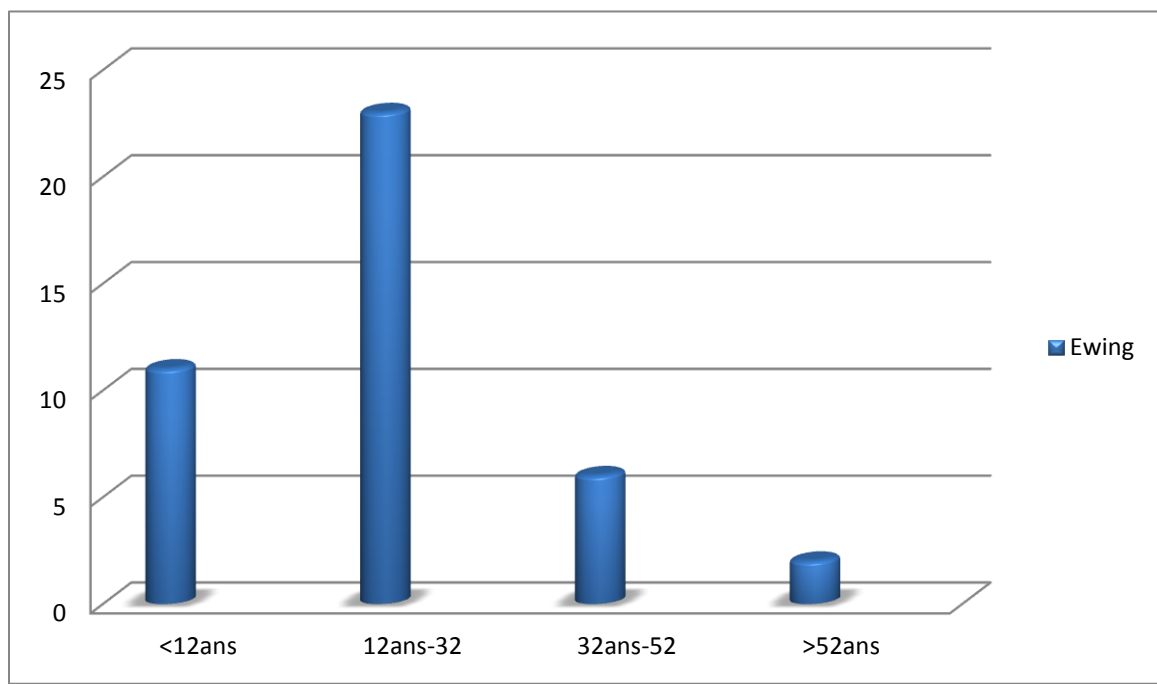


Figure 13 : histogramme de la répartition de sarcome d'Ewing selon l'âge.

- L'histogramme ci-dessus montre que pour le sarcome d'Ewing, la tranche d'âge la plus touchée est celle entre 12ans-32 ans

2. Répartition de sarcome d'Ewing selon le sexe

- Cette étude montre une prédominance masculine avec 67% des hommes et 33% de femmes (voir le diagramme ci-dessous).

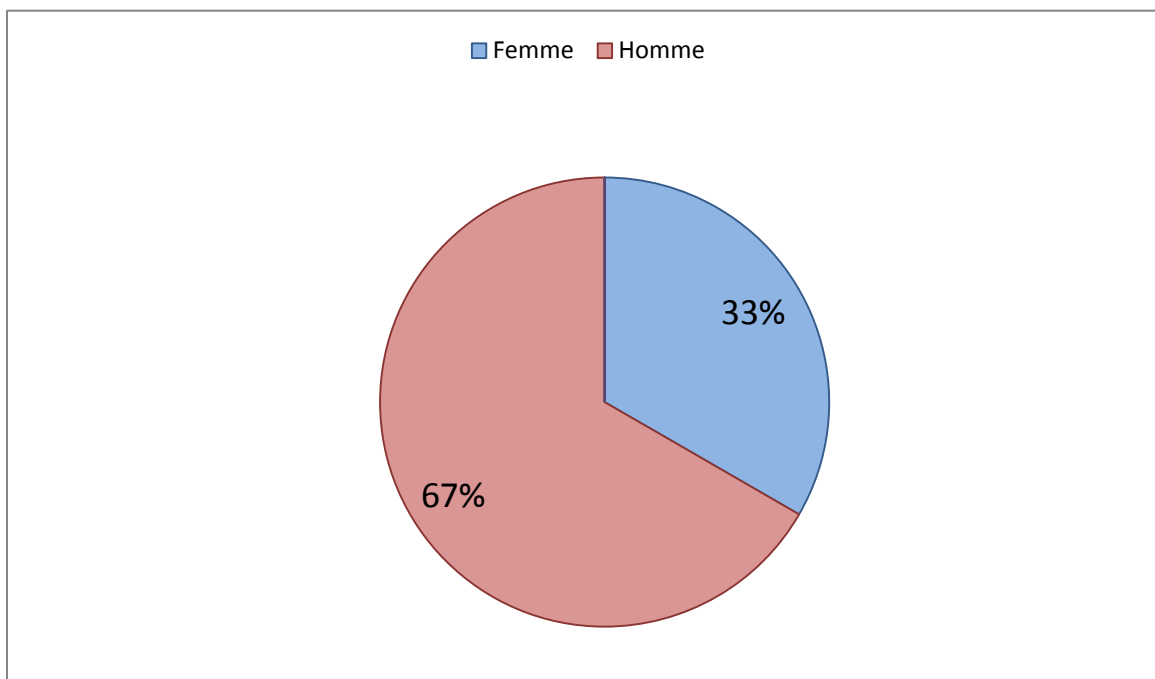


Figure 14 : Diagramme de la répartition de Sarcome d'Ewing selon les sexe.

