

كلية الطب والصيدلة وطب الأسنان  
FACULTÉ DE MÉDECINE, DE PHARMACIE ET DE MÉDECINE DENTAIRE



جامعة سيدي محمد بن عبد الله - فاس  
UNIVERSITÉ SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH DE FES

Année 2022

Thèse N° 053/22

# APPORT DE L'HYBRIDATION IN SITU FLUORESCENTE DANS LE DIAGNOSTIC DES SARCOMES DES TISSUS MOUS DES EXTREMITES (À propos de 134 cas)

THESE

PRESENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 22/02/2022

PAR

Mlle. HARMOUCH Fadwa

Née le 24 Mars 1991 à Almis Marmoucha

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MÉDECINE

MOTS-CLÉS :

Sarcomes des tissus mous - Pronostic - FISH- Diagnostic

JURY

Mme. CHBANI LAILA.....  
Professeur de l'Enseignement Supérieur d' Anatomie pathologique

PRÉSIDENT ET RAPPORTEUR

Mme. ARIFI SAMIA.....  
Professeur Agrégée de Biologie cellulaire

Mme. HAMMAS NAWAL.....  
Professeur Agrégée d'Anatomie pathologique

M. EL IDRISI MOHAMMED.....  
Professeur Agrégé de Traumatologie-orthopédie

JUGES

# TABLE DES MATIERES

<b>LA LISTE DES FIGURES</b> .....	<b>8</b>
<b>LA LISTE DES TABLEAUX</b> .....	<b>10</b>
<b>LA LISTE DES ABREVIATIONS</b> .....	<b>12</b>
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>17</b>
<b>RAPPEL</b> .....	<b>21</b>
<b>1 CLASSIFICATION MOLECULAIRE DES SARCOMES :</b> .....	<b>22</b>
1.1 CLASSIFICATION DE L'OMS DES TUMEURS DE L'OS ET DES TISSUS MOUS DE 2020 : .....	22
1.2 LES GROUPES MOLECULAIRES DES SARCOMES : .....	24
<i>1.2.1 Les sarcomes à génétique simple :</i> .....	<i>25</i>
1.2.1.1 Les sarcomes avec translocation chromosomique : .....	25
1.2.1.2 Sarcomes avec amplification génique : .....	27
1.2.1.3 Sarcomes avec mutations activatrices : .....	30
1.2.1.4 Sarcomes avec mutations inhibitrices : .....	30
<i>1.2.2 Sarcomes à génomique complexe :</i> .....	<i>30</i>
<b>2 LA DEMARCHE DIAGNOSTIQUE DEVANT UN SARCOME DES TISSUS MOUS DES</b>	
<b>EXTREMITES :</b> .....	<b>31</b>
2.1 DETERMINER LE TYPE HISTOLOGIQUE DU SARCOME : .....	32
<i>2.1.1 Analyse morphologique :</i> .....	<i>32</i>
<i>2.1.2 Techniques complémentaires :</i> .....	<i>32</i>
2.1.2.1 L'immunohistochimie : .....	32
2.1.2.2 Hybridation in situ en fluorescence (FISH) : .....	33
2.1.2.2.1 Définitions : .....	33
2.1.2.2.2 Les étapes de la FISH : .....	34
2.1.2.2.2.1 Prétraitement du tissu FFPE contenant l'ADN de la cible : .....	34
2.1.2.2.2.2 La dénaturation de l'ADN : .....	34
2.1.2.2.2.3 Hybridation de l'ADN cible et de la sonde : .....	35
2.1.2.2.2.4 Rinçage des hybridations non spécifiques : .....	35

2.1.2.2.2.5	La révélation :	35
2.1.2.2.2.6	L'interprétation des signaux fluorescents :	36
2.1.2.2.2.6.1	Translocation chromosomique	38
2.1.2.2.2.6.2	Amplification génique :	40
2.1.2.2.2.6.3	La délétion :	41
2.1.2.2.3	Intérêt :	41
2.1.2.3	La RT-PCR :	42
2.1.2.4	La PCR quantitative en temps réel :	42
2.2	EVALUER LE PRONOSTIC :	42
2.2.1	<i>Déterminer le grade histologique :</i>	42
2.2.2	<i>Evaluer l'extension tumorale :</i>	44
2.2.3	<i>Evaluer la qualité de l'exérèse chirurgicale :</i>	45
2.2.4	<i>Déterminer les facteurs pronostiques moléculaires :</i>	45
2.2.5	<i>Evaluer la réponse au traitement comme marqueur pronostique :</i>	46
2.2.6	<i>Détecter une maladie résiduelle après traitement ou une rechute infraclinique :</i>	46
	<b>MATERIELS ET METHODES</b>	<b>47</b>
1	<b>LE TYPE ET LE CADRE DE L'ETUDE :</b>	<b>48</b>
1.1	LE TYPE ET LA PERIODE DE L'ETUDE :	48
1.2	LES CRITERES D'INCLUSION :	48
1.3	LES CRITERES D'EXCLUSION :	50
2	<b>LE RECUEIL DES DONNEES CLINIQUES :</b>	<b>50</b>
2.1	LES DONNEES DEMOGRAPHIQUES :	50
2.1.1	<i>L'âge au moment du diagnostic :</i>	50
2.1.2	<i>Le sexe :</i>	50
2.2	LES DONNEES CLINIQUES :	50
2.2.1	<i>Le siège de la tumeur :</i>	50

<i>2.2.2</i>	<i>La taille de la tumeur</i>	<i>51</i>
<i>2.2.3</i>	<i>La profondeur de la tumeur</i>	<i>51</i>
<b>3</b>	<b>LES DONNEES ANATOMOPATHOLOGIQUES</b>	<b>51</b>
<i>3.1</i>	<i>La prise en charge macroscopique des prélèvements</i>	<i>51</i>
3.1.1	Prélèvements biopsiques	51
3.1.2	Pièces opératoires	52
3.1.3	Fixation	52
3.1.4	Inclusion en Paraffine	53
3.1.5	La coupe	54
<i>3.2</i>	<i>L'étude microscopique</i>	<i>54</i>
3.2.1	L'analyse morphologique	54
3.2.1.1	La coloration standard HES	54
3.2.1.2	Le diagnostic histologique	56
3.2.2	L'étude immunohistochimique	56
3.2.2.1	La technique d'immunohistochimie indirecte	56
3.2.2.2	Le choix des anticorps	59
3.2.3	L'étude cytogénétique par hybridation in situ fluorescente (FISH)	60
3.2.3.1	La technique de le FISH	60
3.2.3.1.1	Le matériel requis	60
3.2.3.1.2	La preparation des solutions	61
3.2.3.1.3	La préparation des lames pour FISH	62
3.2.3.1.3.1	Le déparaffinage	62
3.2.3.1.3.2	Le prétraitement	63
3.2.3.1.4	L'hybridation des échantillons	64
3.2.3.1.5	Le lavage post-hybridation	65
3.2.3.1.6	La contre-coloration des noyaux au DAPI	66

<b>4</b>	<b>LES DONNEES EVOLUTIVES :</b>	<b>66</b>
4.1	LA SURVIE :	66
4.2	LA RECIDIVE LOCALE :	66
4.3	LA METASTASE :	66
<b>5</b>	<b>L'ANALYSE STATISTIQUE :</b>	<b>67</b>
	<b>RESULTATS</b>	<b>68</b>
<b>1</b>	<b>ETUDE DESCRIPTIVE :</b>	<b>69</b>
1.1	LES DONNEES DEMOGRAPHIQUES :	69
1.1.1	<i>La répartition des cas selon l'âge :</i>	<i>69</i>
1.1.2	<i>La répartition des cas selon le sexe :</i>	<i>70</i>
1.2	LES DONNEES CLINIQUES :	70
1.2.1	<i>La répartition des cas selon la localisation tumorale :</i>	<i>70</i>
1.2.2	<i>La répartition des cas selon la taille de la tumeur :</i>	<i>72</i>
1.2.3	<i>La répartition des cas selon la profondeur de la tumeur :</i>	<i>73</i>
1.2.4	<i>La répartition des cas selon le type de prélèvement :</i>	<i>74</i>
1.3	LES DONNEES ANATOMOPATHOLOGIQUES :	76
1.3.1	<i>La répartition des cas selon la morphologie cellulaire :</i>	<i>76</i>
1.3.2	<i>La répartition des cas selon la réalisation ou non de l'examen immunohistochimique :</i>	<i>77</i>
1.3.3	<i>Le type histologique de présomption retenu avant la réalisation de la FISH :...</i>	<i>78</i>
1.3.4	<i>La répartition des cas selon le degré de certitude diagnostic :</i>	<i>80</i>
1.3.5	<i>La répartition de cas selon le grade histopronostique de la FNCLCC :</i>	<i>81</i>
1.3.6	<i>L'étude moléculaire :</i>	<i>82</i>
1.3.6.1	<i>La répartition des cas selon la réalisation ou non de l'examen de la FISH : ..</i>	<i>82</i>
1.3.6.2	<i>La répartition des cas selon le type de sonde utilisé :</i>	<i>83</i>
1.3.6.3	<i>La répartition des cas selon le résultat de la FISH :</i>	<i>85</i>
1.3.6.4	<i>La classification histo-moléculaire :</i>	<i>87</i>

1.4	LES DONNEES EVOLUTIVES :	88
1.4.1	<i>La survie :</i>	88
1.4.1.1	La survie globale :	88
1.4.1.2	La survie sans récurrence locale :	89
1.4.1.3	La survie sans métastase :	90
1.4.1.4	La survie du groupe ayant fait la FISH :	91
1.4.1.5	La survie du groupe n'ayant pas fait la FISH :	91
1.4.2	<i>La survenue de récurrence locale :</i>	91
1.4.3	<i>La survenue de métastase :</i>	93
2	<b>ETUDE ANALYTIQUE</b>	95
2.1	L'ETUDE DE L'APPORT DE LA FISH DANS LE DIAGNOSTIC DES STM :	95
2.1.1	<i>L'apport de la FISH dans le diagnostic des sarcomes d'Ewing :</i>	95
2.1.2	<i>L'apport de la FISH dans le diagnostic des liposarcomes :</i>	96
2.1.3	<i>L'apport de la FISH dans le diagnostic des synoviosarcomes :</i>	97
2.2	COMPARAISON DES GROUPES FISH OUI/ FISH NON :	100
2.2.1	<i>La répartition des paramètres cliniques :</i>	100
2.2.2	<i>La comparaison des paramètres évolutifs entre le groupe ayant fait la FISH et celui ne l'ayant pas fait :</i>	100
2.2.2.1	La comparaison de la survie globale :	100
2.2.2.2	La comparaison de la survenue de récurrence locale :	101
2.2.2.2.1	....La comparaison de la survenue de récurrence locale chez tous types histologiques confondus :	101
2.2.2.2.2	.... La comparaison de la récurrence locale de chaque type histologique :	101
2.2.2.3	La comparaison de la survenue de métastase :	102
2.2.2.3.1	..... La comparaison de la survenue de métastase chez tous types histologiques confondus :	102

2.2.2.3.2 La comparaison de la survenue de métastase chez chaque sous type histologique :	102
<b>DISCUSSION</b>	<b>104</b>
1 LE DIAGNOSTIC ANATOMOPATHOLOGIQUE DES STM :	105
2 L'EVOLUTION DE LA CLASSIFICATION DE L'OMS DES TUMEURS DES TISSUS MOUS :	107
3 L'APPORT DE LA FISH DANS LE DIAGNOSTIC DES SARCOMES D'EWING EXTRA-SQUELETTIQUES DES EXTREMITES (SEESE) :	110
4 L'APPORT DE LA FISH DANS LE DIAGNOSTIC DES SYNOVIALOSARCOMES :	113
5 L'APPORT DE LA FISH DANS LE DIAGNOSTIC DE L'ALT/LSBD ET DU LSDD :	116
6 LA COMPARAISON DES DEUX GROUPES FISH REALISEE ET NON REALISEE EN MATIERE DE LA SURVIE, DE RECIDIVE LOCALE, ET DES METASTASES :	120
7 LES AVANTAGES ET LES LIMITES DE NOTRE ETUDE :	122
<b>CONCLUSION</b>	<b>124</b>
<b>PERSPECTIVES</b>	<b>127</b>
<b>RESUMES</b>	<b>129</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>139</b>
<b>REFERENCES</b>	<b>147</b>

## LA LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Les gènes de fusion dans les sarcomes des tissus mous.

Figure 2 : Schéma des trois catégories de translocation réciproque observées dans les sarcomes.

Figure 3 : Les principales amplifications dans les sarcomes des tissus mous.

Figure 4 : Le mécanisme d'action du MDM2 et CDK4 au niveau du cycle cellulaire.

Figure 5 : Le mécanisme de la dédifférenciation dans les liposarcomes dédifférenciés.

Figure 6 : Représentation schématique et cytologique des différents signaux détectés par FISH.

Figure 7 : Schéma de scoring sur des noyaux en interphase à la FISH.

Figure 8 : amplification du gène MDM2 dans une tumeur lipomateuse atypique.

Figure 9 : La sélection de cas et les étapes de notre étude.

Figure 10 : biopsie radioguidée : les carottes biopsiques ont été incluses dans deux cassettes.

Figure 11 : Aspect macroscopique d'une pièce opératoire d'une compartimentectomie au niveau de la cuisse.

Figure 12 : Console d'enrobage des tissus « Tissue Tek TEC 5) utilisé au service

Figure 13 : Microtome rotatif semi-automatique AEM 450 utilisé au service

Figure 14 : Schéma illustrant les différentes étapes de coloration standard.

Figure 15 : Automate de coloration des lames Tissue Tek DRS 2000 utilisé au service.

Figure 16 : Schéma résumant les différentes étapes du protocole de l'immunohistochimie indirecte.

Figure 17 : La répartition des cas en pourcentage selon les tranches d'âge.

Figure 18 : La répartition des cas en pourcentage selon le sexe.

Figure 19 : La répartition des cas en pourcentage selon la localisation de la tumeur.

Figure 20 : La répartition des cas en pourcentage selon la taille de la tumeur.

Figure 21 : La répartition des cas en pourcentage selon la profondeur de la tumeur.

Figure 22 : la répartition des cas en pourcentage selon la réalisation d'une biopsie préalable au traitement.

Figure 23 : la répartition des cas en nombre selon le type de chirurgie (conservatrice ou amputation).

Figure 24 : La répartition des cas en pourcentage selon la morphologie cellulaire.

Figure 25 : La répartition des cas en pourcentage selon la réalisation ou non de l'examen immunohistochimique.

Figure 26 : La répartition des cas en pourcentage selon le diagnostic de présomption retenu avant l'examen de la FISH.

Figure 27 : La répartition des cas en pourcentage selon le degré de certitude diagnostique pour les types histologiques confondus.

Figure 28 : La répartition des cas en pourcentage selon le grade de la FNCLCC.

Figure 29 : La répartition des cas en pourcentage selon la réalisation ou non de l'examen de la FISH.

Figure 30 : La répartition des cas en pourcentage selon le type de sonde utilisé à l'examen de la FISH.

Figure 31 : La répartition des cas en pourcentage selon le résultat de la FISH.

Figure 32 : La répartition des cas en pourcentage selon la classification histomoléculaire après la FISH.

Figure 33 : La courbe de survie de notre cohorte.

Figure 34 : La courbe de survie des patients avec et sans récurrence locale.

Figure 35 : La courbe de survie des patients avec et sans métastases.

Figure 36 : Les courbes de survie des deux groupes de notre cohorte (FISH oui et FISH non).

Figure 37 : L'apport de la FISH dans le diagnostic des sarcomes d'Ewing.

Figure 38 : L'apport de la FISH dans le diagnostic des liposarcomes.

Figure 39 : L'apport de la FISH dans le diagnostic des synoviosarcomes.

Figure 40 : L'apport de la FISH dans le diagnostic des sarcomes des tissus mous de notre série.

## LA LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Le grade histologique selon FFCLCC.

Tableau 2 : Stade TNM selon l'AJCC (8<sup>ème</sup> édition).

Tableau 3 : La classification des stades pronostiques selon l'AJCC (8<sup>ème</sup> édition).

Tableau 4 : La liste des anticorps utilisés en première intention en fonction de l'aspect morphologique.

Tableau 5 : La répartition des cas en nombre et en pourcentage selon les tranches d'âge.

Tableau 6 : La répartition des cas en nombre et en pourcentage selon la localisation de la tumeur.

Tableau 7 : La répartition des cas en nombre et en pourcentage selon la taille de la tumeur.

Tableau 8 : La répartition de cas en nombre et en pourcentage selon la profondeur de la tumeur.

Tableau 9 : la répartition des cas en nombre et en pourcentage selon la réalisation ou non d'une biopsie préalable au traitement.

Tableau 10 : La répartition de cas en nombre et en pourcentage selon la morphologie cellulaire.

Tableau 11 : La répartition de cas en nombre et en pourcentage selon la réalisation ou non de l'examen immunohistochimique.

Tableau 12 : La répartition des cas en nombre et en pourcentage selon le diagnostic de présomption retenu avant l'examen de la FISH.

Tableau 13 : La répartition des cas en nombre et en pourcentage selon le degré de certitude diagnostique de tous types histologiques confondus.

Tableau 14 : La répartition des sous types histologique en nombre et en pourcentage selon le degré de certitude diagnostique.

Tableau 15 : La répartition des cas en nombre et en pourcentage selon la réalisation ou non de l'examen de la FISH.

Tableau 16 : La répartition des cas en nombre et en pourcentage selon le type de sonde utilisé à l'examen de la FISH.

Tableau 17 : La répartition en nombre des sous-types histologiques selon le type de sonde utilisé.

Tableau 18 : La répartition des cas en nombre et en pourcentage selon le résultat de la FISH.

Tableau 19 : La répartition des sous-types histologiques selon le résultat de la FISH.

Tableau 20 : La répartition de cas en nombre et en pourcentage selon la classification histo-moléculaire.

Tableau 21 : La récurrence locale dans les différents types histologiques des deux groupes (FISH oui et FISH non).

Tableau 22 : La répartition des deux groupes (FISH oui et FISH non) selon la présence de métastase ou non pour chaque type histologique.

Tableau 23 : La répartition en nombre et en pourcentage du degré de certitude diagnostique des types histologiques selon le résultat de la FISH.

Tableau 24 : Les sarcomes présentant des altérations cytogénétiques et moléculaires distinctes utiles au diagnostic des STM des extrémités.

Tableau 25 : Comparaison de l'utilité de la FISH dans le diagnostic des sarcomes d'Ewing sur des tissus fixés au Formol et inclus en paraffine.

Tableau 26 : la performance du test de détection du réarrangement EWSR1 par hybridation in situ en fluorescence dans les tissus fixés au Formol et inclus en paraffine du sarcome d'Ewing.

Tableau 27 : Les caractéristiques moléculaires et clinico-pathologiques de base du sarcome d'Ewing et de quelques sarcomes parmi son diagnostic différentiel.

Tableau 28 : la performance et l'utilité de la détection du réarrangement du gène SS18 par FISH dans les tissus fixés au Formol et inclus en paraffine.

Tableau 29 : la performance et l'utilité de la détection de l'amplification du gène MDM2 par FISH dans les tissus fixés au Formol et inclus en paraffine.

## LA LISTE DES ABREVIATIONS

### A

Ac-Ag	: Anticorps-Antigène.
ADN/DNA	: Acide Désoxyribonucléique ou Deoxyribonucleic Acid.
AJCC	: American Joint Cancer Committee.
AKT	: AKR (name of the mouse) Thymoma: AKT serine/threonine kinase 1.
ALK	: Anaplastic Lymphoma Kinase.
ALK1	: Activin receptor-Like Kinase 1.
ARN	: Acide Ribonucléique.
ASK1	: Apoptosis Signal-regulating Kinase 1.
ASPL	: Alveolar Soft Part Sarcoma Locus.
ATF1	: Activating Transcription Factor 1.