3. Immunohistochimie

- Une étude immunohistochimique a été réalisée pour les 42 patients.

3.1 CD99 : Le marquage positif obtenu avec l'anticorps anti- CD99 est illustré dans la figure 12, qui montre une expression membranaire intense de CD99 dans une tumeur du groupe PNET/Ewing.

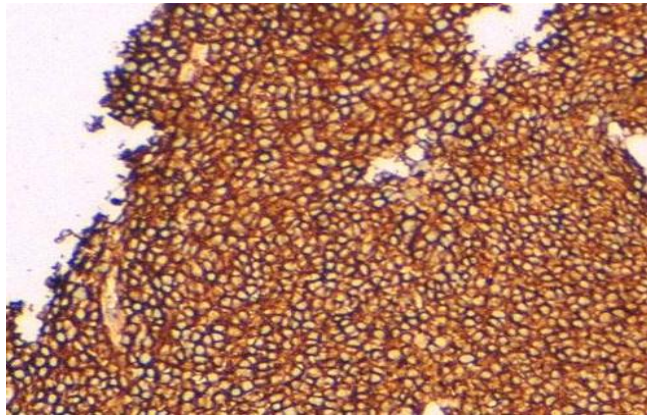


Figure15 : expression membranaire intense du CD99 dans une tumeur du groupe PNET/Ewing (x250).

- L'utilisation de la coloration HES, montre l'aspect cellulaire rond caractéristique d'une tumeur du groupe PNET/ Ewing. La morphologie de ces cellules tumorales (rondes) est illustrée dans la figure 16

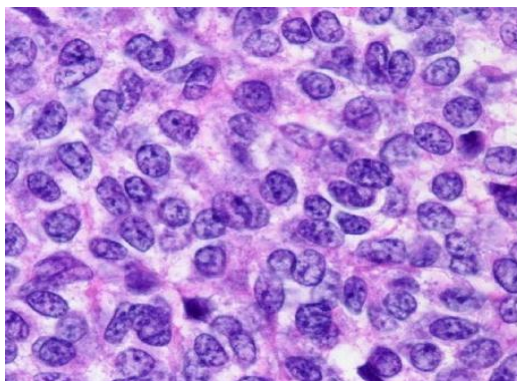


Figure16 : coloration HES montrant la prolifération diffuse des cellules rondes dans une tumeur du groupe PNET/Ewing (x400)

Une répartition des cas selon les résultats de l'immunohistochimie est représentée dans la figure suivante.

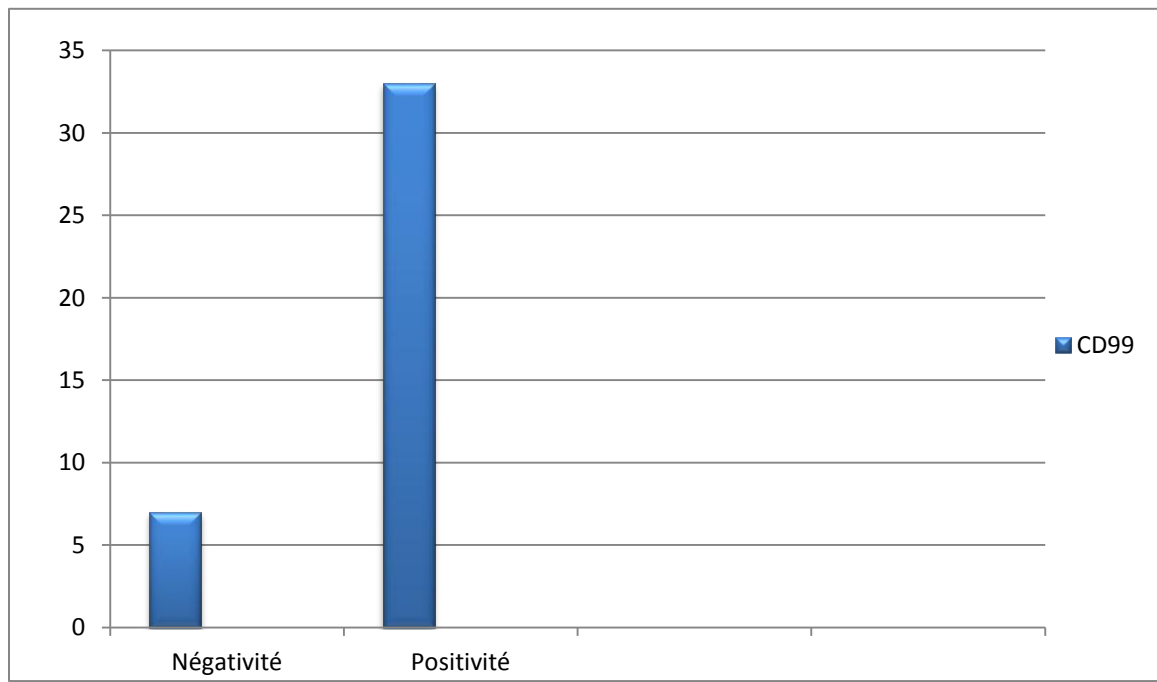


Figure17 : Répartition des cas selon les résultats de L'immunohistochimie.