### B

Bcl-2	: B-cell lymphoma 2.
BCOR/BCLR	: BCL6 Corepressor.

### C

CCNB3	: Cyclin B3 gene.
CCS	: Clear Cell Sarcoma.
CD	: Cluster of Differentiation.
CDK4	: Cyclin Dependent Kinase 4.
CGH-array	: Comparative Genomic Hybridization array.
CHU	: Centre Hospitalier Universitaire.
CIC	: Capicua transcriptional repressor.
COLA1 /COL1A1	: Collagen Type I Alpha 1 chain.
CREB1	: Cyclic AMP-Responsive Element-Binding Protein 1.
CSMES	: Chondrosarcome Myxoïde Extra-Squelettique.

### D

D	: 3,3-Diaminobenzidine HCl.
DAPI	: 4', 6-Diamidino-2-Phénylindole.
DBD	: DNA-Binding Domain.
DDIT3	: DNA Damage Inducible Transcript 3.
DFSP	: Dermatofibrosarcome Protubérant.

DKK1 : Dickkopf-1.  
DSRCT : Desmoplastic Small Round Cell Tumour : tumeur desmoplastique à petites cellules rondes.  
DUX4 : Double Homeobox Protein 4.

### E

EBV : Epstein-Barr Virus.  
ELS : Ewing-like sarcoma: sarcoma de type Ewing.  
EMA : Epithelial Membrane Antigen.  
EORTC- STBSG : European Organisation for Research and Treatment of Cancer- Soft Tissue and Bone Sarcoma Group.  
ERG : ETS Related Gene.  
ES : Ewing sarcoma : Sarcome d'Ewing.  
ESMO : European Society of Medical Oncology.  
ETS : Erythroblast Transformation-Specific.  
ETV4 : ETS Translocation Variant 4.  
ETV6 : ETS Translocation Variant 6.  
EWSR1 : Ewing sarcoma breakpoint region 1.

### F

F : Femme.  
FFPE : Formalin Fixed and Paraffine Embedded : fixés au formol et inclus en paraffine.  
FISH : Fluorescent In Situ Hybridization : hybridation in situ fluorescente.  
FLI1 : Friend leukaemia virus integration 1 transcription factor.  
FNCLCC : Fédération nationale des centres de lutte contre le cancer.  
FOXO1A : Forkhead Box O1 A.  
FUS : Fused in sarcoma.

### G

GIST : Gastrointestinal Stromal Tumor: tumeurs stromales gastro-intestinales.

### H

H : Homme  
H2O<sub>d</sub> : H<sub>2</sub>O déminéralisé.  
HES : Hématoxyline, Eosine, Safran.  
HMGA2 : High Mobility Group AT-Hook 2.

HR : Hazard Ratio: risque relatif.

### I

IC : Intervalle de Confiance.

IGFR : Insulin-like Growth Factor Receptor.

IHC : Immunohistochimie.

INI1 : Integrase Interactor 1.

### K

Ki-67 : MKI67 : marqueur de prolifération Ki-67.

### L

LS : Liposarcome.

LSBD : Liposarcome Bien-Différencié.

LSDD : Liposarcome Dédifférencié.

LSM : Liposarcome Myxoïde.

### M

MDM2 : Mouse Double Minute 2.

MPNST : Malignant Peripheral Nerve Sheat Tumour : tumeur maligne des gaines des nerfs périphériques.

mTOR : Mammalian Target Of Rapamycin.

### N

N : Nombre

NAB2 : NGFI-A Binding Protein 2 gene.

NCCN : National Comprehensive Cancer Network.

NF1 : Neurofibromin 1.

NGS : Next generation Sequencing.

NKX2.2 : NK2 Homeobox 2.

NP40 : Nonionic Polyoxyethylene 40 surfactant.

NR4A3 : Nuclear Receptor subfamily 4 group A member 3.

NTRK3 : Neurotrophic Tyrosine Kinase Receptor Type 3.

NUTM1 : Nuclear protein in testis Midline Carcinoma Family Member 1.

NY-ESO1 : New York Esophageal Squamous Cell Carcinoma-1.

### O

OMS : Organization Mondiale de la Santé.

### P

P : Pipette.

P%	: Pourcentage.
P16	: Protéine 16.
P53	: Protein 53.
PAX3	: Paired Box 3.
PAX7	: Paired Box 7.
PBS	: Phosphate-Buffered Saline.
PBX1	: Pre-B-cell leukemia Homeobox 1.
PCR	: Polymerase Chain Reaction.
PDGFB	: Platelet Derived Growth Factor subunit B.
PDGFRA	: Platelet Derived Growth Factor Receptor Alpha.
PFS	: Progression Free Survival.
PI3-kinase	: Phosphoinositide 3-kinases.
POU5F1	: POU Domain, class 5, transcription Factor 1.
PPAR	: Peroxisome Proliferator-Activated Receptor.
PTEN	: Phosphatase and Tensin homolog.

## Q

Qsp	: Quantité suffisante pour.
-----	-----------------------------

## R

RB1	: Retinoblastoma 1.
RCP	: Réunion de concertation pluridisciplinaire.
RMS	: Rhabdomyosarcome.
RT-PCR	: Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction : Réaction en chaîne par polymérase avec transcription inverse.

## S

SAS	: Sarcoma-Amplified Sequence.
SFT	: Solitary fibrous tumour : tumeur fibreuse solitaire.
SI	: Sarcome indifférencié.
SNP	: Single nucleotide polymorphism.
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences.
SS	: Synovial sarcome.
SS18	: Synovial Sarcoma gene on chromosome 18.
SSC	: Saline-Sodium Citrate.
SSPM	: Survie Sans Progression Métastatique.
SSR	: Survie sans récurrence.

STAT6 : Signal Transducer and Activator of Transcription 6.

STM : Sarcomes des tissus mous.

### T

TEF3 : Transcription Factor For Immunoglobulin Heavy-Chain Enhancer 3.

TLA : tumeur lipomateuse atypique.

TLE-1 : Transducin-Like Enhancer Of Split 1.

TLS : Translocated in Liposarcoma.

TMA : Transcription Mediated Amplification.

TPM3 : Tropomyosin 3.

### U

UPS : Undifferentiated pleomorphic sarcoma.

### W

WNT : Wingless-Type MMTV integration site family.

WT1 : Wilms' Tumor Gene 1.

### Z

ZNF444 : Zinc Finger protein 444 gene.

# INTRODUCTION

Les sarcomes des tissus mous sont des tumeurs mésoenchymateuses rares puisqu'ils représentent moins de 1% de l'ensemble des tumeurs malignes de l'adulte [1,2].

Ils sont histologiquement très variés avec environ 100 types et sous types histologiques selon la dernière classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS 2020) [3].

Pour le clinicien et le pathologiste, ces tumeurs posent plusieurs types de problèmes diagnostique, thérapeutique et pronostique. En pratique quotidienne, c'est le problème diagnostique qui prédomine.

En effet la classification histologique des sarcomes est complexe et difficile la rendant de ce fait peu reproductible. Ceci est particulièrement vrai pour le groupe à petites cellules rondes regroupant des tumeurs, comme le sarcome d'Ewing, neuroblastome, synoviosarcome à petites cellules rondes et la tumeur desmoplastique à petites cellules rondes. L'immunohistochimie est par ailleurs peu spécifique rendant ainsi le diagnostic des sarcomes difficile.

Plusieurs équipes se sont penchées sur la question pour essayer de trouver des marqueurs moléculaires spécifiques des sarcomes.

Ils ont grossièrement subdivisé les sarcomes en 2 catégories :

1. Ceux qui présentent des anomalies chromosomiques spécifiques, pouvant aider au diagnostic et à l'établissement du pronostic.
2. Et ceux pour lesquels aucune anomalie chromosomique spécifique n'a encore été identifiée.

Ainsi depuis l'identification de la première translocation  $t(11,22)$  en 1983, plus de 46 gènes de fusion ont été identifiés dans les tumeurs bénignes et malignes des tissus mous.

Le diagnostic moléculaire des sarcomes est donc actuellement possible pour 50% des cas. Il est fondé sur la détection de lésions structurales du génome. Ces lésions sont probablement causales et constituent des cibles potentielles pour les nouvelles thérapies.

Avec la généralisation des techniques de séquençage de haut débit, de nouvelles anomalies moléculaires ont été décrites et par conséquent l'apparition de nouvelles entités. Ainsi on peut distinguer 5 groupes de sarcomes :

- Sarcomes avec translocations réciproques.
- Sarcomes avec amplifications géniques.
- Sarcomes avec mutations activatrices.
- Sarcomes avec mutations inhibitrices.
- Sarcomes à génomique complexe.

Actuellement, la classification des sarcomes comprend des critères moléculaires, en plus des critères histologiques et immunohistochimiques.

Le manque de spécificité de certains aspects morphologiques et de l'immunohistochimie est à la base des difficultés diagnostiques pour les pathologistes non spécialisés, surtout avec la généralisation de la microbiopsie comme « Gold Standard » en matière de diagnostic initial des sarcomes.

L'hybridation in situ fluorescente (FISH) constitue une méthode d'analyse ciblée des anomalies moléculaires simples, et elle est facilement réalisable en routine sur prélèvement fixé au Formol et inclus en paraffine (FFPE).

Les objectifs de ce travail :

**Les objectifs principaux :**

- 1) Evaluer l'apport et l'utilité de la FISH dans le diagnostic des STM à génomique simple des extrémités de notre série, et comparer nos résultats avec la littérature.
- 2) Evaluer l'impact pronostique de la FISH dans notre contexte.

**L'objectif secondaire :**

- Décrire les aspects épidémiologiques, cliniques et anatomopathologiques des sarcomes des tissus mous des extrémités de notre série.