- Un marquage positif avec l'anticorps anti- CD 99 a été obtenu dans 33 cas (78,5%). 7 montrés un marquage négatif (16,6 %) (Figure 22).
- 2 cas (4,7 %) ne sont pas enregistrés (données manquantes).

III.Dermatofibrosarcomes :

- Notre étude a été réalisée sur 16 patients atteints de DRF.

1. Répartition de dermatofibrosarcome selon l'âge :

Le résultat de la répartition de dermatofibrosarcome selon l'âge est représenté

dans la figure ci-dessous.

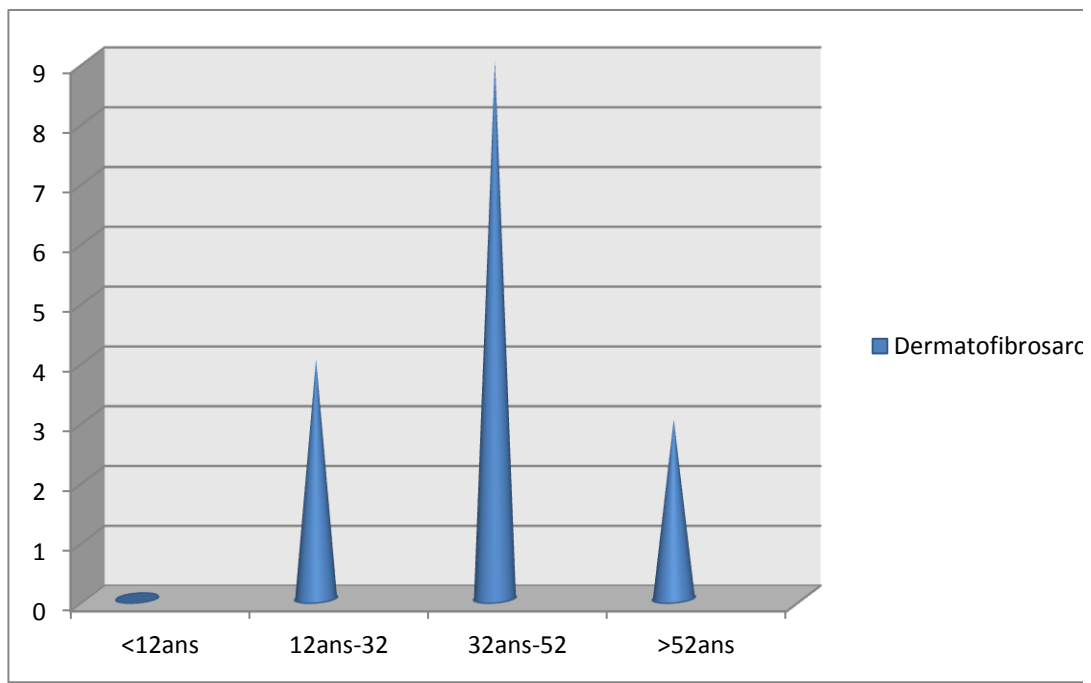


Figure 18 : histogramme de la répartition des DFS selon l'âge

L'histogramme montre que la tranche d'âge la plus touchée par ce type de sarcome est celle entre 32ans-52 ans (adultes).

2. Répartition des DFS selon le sexe :

La répartition des DFS selon le sexe est présentée par le diagramme suivant.