# RAPPEL

# **1 Classification moléculaire des sarcomes :**

## **1.1 Classification de l'OMS des tumeurs de l'os et des tissus mous de 2020 :**

La classification de l'OMS des tumeurs des tissus mous et de l'os (voir annexe 1), publiée en 2020 [3] avait pour objectif de fournir une classification consensuelle et de présenter des critères diagnostiques reproductibles. Elle est la clé pour améliorer l'approche multidisciplinaire face aux STM, en incitant l'ensemble des pathologistes et médecins prenant en charge ces tumeurs à traduire les nouvelles découvertes moléculaires en traitements plus efficaces. Son contenu est régulièrement mis à jour, et prend en compte tous les nouveaux biomarqueurs mis en évidence par les techniques dites de haut débit (NGS).

Elle suit la même organisation que la classification précédente, qui repose sur la mise en évidence d'une lignée de différenciation des cellules prolifératives. Ainsi, les entités histologiques sont regroupées en douze chapitres qui peuvent être réduits en trois sections :

- Les tumeurs différenciées :

Cette section contient 10 chapitres qui sont constituées par les tumeurs qui ressemblent à des cellules mésenchymateuse normales, démontrant ainsi une différenciation certaine : Les tumeurs adipeuses, les tumeurs fibroblastiques ou myofibroblastiques, les tumeurs musculaires lisses, les tumeurs péricytaire/périvasculaires, les tumeurs musculaires striées, les tumeurs vasculaires, les tumeurs chondro-osseuses, les tumeurs dites fibrohistiocytaires, les tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST), et les tumeurs des gaines des nerfs périphériques.

- Les tumeurs de différenciation incertaine :

Cette section est consacrée à des entités bien caractérisées qui ne ressemblent pas à des cellules mésenchymateuses normales (comme le synoviosarcome).

- Les tumeurs indifférenciées à cellules rondes :

Cette section contient le sarcome d'Ewing et d'autres tumeurs à cellules rondes qui lui ressemblent morphologiquement, mais sont caractérisées par des réarrangements autres que le réarrangement EWSR1– FLI1 classique du sarcome d'Ewing [3].

Quelques différences existent entre l'ancienne édition et cette édition :

- ❖ Le diagnostic anatomopathologique repose sur l'intégration des caractéristiques morphologiques, immunohistochimiques et moléculaires.
- ❖ De nouvelles entités pathologiques ont émergés, par exemple :
  - Dans les tumeurs malignes : la tumeur à cellules fusiformes avec réarrangement du NRTK, faisant partie des tumeurs à différenciation incertaine, est désignée comme une entité émergente, compte tenu des développements thérapeutiques récents en matière de l'inhibition du NRTK. Le liposarcome pléomorphe myxoïde dans les tumeurs adipeuses. Et le léiomyosarcome inflammatoire dans les tumeurs musculaires lisses. Ainsi que la tumeur mélanocytaire maligne des gaines des nerfs périphériques dans les tumeurs des gaines des nerfs périphériques.
  - Dans les tumeurs de malignité intermédiaire : la tumeur fibroblastique superficielle positive à la CD34 dans la catégorie des tumeurs fibroblastiques/myofibroblastiques, et la tumeur musculaire lisse associée à l'EBV dans les tumeurs musculaires lisses.
  - Dans les tumeurs bénignes : la tumeur lipomateuse atypique à cellules fusiformes ou pléomorphes dans les tumeurs adipeuses, la tumeur fibroblastique EWSR1–SMAD3 positive, l'angiofibrome des tissus mous dans les tumeurs

fibroblastiques/myofibroblastiques, et l'hémangiome anastomotique dans les tumeurs vasculaires.

- ❖ Un nouveau chapitre est apparu intitulé les tumeurs indifférenciées à cellules rondes de l'os et des tissus mous. Il regroupe le sarcome d'Ewing et d'autres tumeurs qui lui ressemblent morphologiquement, et qui sont distinguées par le réarrangement sous-jacent, à savoir, le réarrangement du CIC, du BCOR et tous les partenaires non ETS.
- ❖ Un système d'évaluation du risque a été mis en place pour améliorer la prédiction du comportement clinique des tumeurs fibreuses solitaires.

En effet, diverses anomalies génétiques dans les tumeurs des tissus mous et des os ont récemment été identifiées par séquençage de nouvelle génération (NGS), la dernière méthode rapide et puissante d'analyse génomique complète, contribuant à la confirmation moléculaire du diagnostic des différents sous-types histologiques [4].

## **1.2 Les groupes moléculaires des sarcomes :**

A peu près, la moitié des sarcomes portent au moins une anomalie moléculaire. Les sarcomes sont classés en fonction du type d'anomalie moléculaire sous-jacente en deux groupes majeurs :

- Les sarcomes à génétique simple : qui sont porteurs d'une anomalie génétique identifiable récurrente et spécifique. Ce groupe inclut les sarcomes à translocation réciproque, les sarcomes avec amplification génique, les sarcomes avec mutation activatrice, et les sarcomes avec mutation inhibitrice.
- Les sarcomes à génétique complexe : ils présentent un profil génomique complexe avec plusieurs gains et pertes géniques.

1.2.1 **Les sarcomes à génétique simple :**

1.2.1.1 **Les sarcomes avec translocation chromosomique :**

Les sarcomes avec translocation réciproque spécifique représentent environ 10 à 15 % de l'ensemble des sarcomes et environ 25% des STM [5]. Les plus fréquents sont le dermatofibrosarcome protubérant de Darier et Ferrand, le liposarcome myxoïde, le sarcome d'Ewing et le synovialosarcome. La présence d'une translocation réciproque dans le sarcome d'Ewing a été la première translocation rapportée dans une tumeur solide humaine par deux équipes françaises en 1983 [6,7].

Ces translocations aboutissent à un gène de fusion que l'on suppose être directement responsable du développement tumoral (Figure 1).

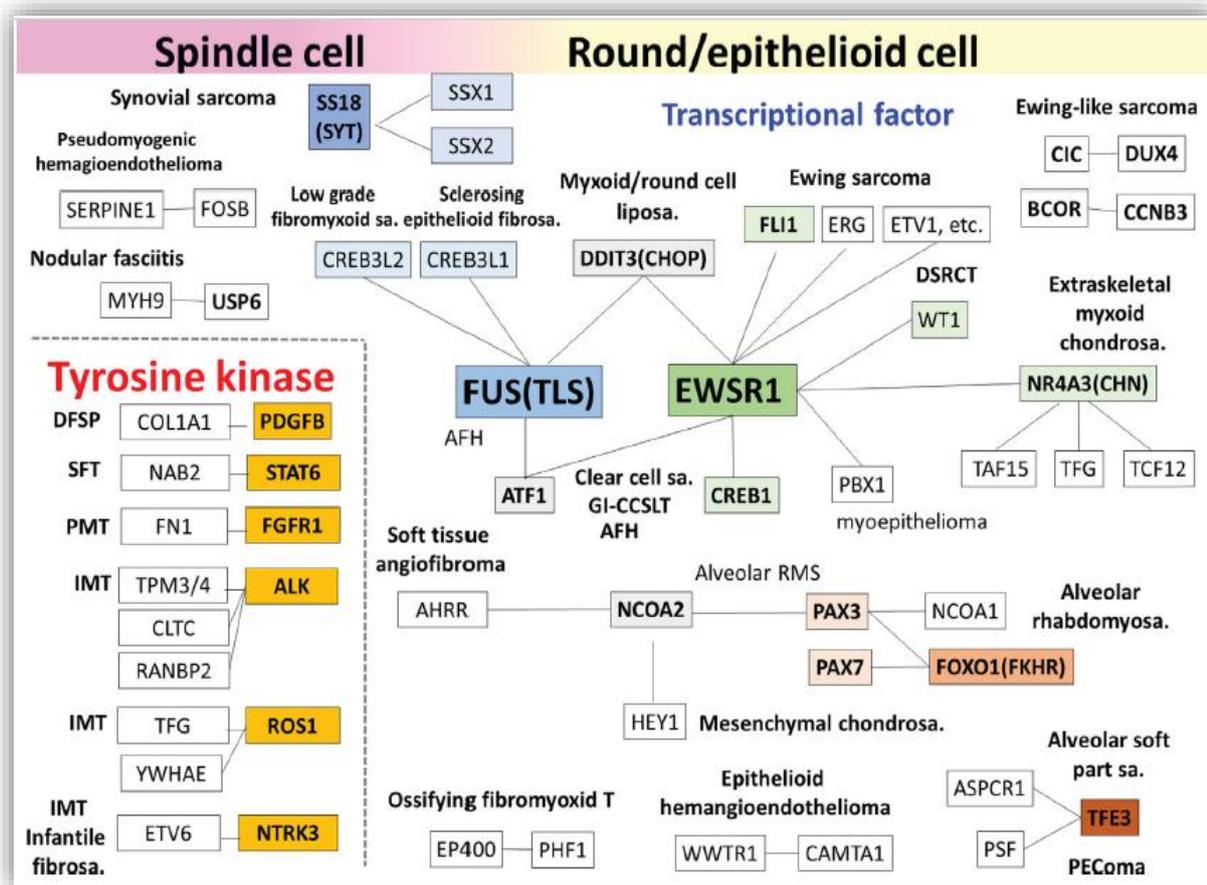


Figure 1 : Les gènes de fusion dans les sarcomes des tissus mous [8].

La plupart de ces gènes de fusion codent pour un facteur de transcription chimérique aberrant en combinant un promoteur fort, comme EWSR1, qui confère le niveau d'expression et un domaine dit de DNA-binding, tel FLI1, ERG, ATF1, WT1, qui confère la spécificité d'activation transcriptionnelle [9]. Un second mécanisme a pour résultat un facteur de croissance autocrine tel qu'observé dans le dermatofibrosarcome de Darier et Ferrand avec la fusion des gènes COL1A et PDGFB [10]. Le troisième mécanisme implique la fusion du domaine catalytique d'un récepteur tyrosine-kinase qui a pour résultat l'activation de tyrosine-kinase indépendante du ligand tel qu'observé dans le fibrosarcome congénital avec la fusion du ETV6 et NTRK3 [11]. (Voir la figure 2).

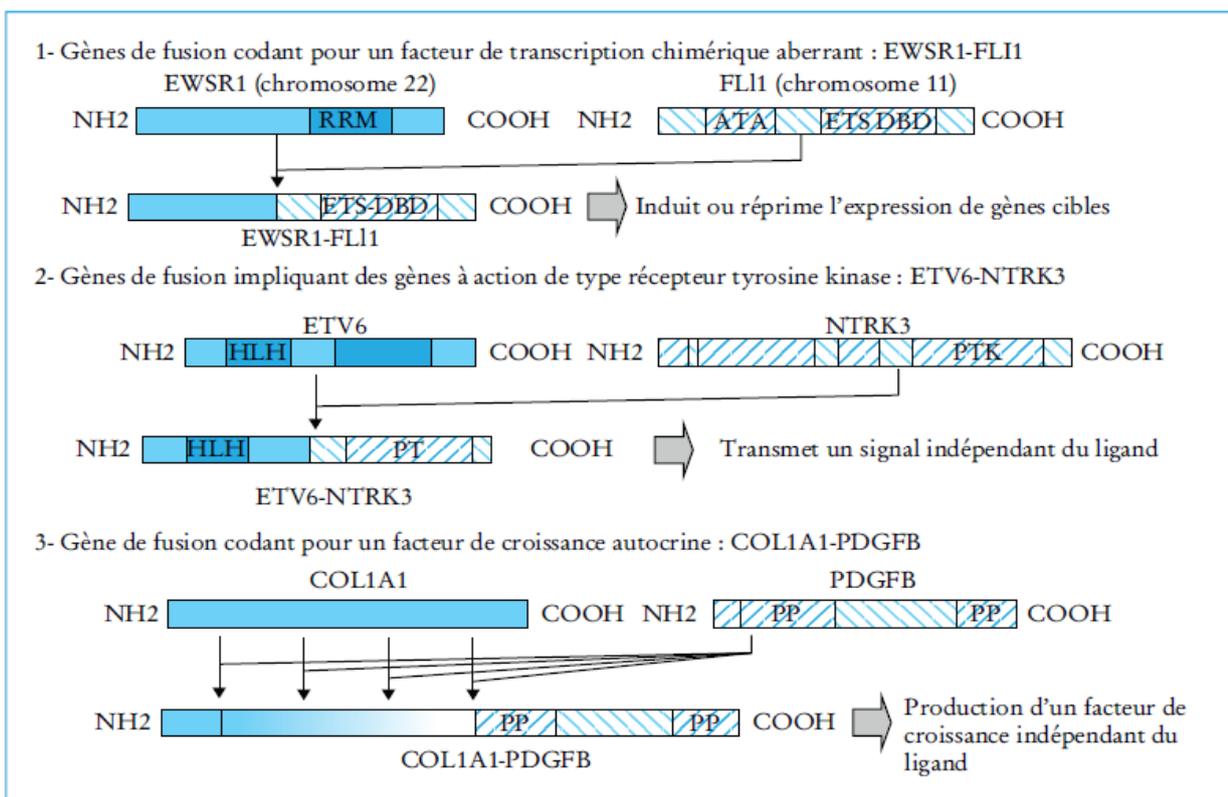


Figure 2 : Schéma des trois catégories de translocation réciproque observées dans les sarcomes [11].

### 1.2.1.2 Sarcomes avec amplification génique :

Il s'agit principalement des tumeurs adipeuses atypiques ou liposarcomes bien différenciés et des liposarcomes dédifférenciés [12]. Cette amplification implique MDM2 dans tous les cas et CDK4 dans 90 % des cas. (Voir la figure 3).

La catégorie des tumeurs adipeuses bien différenciées ou liposarcomes bien différenciés et liposarcomes dédifférenciés représente 10 à 15 % de l'ensemble des sarcomes et à peu près 80 % des liposarcomes. Ces tumeurs sont principalement localisées en région profonde des membres et au niveau du rétropéritoine. Au niveau du rétropéritoine, elles représentent 60 % des sarcomes.

Sur le plan cytogénétique, ces tumeurs sont caractérisées par la présence de chromosomes géants ou en anneau surnuméraires sur un fond de caryotype par ailleurs normal. Ces chromosomes surnuméraires sont constitués de séquences amplifiées de la région 12q14-15 avec amplification constante du gène MDM2, et neuf fois sur dix du gène CDK4 et plus accessoirement d'autres gènes comme HMGA2 et SAS.

Les tumeurs adipeuses bien différenciées ou liposarcomes bien différenciés sont caractérisées habituellement par un amplicon unique en 12q14-15. La co-amplification MDM2 et CDK4 est certainement responsable du processus tumoral : MDM2, en tant qu'inhibiteur de p53, augmente la survie cellulaire tandis que CDK4, en tant qu'inhibiteur de RB1, augmente la prolifération cellulaire (figure 4)

<i>Tumeurs</i>	<i>Chromosomes</i>	<i>Gènes</i>	<i>Prévalence</i>	<i>Méthodes</i>
<i>Anomalies moléculaires</i>				
- Liposarcome bien différencié/ dédifférencié	12q13-15 12q15	<i>MDM2</i> <i>CDK4</i>	95-100 % 90-95 %	FISH ( <i>MDM2</i> ) qPCR
- Sarcome intimal				
- Ostéosarcome parostéal				
Angiosarcome sur tissus irradiés	8q24	<i>MYC</i>	> 50 %	FISH ( <i>MYC</i> )

Figure 3 : Les principales amplifications dans les sarcomes des tissus mous [11].

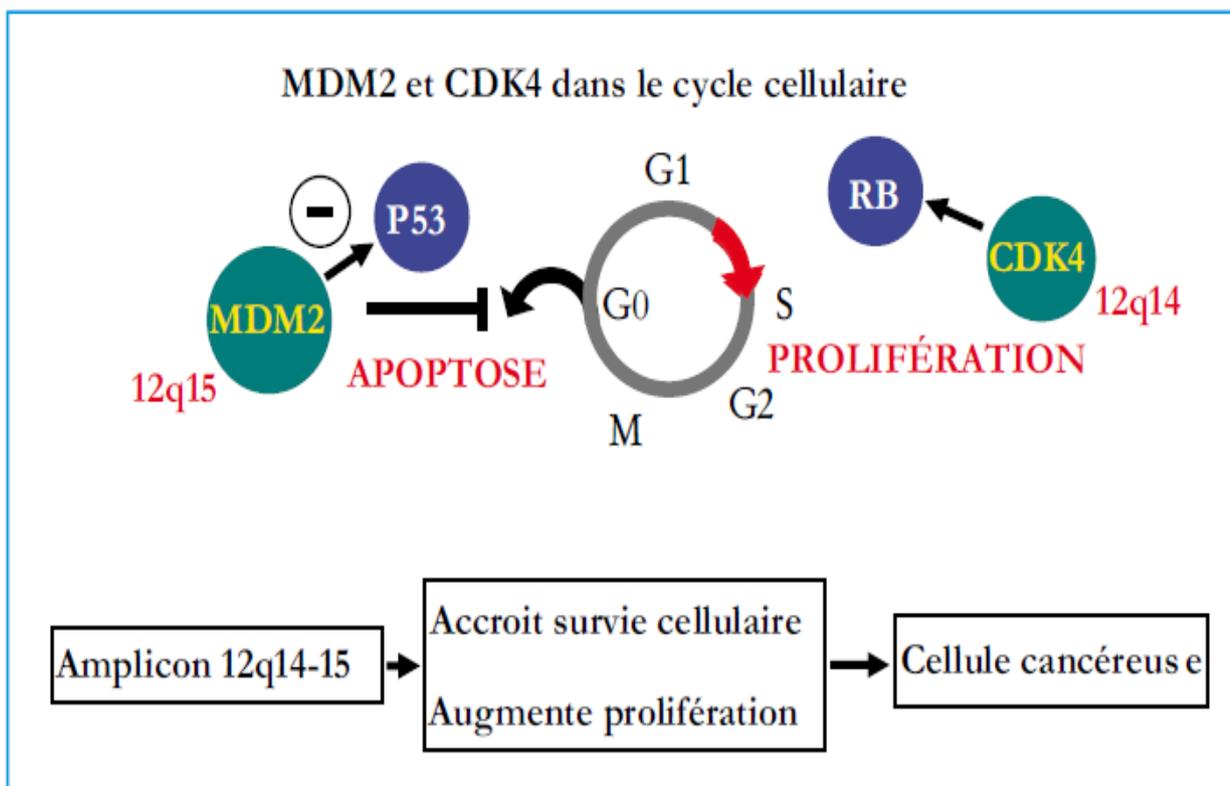


Figure 4 : Le mécanisme d'action du MDM2 et CDK4 au niveau du cycle cellulaire [11].

Dans les liposarcomes dédifférenciés, il existe habituellement une co-amplification située en 1p32 et intéressant le gène JUN ou en 6q23 et impliquant le gène ASK1. L'activation de cette voie entraîne une inhibition de PPAR-gamma qui est l'initiateur de la différenciation adipocytaire [13] (figure 5). Ainsi, cette co-amplification entraîne un arrêt de la différenciation adipocytaire, expliquant le caractère dédifférencié de ce type de tumeur. L'activation de cette voie s'accompagne également d'une agressivité accrue de la tumeur avec un potentiel métastatique de l'ordre de 15 à 25 %, alors que la tumeur adipeuse bien différenciée ou liposarcome bien différencié ne donne presque jamais de métastase [14].