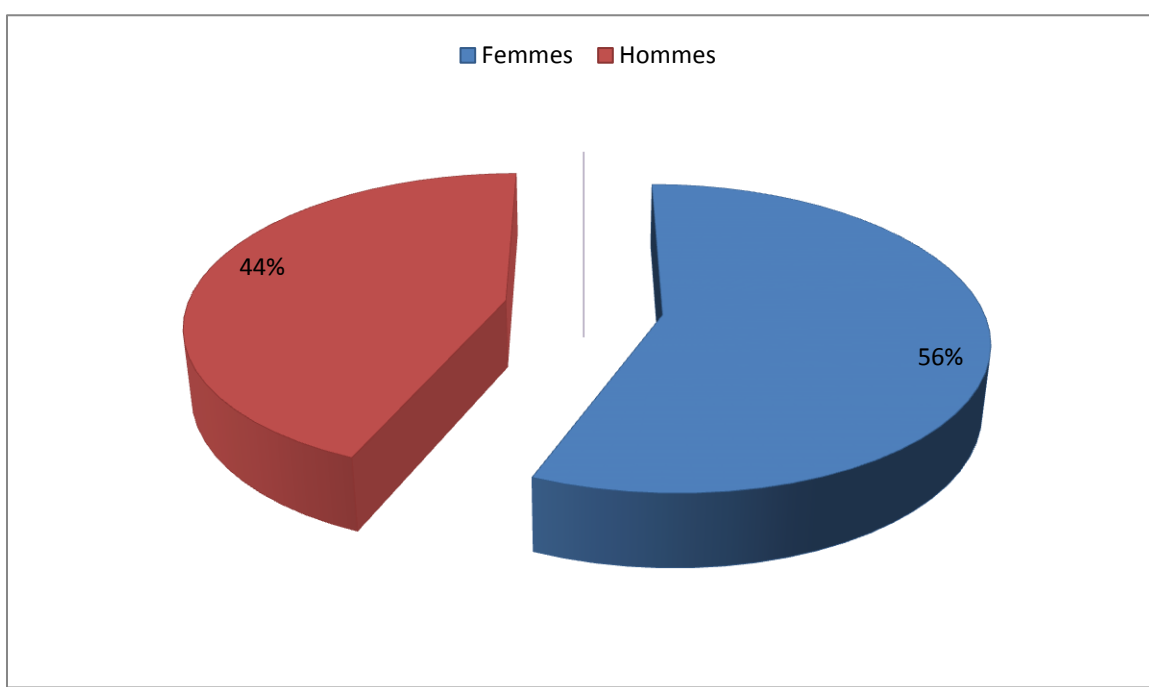


Figure 19 : Diagramme de la répartition des DFS selon le sexe.

- Dans ce type de sarcome et selon notre série d'étude une légère prédominance féminine (56%) est remarquée.

3. Immunohistochimie

- Une étude immunohistochimique a été réalisée chez 16 patients.

3.1 CD34 : La positivité du marquage obtenue par l'anticorps anti – CD34

est visible sur la figure 20.

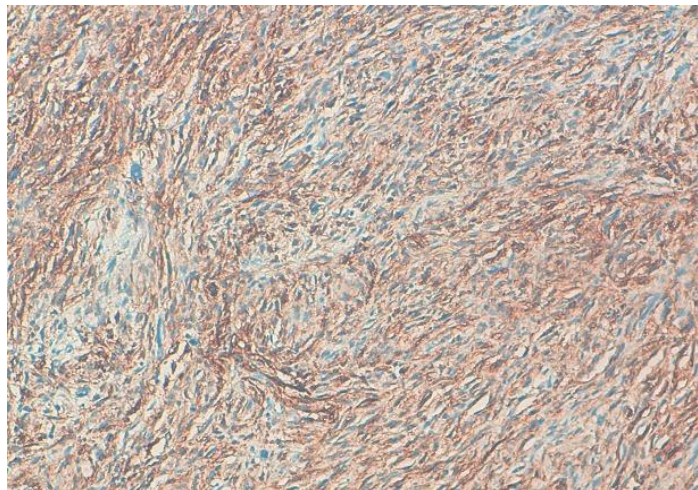


Figure 20 : Positivité intense et diffuse par le CD34.

Une prolifération tumorale infiltrant le derme et l'hypoderme a été obtenue par la coloration HES.

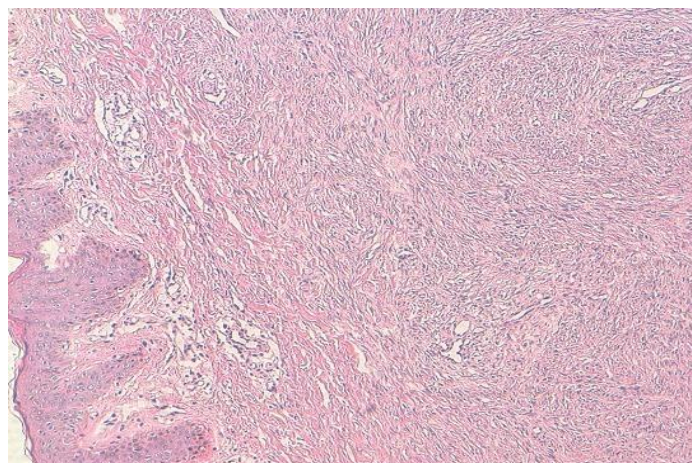


Figure 21 : prolifération tumorale infiltrant le derme et l'hypoderme, d'architecture storiforme (HES x 100).

3.2 CD117 : L'utilisation de ce marqueur moléculaire a donné un résultat négatif de marquage des cellules tumorales.

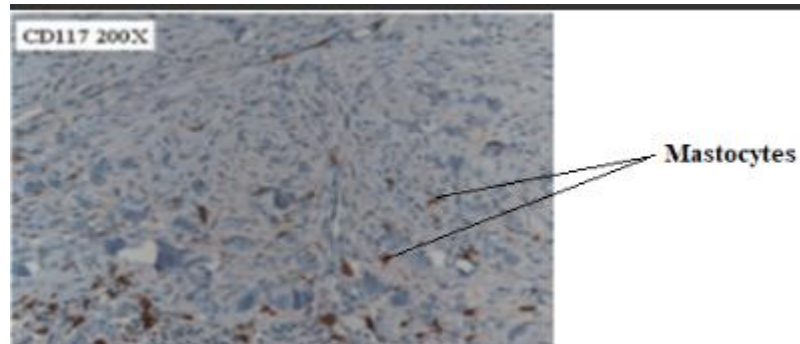


Figure 22 : Partie supérieure d'un dermatofibrome cellulaire, les cellules tumorales sont négatives pour CD117.