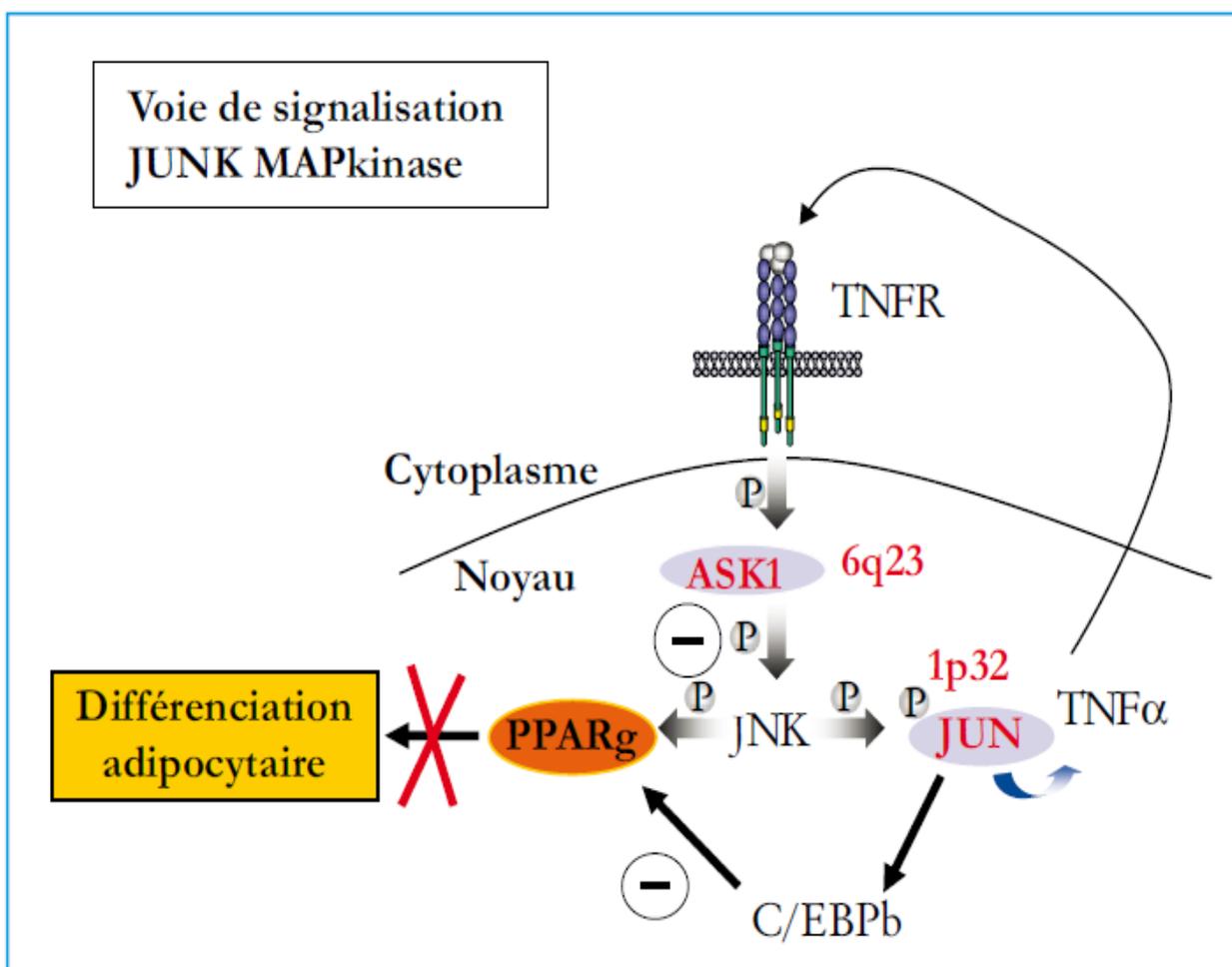


Figure 5 : Le mécanisme de la dédifférenciation dans les liposarcomes dédifférenciés. L'amplification et l'hyperexpression des gènes ASK1 ou JUN appartenant à la même voie de signalisation conduisent à l'inhibition de PPAR-gamma qui représente l'élément déclenchant de la différenciation adipocytaire [11].

### **1.2.1.3 Sarcomes avec mutations activatrices :**

Ils représentent environ 20% des sarcomes. Dans ces tumeurs, une mutation ponctuelle entraîne l'activation d'un récepteur tyrosine-kinase ou la stabilisation d'une protéine.

C'est le cas des tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST), qui présentent une mutation du gène KIT dans 80% des cas, ou une mutation du gène PDGFRA dans 10% des cas. Ces mutations entraînent une dimérisation du récepteur et son activation indépendante du ligand [11,15].

### **1.2.1.4 Sarcomes avec mutations inhibitrices :**

Ils représentent moins de 1% des sarcomes. Ces mutations entraînent généralement l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs.

On trouve ce type de mutation principalement dans la tumeur rhabdoïde maligne, qui présente une mutation inactivatrice ou une délétion du gène INI1. Ce gène situé sur le bras long du chromosome 22 joue le rôle d'un gène suppresseur de tumeur. Il code pour une protéine intervenant dans le remodelage de la chromatine.

L'inactivation du gène INI1 est aussi retrouvée dans 80% des sarcomes épithélioïdes et dans les schwannomes malins épithélioïdes [11,15].

### **1.2.2 Sarcomes à génomique complexe :**

50 à 60 % des sarcomes montrent un profil génomique complexe, avec de nombreux gains et pertes géniques non récurrentes et non spécifiques [16]. Ces tumeurs sont principalement représentées par des léiomyosarcomes, des myxofibrosarcomes, des liposarcomes pléomorphes, des rhabdomyosarcomes pléomorphes et des sarcomes indifférenciés (UPS), 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. Il s'agit, en règle, de tumeurs relativement

agressives avec un potentiel métastatique de l'ordre de 50 %. Sur le plan moléculaire, elles montrent un profil complexe avec fréquemment une altération de la voie p53 et une perte du gène RB1, et de nombreux remaniements communs aux différents types de tumeurs entrant dans cette catégorie. Une perte de PTEN est également souvent observée, en particulier dans les léiomyosarcomes. Ces tumeurs montrent souvent une activation de la voie PI3-kinase — AKT — mTOR, liée à la perte de PTEN et/ou à une hyperexpression de l'IGFR. L'inactivation de PTEN dans la lignée musculaire lisse d'un modèle murin a permis la survenue de léiomyosarcomes, et cette anomalie a été considérée comme primordiale pour ce type de sarcomes. Une partie au moins des sarcomes peu différenciés de type histiocytofibrome malin pourrait être liée à l'hyperexpression de DKK1 qui constitue un inhibiteur de la voie canonique de WNT. L'analyse combinée du génome par CGH-*array* et du profil d'expression permet ainsi d'identifier des gènes d'intérêt, selon le type de sarcomes ou leur degré d'agressivité [11].

## **2 La démarche diagnostique devant un sarcome des tissus mous des extrémités :**

Le diagnostic et la classification des STM reposent sur un fuseau d'arguments cliniques (l'âge, le sexe, la localisation et la présentation clinique), radiologiques et anatomopathologiques.

Une prise en charge optimale du patient passe par une bonne collaboration entre pathologistes, chirurgiens, radiologues, oncologues et radiothérapeutes dans le cadre de la réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP).

Devant un sarcome des tissus mous, le pathologiste doit :

## **2.1 Déterminer le type histologique du sarcome :**

La détermination du type histologique se fait par une analyse morphologique (macroscopique et microscopique), immunohistochimique et moléculaire, selon la classification récente de l'OMS des tumeurs des tissus mous :

### **2.1.1 Analyse morphologique :**

L'aspect morphologique cellulaire prédominant constitue la base de la démarche diagnostique. Ainsi, on peut classer les tumeurs en tumeurs à cellules fusiformes, à cellules rondes, à cellules pléomorphes... Les diagnostics histologiques possibles sont alors passés en revue en fonction du cadre morphologique et du contexte clinique. Par exemple, devant une tumeur à cellules rondes on doit penser à un sarcome d'Ewing, un CSMES, une DSRCT, un ostéosarcome extra-squelettique, un synoviosarcome peu différencié... Une morphologie à cellules monomorphes et monotones chez un sujet jeune devrait orienter le diagnostic vers un sarcome à génomique simple.

L'analyse de l'architecture cellulaire, du type de stroma et de la vascularisation peuvent orienter le diagnostic.

Ces données histologiques doivent absolument être corrélées aux données cliniques et radiologiques.

### **2.1.2 Techniques complémentaires :**

#### **2.1.2.1 L'immunohistochimie :**

Il s'agit d'une technique facilement accessible, peu onéreuse, et essentielle dans la démarche diagnostique. Elle repose sur le principe de la réaction Ag-Ac. Elle permet de mettre en évidence plusieurs types d'antigènes potentiellement présents au niveau des cellules comme :

- Des marqueurs de différenciation cellulaire (par exemple, des marqueurs de différenciation épithéliale comme les cytokératines, de différenciation musculaire lisse comme l'actine musculaire lisse et l'H caldesmone, la desmine et la myogénine ...)
- Des marqueurs de différenciation vasculaire comme le CD31 et le CD34).
- Des marqueurs de prolifération cellulaire (Ki-67).
- Dans certains types de sarcomes, l'immunohistochimie peut être utilisée comme témoin indirect d'une anomalie chromosomique. L'immunomarquage par les anticorps anti-WT1, anti-FLI1, ou anti-MDM2 peut être utile au diagnostic de la tumeur desmoplasique à petites cellules rondes, du sarcome d'Ewing et des liposarcomes bien différenciés et dédifférenciés respectivement.

Corrélés à la morphologie de la tumeur, les marqueurs immunohistochimiques de différenciation permettent dans de nombreux cas de déterminer la lignée de différenciation des cellules, et d'aboutir à un diagnostic.

Cependant, cette technique manque de spécificité. D'où l'intérêt d'une étude moléculaire.

### 2.1.2.2 Hybridation in situ fluorescente (FISH) :

#### 2.1.2.2.1 Définitions :

La FISH est une technique de cytologie moléculaire qui permet la détection de haute résolution, la quantification et la localisation des cibles d'acides nucléiques dans les cellules et les tissus. Elle repose sur le principe de l'appariement par complémentarité de 2 séquences homologues d'ADN : la cible et la sonde.