La répartition des cas selon les résultats de l'immunohistochimie est illustrée dans la figure suivante :

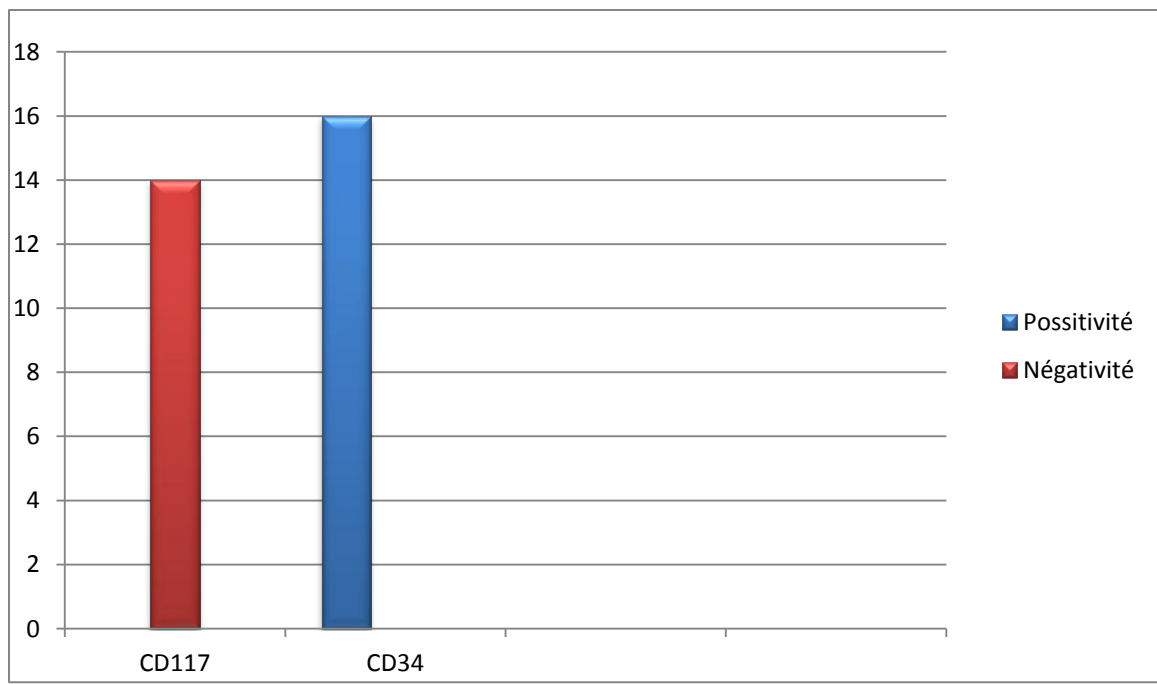


Figure23 : Répartition des cas selon les résultats de l'immunohistochimie.

- Les 16 cas étudiés ont été tous positifs pour le CD34, alors que pour le CD117, 14 cas étaient négatifs et 2 cas n'étaient pas enregistrés (Détachement du tissu).

Discussion

Le sarcome D'Ewing a été décrit la première fois par Dr James Ewing en 1921 [56]. Il s'agit d'une tumeur maligne rare qui touche essentiellement l'os, plus rarement les tissus mous. Cette tumeur survient chez l'enfant et l'adolescent.

Le sarcome d'Ewing survient dans 95% des cas entre 4 et 25 ans, avec un pic de fréquence entre 10 et 15 ans [57,58]. Il est rare après 30ans [59,60]. Ces résultats sont en accord avec notre série d'étude où 16 patients avaient moins de 15 ans avec des extrêmes allant de 6 à 62 ans.

D'après la répartition des SE en fonction du sexe, une prédominance masculine a été notée. Le sexe ratio est de 2. La littérature confirme que les SE touchent préférentiellement les sujets de sexe masculin [61].

L'immunohistochimie permet grâce à l'utilisation de marqueurs cellulaires de différenciation, d'antigène de membrane, de distinguer le SE des autres tumeurs malignes à petites cellules rondes [62-64]. Ainsi, dans notre série, l'immunohistochimie a été réalisée à l'aide de l'anticorps anti CD99 qui est un marqueur très sensible du sarcome d'Ewing et des PNET mais il marque également les lymphomes lymphoblastiques, des thymomes, certains rhabdomyosarcomes, certains carcinomes neuro-endocrines, des tumeurs fibreuses solitaires, des chondrosarcomes méenchymateux et près de 50 % des synoviosarcomes monophasiques [65]. Le résultat obtenu dans notre série était positif pour 33 cas et négatifs pour 7 cas ; ceci explique la non spécificité de cet anticorps .

Le DFS est une tumeur dermique méenchymateuse de malignité intermédiaire [66]. C'est une tumeur rare mais non exceptionnelle, représentant entre 0,1% et 1% des tumeurs cutanées malignes [67].

Notre étude permet d'établir en plus des caractéristiques anatomopathologiques et immunohistochimiques, une étude épidémiologique de ce sarcome. Nos données sont classiques et comparables à celles des autres séries de la littérature.

La prédominance féminine notée dans notre série, avec un sexe ratio de 0,77 est conforme aux données des autres auteurs comme Bendix-Hansen et Behbahani (0,9) [68].

Comme il a été décrit par plusieurs auteurs, cette tumeur peut survenir à n'importe quel âge avec des moyennes d'âge au moment du diagnostic, oscillant entre 28 ans et 47 ans [69-71]. Le DFS est rare chez l'enfant de moins de 15 ans et la forme congénitale est exceptionnelle [72]. Dans notre série le plus jeune patient avait 25 ans.