L'ADN de la sonde contient des nucléotides au sein desquels est intégrée une molécule fluorescente, ou bien un haptène qui fixera secondairement une molécule fluorescente lors de l'étape de révélation. Plusieurs types de sondes existent pour la FISH. Les plus utilisées en pathologie sur tissu fixé au Formol et inclus en paraffine (FFPE) sont les sondes locus spécifique.

**L'ADN de la cible** est une séquence d'ADN génomique en place au niveau de sa localisation chromosomique originelle ou bien ayant subi des altérations diverses [17–24].

#### **2.1.2.2.2 Les étapes de la FISH :**

##### **2.1.2.2.2.1 Prétraitement du tissu FFPE contenant l'ADN de la cible :**

L'ADN de la cible est localisé au niveau des noyaux des cellules d'un tissu. Le tissu subit une étape de prétraitement, principalement par la pepsine. Cette enzyme dégrade les barrières protéiques pour faciliter l'entrée de la sonde vers l'ADN cible permettant ainsi une meilleure hybridation. Cette étape permet aussi de minimiser le bruit de fond causant des difficultés lors de l'interprétation des signaux fluorescents [23].

##### **2.1.2.2.2.2 La dénaturation de l'ADN :**

Pour que l'ADN cible et celui de la sonde puissent s'apparier l'un avec l'autre, il est indispensable que chacun d'entre eux soit sous une conformation simple brin. On doit pour cela procéder à une étape de dénaturation par la chaleur ou par un traitement alcalin, qui rompra les liaisons covalentes entre bases complémentaires d'ADN.

L'adjonction de formamide dans le mélange réactionnel permet d'abaisser la température de dénaturation, et ainsi de ne pas dégrader l'ADN. Une méthode simple consiste à déposer le mélange réactionnel contenant la sonde sur la lame de préparation chromosomique, ou les coupes tissulaires, puis de dénaturer simultanément l'ADN de la sonde et l'ADN chromosomique cible sur une plaque chauffante. Cette opération dure d'une minute à trois en moyenne [17–24].

### **2.1.2.2.3 Hybridation de l'ADN cible et de la sonde :**

Une fois l'ADN de la cible et de la sonde respectivement dénaturés sous la forme de simple brin, l'étape d'hybridation, d'une durée de plusieurs heures (généralement une nuit) à 37°C, va permettre un appariement de l'ADN de la sonde et l'ADN chromosomique qui vont alors former un ADN double brin.

### **2.1.2.2.4 Rinçage des hybridations non spécifiques :**

Cette étape consistera en une succession de rinçages. La température et le degré de salinité de la solution de rinçage déterminent sa stringence. Plus la stringence sera forte (température élevée et concentration saline faible), plus le rinçage sera efficace, et moins se maintiendront des hybridations non spécifiques.

Cependant, un rinçage peu stringent peut défaire des hybridations spécifiques. Selon le type de sonde utilisée, la stringence du rinçage devra être équilibrée pour éviter le bruit de fond et les hybridations non spécifiques, tout en maintenant le signal spécifique solide, et donc bien visible [17–24].

### **2.1.2.2.5 La révélation :**

Lorsqu'un fluorochrome est directement incorporé dans la sonde, l'étape de rinçage sera suivie directement par le montage de la lame : on posera entre lame et lamelle une goutte de solution contenant un produit empêchant l'extinction de la fluorescence (anti-fading) et des colorants de l'ADN, comme la diaminophényl indole (DAPI, coloration bleue) ou l'iodure de propidium (coloration rouge) qui permettront de visualiser les chromosomes et les noyaux.

Lorsqu'un haptène non fluorescent comme la biotine ou la digoxigénine a été incorporé à l'ADN de la sonde, il sera nécessaire de procéder à une étape de révélation après les rinçages et avant le montage et l'observation de la lame au microscope à fluorescence. Le principe de la révélation repose sur une réaction d'immunomarquage avec un ligand couplé à une molécule fluorescente, qui se liera à l'haptène. Dans le

cas où l'haptène utilisé est la biotine, on pourra par exemple utiliser de l'avidine (qui a une très forte affinité pour la biotine), couplée à un fluorochrome. Lorsque l'haptène est la digoxigénine, on utilisera des anticorps dirigés contre cette molécule, couplés à un fluorochrome. Il est possible de renforcer l'intensité du signal fluorescent par des réactions d'immunofluorescence successives de type « sandwich » [17–24].

#### **2.1.2.2.6 L'interprétation des signaux fluorescents :**

Dans la situation pratique, on étudie les signaux fluorescents sous forme de « points » rouges et verts sous un microscope fluorescent et on interprète les modèles de signaux pour évaluer les anomalies génétiques [25].

La figure 6 montre certains modèles de signaux et les interprétations d'anomalies représentatives, y compris la translocation, l'amplification, la suppression et la polyploïdie.

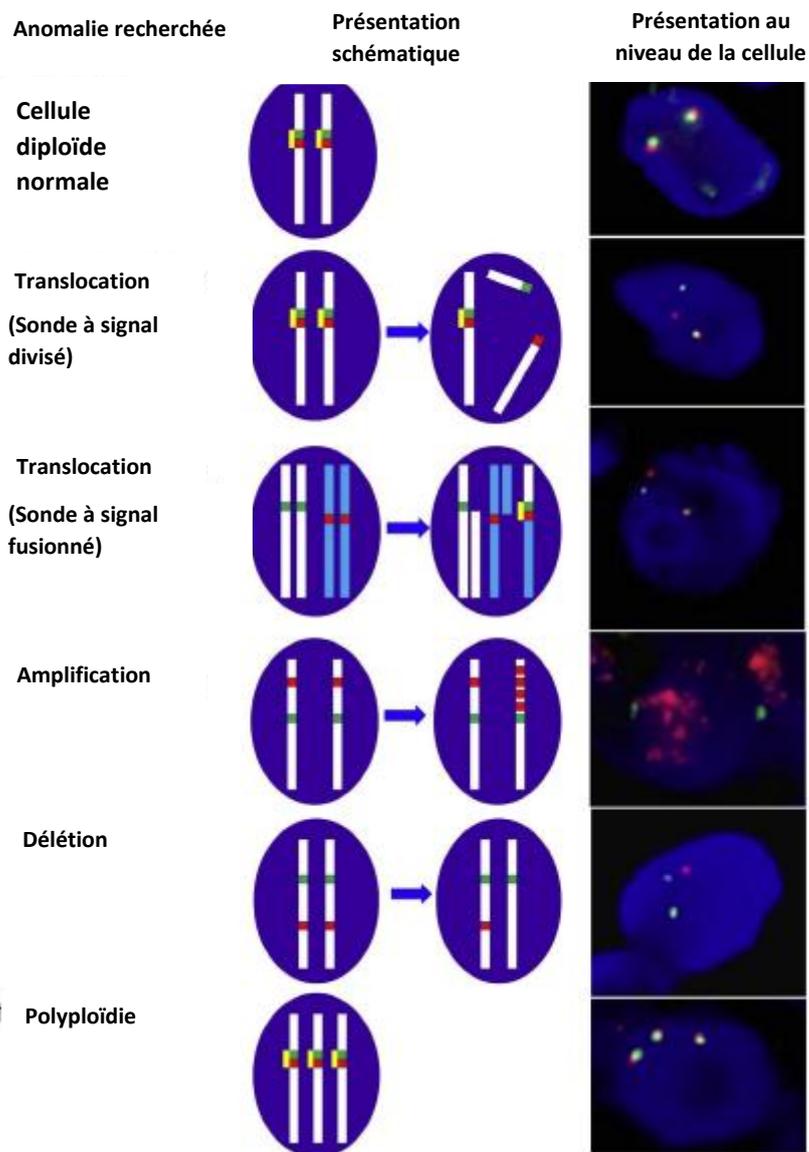


Figure 6 : représentation schématique et cytologique des différents signaux détectés par FISH.

#### **2.1.2.2.2.6.1 Translocation chromosomique**

Ces translocations sont détectées par FISH à l'aide de sondes bicolores, à signal divisé (*break apart*) ou bicolore à signal fusionné [26,27]. Les sondes à signal divisé sont conçues pour englober un point de rupture dans le chromosome entre les colorants rouge et vert, On voit donc deux paires de signaux fusionnés dans des cellules diploïdes normales. Lorsqu'une translocation chromosomique s'est produite, nous observons une paire de signaux, fusionnés et divisés, car la rupture chromosomique crée une distance entre les points rouge et vert. D'autre part, les sondes à signal fusionné sont conçues pour englober un point de fusion prospectif sur le chromosome dérivé entre les colorants rouge et vert [12,13]. Par conséquent, les interprétations des signaux de translocation positifs sont complètement différentes entre les sondes à signal divisé et fusionné à moins que les deux sondes ne présentent le même modèle de signal. (Voir les figures 6 et 7).