Les caractéristiques microscopiques de la tumeur ont été décrites pour la première fois par Taylor et Helwig, en 1962 [73]. Il s'agit de cellules fusiformes disposées en faisceaux irréguliers, entrelacés, tourbillonnants, selon un agencement appelé storiforme. Les tumeurs de notre série présentaient les mêmes caractéristiques histologiques décrites par la littérature.

En général, l'aspect histologique permet de guider le diagnostic. Dans les cas douteux, l'immunohistochimie permet de distinguer le DFS des autres tumeurs à cellules fusiformes. Elle montre une positivité intense et diffuse du CD34, une positivité focale de l'AML (actine musculaire lisse) et une négativité constante de la desmine et de la PS100 [74]. Dans notre série, l'immunomarquage par le CD34 était intense et diffus (L'immunoréactivité du DFS à l'anticorps anti-CD34, bien qu'elle ne soit pas spécifique [13]). La négativité de l'immunomarquage par d'autres anticorps (CD117) a permis d'éliminer les autres diagnostics différentiels.

Conclusion

Malgré la rareté et le risque élevé de récurrence, la prise en charge thérapeutique des sarcomes des tissus mous a été améliorée par des avancées scientifiques et technologiques qui a codifiée leur prise en charge complexe qui doit se faire dans des centres spécialisés par une équipe pluridisciplinaire, cependant la place de la radiothérapie et la chimiothérapie reste encore mal élucidée. Ainsi la prise en charge de ce type de tumeur repose essentiellement sur un examen clinique minutieux et d'un bilan radiologique adapté, orientant une biopsie, diagnostique conditionnant le choix de la technique chirurgicale qui doit être carcinologique, associée à une thérapie adjuvante si besoin

Références bibliographiques :

1. Société canadienne de cancer.(2012).Vue d'ensemble du sarcome des tissus mous.Encyclopédie canadienne du cancer.
2. Fayette J ,BlayJY, Ray-Coquard I. (2016). Les sarcomes des tissus mous: bonnes pratiques médicales pour une prise en charge optimal Cancer/Radiothérapie :3-6.
3. Bui M, Nguyen Binh, Colin F, Coindre JM.(2006). Sarcomes des tissus mous :données moléculaires actuelles Cancer/Radiothérapie : 15-25 .
4. Coindre J-M .(2006).Comment classer un sarcome des tissus mous Ann pathol:26.
5. Colin F, Gelly-Marty M, Bui M et al. (2006).Sarcomes des tissus mous: données anatomopathologie actuelles Cancer/Radiothérapie ,10 :7-14.
6. CoindreJM . (2006).Intérêt et limites du grade histo-pronostique dans les sarcomes des tissus mous Springer /Oncologie . 8 :259-260.
7. ZelekL . (2006). La chimiothérapie des sarcomes des tissus mous Cancer/Radiothérapie : 68-71
8. Bonvalot S, Vanel D, Terrier D, Le Pechoux C et Lecesne ;(2204). Principe de traitement des sarcomes des tissus mous de l'adulte EMC(Elsevier,Paris), appareil locomoteur :44-099.
9. Enzinger FM, WeissSoft SW. (1995). tissue tumors (3rd ed.), Mosby-Year Book, St Louis.
- 10.Fletcher M, Bridge JA, Hogendoorn CW, Mertens F; (2013). WHO classification of tumours of soft tissue and boneIARCPress, World HealthOrganization, Lyon.
- 11Pisters PW, Leung DH, Woodruff J, Shi W, Brennan MF. (1996).Analysis of prognosticfactorsin 1,041 patients withlocalized soft tissue sarcomas of the extremities. J ClinOncol, 14 :1679-1689.
12. La situation du cancer en France en 2010 collection rapports et synthèses : 193-195.
13. Jemal A, Bray F, Center MM, et al. (2011). FormanGlobal cancer statistics CA Cancer J Clin : 69-90.

14. DeVita VD, Hellman S, Rosenberg SA. (2001).**Cancer: principles and practice of oncology**
(6th ed.), Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia :1841-1891.
15. Bowden L, BooherRJ .(1958).The principles and techniques of resection of soft parts of sarcoma**Surgery** , 44:963-77.
- 16 Enneking WF, Spanier SS, MalawerMM .(1981).The effect of anatomic setting on the results of surgicalprocedures for soft parts sarcomas of the thigh **Cancer** ,47:1005-22.
17. Guillou L, CoindreJM .(1997).Prognosisfactors in soft tissue sarcomas in the adult **Ann pathol**,17:375-7.
18. Ducimetière F, Lurkin A, Ranchère-Vince D,*et al* . (2011). Incidence of sarcomahistotypes and molecularsubtypes in a prospective epidemiologicalstudywith central pathologyreview and molecularartesting. **PloS One**,6(8).
19. -Mastrangelo G, Coindre JM, Ducimetière F *et al* . (2012).Incidence of soft tissue sarcoma and beyond: a population-based prospective studyin 3 Europeanregions. **Cancer**,118:5339–48.
- 20.Benider A, Harif M, KarkouriM .(2012). **Registre des cancers de la région du Grand Casablanca : 2005-2006-2007**. Association Lalla Salma de lutte contre le Cancer.
21. Chbani L, Hafid I, Berraho M, Mesbahi O, Nejjar C, Amarti A. (2013). **Epidemiological and pathologicalfeatures of cancer in Fez Boulemane region, Morocco**. **East MediterrHealth**, 19(3):263–70.
22. Heymann S, Jung GM, Simon P,*et al* . (2007). Résultats à long terme d'une série de 89 patients suivis pour un sarcome des tissus mous traités par chirurgie conservatrice et trois modalités d'irradiation postopératoire. **Cancer/Radiothérapie**, 11(8): 443-451.
23. CapannaR . (1998).Le traitement des sarcomes des tissus mous. **Cahiers d'enseignement de la SOFCOT**,66:175–189.
24. BuiNBM .(2004). **Entre immunophénotype et altérations génétiques caractérisant les sarcomes des tissus mous : expression de MDM2, CDK4, C-JUN, RB1 et h- caldesmon dans une série de 100 cas**. Thèse N°1074; faculté de médecine Pitie Salpétrière
- 25.Kasse AA, Diop M, DiengM,*et al* .(2003). **Les facteurs de récidence des sarcomes des parties molles : étude d'une série rétrospective de 125 cas**. e-mémoires de l'Académie Nationale de Chirurgie,2(2):30–34.
26. Brennan MF, Antonescu CR, Alektiar KM, Maki RG. (2016).**Management of Soft Tissue Sarcoma**. Springer International Publishing Switzerland.

27. Nijhuis PH, Schaapveld M, Otter R, Molenaar WM, Van Der Graaf WT, Hoekstra HJ. (1999). Epidemiology aspects of soft tissue sarcoma- consequences for the design of clinical STS. *Eur J Cancer*,5:1705–10.
28. Panel N, Nisse C, Feddal SE. (2001). Lartigau Epidémiologie des sarcomes des tissus mous de l'adulte. *La presse médicale*, 30(2):1405–1413.
29. Fletcher C, Bridge J, Hogendoorn P, Mertens F. (2013). WHO classification of tumours of soft tissue and bone.
30. Fletcher M, J.A. Bridge, C.W. Hogendoorn, F. (2013). MertensWorldHealthOrganization. WHO classification of tumours of soft tissue and bone2013 . IARC Press.
31. AntonescC .(2006).The role of genetic testing in soft tissue sarcomaHistopathology, 48 : 13-21.
32. CoindreJM .(2010). Biologiémoléculaire des sarcomes Bull Cancer ?97 :1337-1345.
33. Rubin BP. (2006) . Gastrointestinalstromatumours: an update. *Histopathology* ,48 : 83-96.
34. Coindre JM, Pédeutour F, Aurias A. (2010).Well-differentiated and dedifferentiatedliposarcomas. *VirchowsArch* ,456 : 167-79.
35. Guillou L, AuriasA .(2010).Soft tissue sarcomas with complexgenomic profiles. *VirchowsArch* , 456 : 201-17.
36. Bonvalot S, Vanel D, Terrier D; Le Pechoux C et Lecesne.(2004). Principe de traitement des sarcomes des tissus mous de l'adulte EMC(Elsevier,Paris) :44-099 .
37. Clark MA, Fisher C, Judson I, Thomas MJ. (2005). Soft-tissue sarcoma in adults *N Eng1 Med* ,353:701-11.
38. Aisen AM, Martel W, Braunstein EM, McMillin KI, Phillips WA, Kling TF. (1986) . MRI and CT Evaluation of primarybone and soft-tisuetumors. *AJR Am J Roentgenol*,146:749–56.
39. Shapeero LG. (1990). MRI of the foot and ankle. In: Gooding CR editor, *Diagnostic radiology*. San Francisco: University of CaliforniaPress : 454–66.
40. 14-Coindre J-M .(2006).Comment classer un sarcome des tissus mous *Ann pathol* :26.
41. Zhang H, Erickson-Johnson M, Wang X, et al. (2010) .Moleculartesting for lipomatoustumors: criticalanalysis and test recommendationsbased on the analysis of 405 extremity-basedtumors. *Am J SurgPathol* ,34: 1304–11.
42. Le Guellec S, Soubeyran I, Rochaix P, et al. (2012). *CTNNT1* mutation analysis a

useful tool for the diagnosis of desmoid tumors: a study of 260 desmoid tumors and 191 potential morphologic mimics. *Mod Pathol* ,25:1551–8.

43. Guo T, Zhang L, Chang NE, et al. (2011). Consistent *MYC* and *FLT4* gene amplification in radiation-induced angiosarcoma but not in other radiation-associated atypical vascular lesions. *Genes Chromosomes Cancer* ,50:25–33.

44. Le Guellec S, Chibon F, Ouali M, et al. (2014). Are peripheral purely undifferentiated pleomorphic sarcomas with MDM2 amplification dedifferentiated liposarcomas? *Am J Surg Pathol* ,38: 293–304.

45. NIH. NATIONAL CANCER INSTITUTE. 2016. Ewing Sarcoma Treatment.

46. Fayette J, Blay Y. (2006). Ray-Coquard Les sarcomes des tissus mous: bonnes pratiques médicales pour une prise en charge optimale. *Cancer/Radiothérapie* :3-6.

47. Lebrun –LY, Florenza, Weinbreck Sarcomes des tissus mous.

48 Fayette J, Blay Y. (2006). Ray-Coquard Les sarcomes des tissus mous: bonnes pratiques médicales pour une prise en charge optimale *Cancer/Radiothérapie* :3-6.

49. Lebrun –LY, Florenza, Weinbreck Sarcomes des tissus mous .

50. Bonvalot S, Rimareix F, Paumier A, Roberti E, et al. (2010). Actualisation de la stratégie thérapeutique locorégionale dans les tissus mous et les tumeurs desmoides des membres *Cancer/Radiothérapie* :455-459.

51. Société canadienne de cancer : Vue d'ensemble du sarcome des tissus mous. (2012). *Encyclopédie canadienne du cancer* .

52. Miki Y, Ngan S, Clark J, T, et al. (2010). The significance of size change of soft tissue sarcoma during preoperative radiotherapy *The journal of cancer surgery* :678-683.

53 Daniel L Latt, Robert E, Turcotte, Marc H. (2010). Cynthia Wong Soft-tissue sarcoma of the foot *Association médicale canadienne* .

54. Hmidoou L, Smith MA. (2005). Sarcomes des parties molles de l'adulte *Oncologie*.

55. L. Zelek La chimiothérapie des sarcomes des tissus mous *Cancer/Radiothérapie* (2006) 68-71

56 . Ewing J. Proc. N.Y. (1921). *Pathol. Soc*, 21: 17—24.

57. Murphey MD, Senchak LT, Mambalam PK, Logie CI, Klassen-Fischer MK, Kransdorf MJ. (2013). From the radiologic pathology archives: Ewing sarcoma family of tumors: radiologic pathologic correlation. *Radio-graphics* , 3:803-31.

58. Reainus WR. Gilula LA. (1984). *Radiology of Ewing's sarcoma*:

Intergroup Ewing's sarcoma study (IESS). *Radiographics* , 4:929-44.

59. Baunin C, Rubie H.(2001). Sales De Gauzy J. Sarcome d'Ewing *Encycl Méd Chir, Radiodiagnostic-Neuroradiologie-Appareil locomoteur*,31 :520- 50.

60. Ohali A, Avigad S, Cohen IJ, Meller I, Kollender Y, Issakov J, Goshen Y, Yaniv I, Zaizov R.(2004). High frequency of genomic instability in Ewing family of tumors. *Cancer Genetics and Cytogenetics* , 150; 50-6.

61. Sari N, Togral G. Faik c.(2010). Gungor, Ilhan I. Treatment Results of the Ewing Sarcoma of Bone and Prognostic Factors. *Pediatr Blood cancer*, 54:19 24.

62. Alava E.(2001).Diagnosis of Small round Cell tumours of bone *Current Diagnostic Pathology* :251-61.

63. Lee J., Hopcus-Niccum DJ, Mulvihill JJ, Li S.(2005). Cytogenetic and molecular cytogenetic studies of a variant of t(21; 22), ins(22; 21)(q12; q21q22), with a deletion of the 3' *EWSRI* gene in a patient with Ewing sarcoma. *Cancer Genetics and Cytogenetics* ,159:177-80

64. -Mascard E, Guinbretiere JM. (2001).Sarcome d'Ewing. *Encycl Méd Chir, Appareil locomoteur*,13: 14-756.

65. FOLPE AL, SCHMIDT RA, CHAPMAN D.(1998). GOWN AM : The poorly differentiated synovial sarcoma : immunohistochemical distinction from primitive neuroectodermal tumors and high-grade malignant peripheral nerve sheath tumors. *Am J Surg Pathol*, 22 : 673-82.

66. Monnier D, Algros MP, Vidal MC, Danzon A, Pelletier F, *et al.*(2005). Dermatofibrosarcome protubérant (tumeur de Darier et Ferrand): Etude épidémiologique rétrospective descriptive en Franche-Comté sur une période de 20 ans (1982-2002) *Ann Dermatol Venereol*,132(6-7):607.

67. Stojadinovic A, Karpoff HM, Antonescu CR, Shah JP *et al.* (2000).Dermatofibrosarcoma Protuberans of the Head and Neck. *Ann Surg Oncol*, 7(9):696-704.

68. Bendix-hansen k, Myhr-jensen o, Kaae s.(1983). Dermatofibrosarcoma Protuberans. *Scand J Plast Reconstr Surg* , 17(3):247-252.

69. Kasse A, Dieng M, Deme A, Fall MC, Drabo B, *et al.* (1999).Les dermatofibrosarcomes de Darier et Ferrand: A propos de 22 cas et revue de la littérature. *Médecine d'Afrique Noire*.

70. Traoré SS, Zida M, Baro FT, Boukougou G, Goumbri OM, Sano D, Guira A.(2007). Le dermatofibrosarcome de Darier et Ferrand (DFDF). À propos de 7 cas au CHU de Ouagadougou, Burkina Faso. *Bull Soc Pathol Exot.* 100(2):105–106.

71. Taylor HB, Helwig EB.(1962). Dermatofibrosarcomaprotuberans: A study of 115 cases. Cancer. 15(4):717–725.

72 Marini M, Saponaro A, Magarinos G. (2001).Congenitalatrophicdermatofibrosarcomeprotuberans. Int J Dermatol,40(7):448–450.

73. Taylor hb, Helwigeb.(1962) . Dermatofibrosarcomaprotuberans. A study of 115 cases. Cancer, 15:717-725.

74. Nedelcu I, Costache DO, Costache RS, Nedelcu D, et al.(2006). Darier-Ferrand DermatofibrosarcomaProtuberanswithPeculiar Aspect. BMMR,9(1):44–49