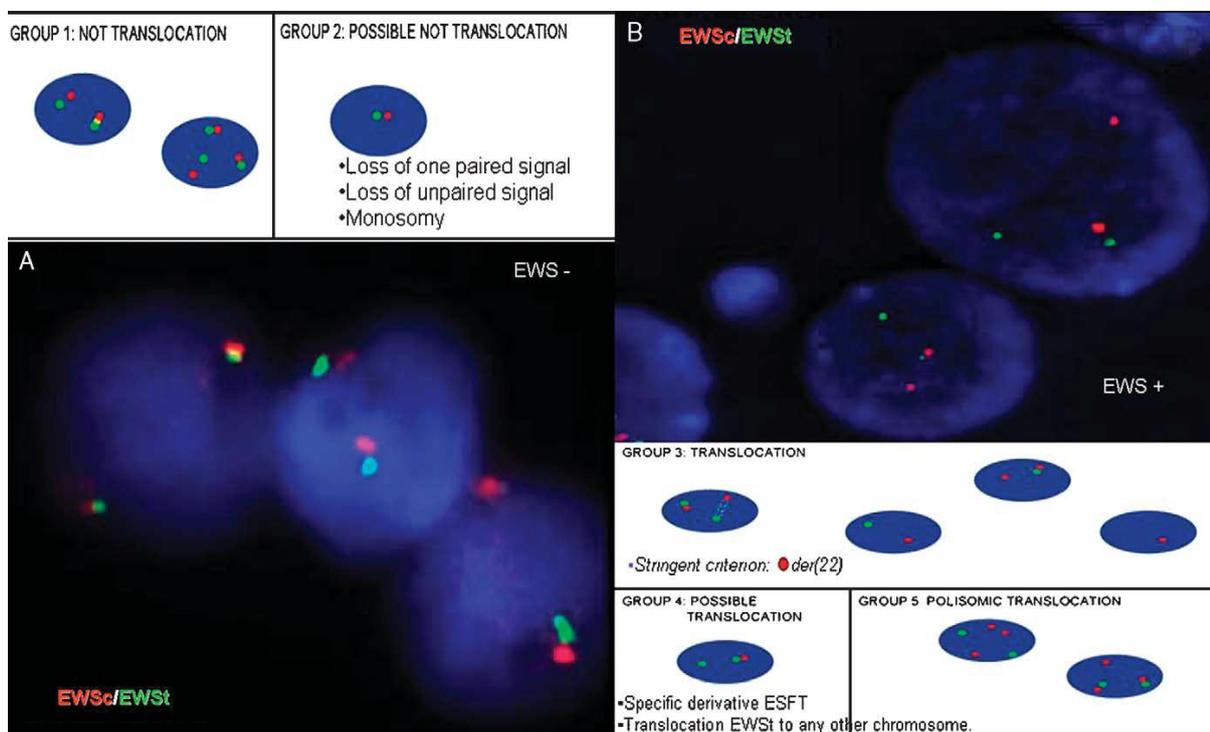


Figure 7 : Schéma de scoring sur des noyaux en interphase à la FISH. A : Les cellules sans translocation présentent 2 signaux fusionnés (jaune) ou 2 signaux très proches (rouge-vert). B : Les cellules avec des translocations EWSR1 présentent un signal fusionné ou très proche (rouge-vert) et l'autre signal non apparié se divise en 2 signaux l'un est vert et l'autre rouge. Ces deux signaux sont séparés, par 3 diamètres de signal ou plus, du signal de couleur opposée [80].

### 2.1.2.2.2.6.2 Amplification génique :

Pratiquement, pour mettre en évidence cette amplification, on utilise des sondes qui incluent un locus de contrôle sans amplification de gène et un locus cible avec amplification de gène sur le même chromosome, respectivement marqués par des colorants vert et rouge (ou l'inverse). On examine le rapport du vert (contrôle) au rouge (amplification) et on considère qu'il y a une amplification si le rapport est de 2,0 ou plus. Schématiquement, les noyaux avec amplification génique présentent peu de signaux verts et de nombreux signaux rouges. (Voir les figures 6 et 8).

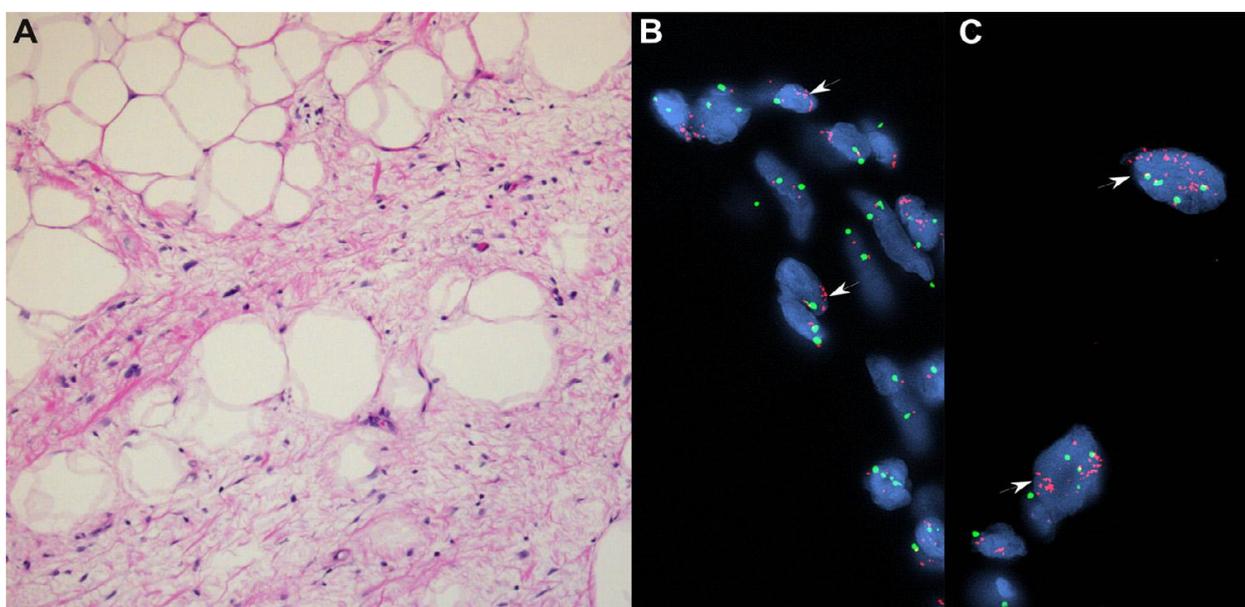


Figure 8 : amplification du gène MDM2 dans une tumeur lipomateuse atypique. A : prélèvement coloré par l'hématoxyline et l'éosine avec grossissement X100. B, C : FISH à partir du prélèvement sur la figure A. en rouge : la sonde MDM2 et en vert : la sonde centromérique de contrôle. B : une amplification faible : les flèches indiquent un noyau représentatif avec quelques copies d'amplification du gène MDM2. C : une amplification importante : les flèches indiquent un noyau avec plusieurs copies d'amplification du gène MDM2 [29].

### **2.1.2.2.6.3 La délétion :**

La délétion du gène INI1 peut être détectée par FISH. Pour estimer la délétion, nous utilisons des sondes qui incluent un locus de contrôle sans délétion de gène et un locus cible avec une délétion de gène, respectivement marqués par des colorants verts et rouges. Une délétion entraîne une diminution du nombre de signaux rouges par rapport aux signaux verts. Schématiquement, les noyaux avec une délétion présentent deux signaux verts et un signal rouge (Voir la figure 6). Nous calculons le pourcentage de cellules avec un signal de délétion car la troncature nucléaire influence souvent la détection des signaux de délétion. Par conséquent, la valeur seuil définitive des délétions doit être évaluée pour chaque type histologique.

### **2.1.2.2.3 Intérêt :**

Les tumeurs des tissus mous peuvent être génétiquement diagnostiquées en utilisant l'hybridation in situ par fluorescence (FISH), un outil pratique et efficace. Cette technique peut détecter des translocations chromosomiques, des amplifications géniques, des délétions géniques et des polyploïdies anormales dans des échantillons fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE), le type d'échantillons que nous utilisons universellement pour le diagnostic pathologique de routine. Parmi les nombreuses anomalies génétiques possibles, des gènes chimériques spécifiques dérivés de translocations chromosomiques sont particulièrement précieux pour le diagnostic de confirmation du sarcome avec translocation.

Actuellement, de nombreuses sondes de FISH commerciales sont disponibles, permettant ainsi d'effectuer cette technique dans de nombreux laboratoires de pathologie et de jouer à l'avenir un rôle de plus en plus important dans l'analyse génétique des tumeurs des tissus mous.

### **2.1.2.3 La RT-PCR :**

La RT-PCR (PCR effectuée après une étape de transcription reverse de l'ARN en ADN complémentaire) est la technique de choix pour détecter les transcrits de fusion résultant d'une translocation réciproque. C'est une technique sensible, spécifique et rapide. L'extrême sensibilité de la technique impose toutefois une rigueur de travail de laboratoire afin d'éviter les faux positifs par contamination du matériel, et les faux négatifs résultants de la dégradation de l'ARN surtout dans les tissus inclus en paraffine [30].

### **2.1.2.4 La PCR quantitative en temps réel :**

La technique de PCR quantitative permet d'étudier des amplifications d'un gène (par exemple amplification du gène MDM2 dans les liposarcomes bien différenciés et dédifférenciés).

## **2.2 Evaluer le pronostic :**

### **2.2.1 Déterminer le grade histologique :**

- ❖ Le grade histologique reste le facteur pronostique le plus important, en particulier vis-à-vis du risque métastatique et de la survie globale [31–33].
- ❖ Plusieurs systèmes de grading existent. Le plus utilisé est celui de la FNCLCC (Fédération nationale des centres de lutte contre le cancer) décrit par Trojani et al [34], un système à trois niveaux qui classe les sarcomes en additionnant les scores attribués à chaque sous-type histologique en fonction de la différenciation, la quantité de nécrose tumorale et du nombre de mitoses. (Voir le tableau 1).

Tableau 1 : le grade histologique selon FNCLCC.

Les paramètres		La définition
<b>La différenciation tumorale</b>		
<b>Le score</b>	1	Sarcome histologiquement similaire au tissu mésenchymateux adulte normal.
	2	Sarcome de sous-type histologique bien défini (Par exemple : liposarcome myxoïde).
	3	Sarcome de type incertain (sarcomes embryonnaires, indifférenciés...)
<b>Le compte mitotique</b>		
<b>Le score</b>	1	0-9 mitoses/10 CFG.
	2	10-19 mitoses/10 CFG.
	3	≥20 mitoses/10 CFG.
<b>La nécrose tumorale microscopique</b>		
<b>Le score</b>	0	Pas de nécrose.
	1	≤50% de nécrose tumorale.
	2	>50% de nécrose tumorale.
<b>Le grade histologique</b>		
<b>Le grade</b>	1	Le score total= 2 ou 3
	2	Le score total= 4 ou 5
	3	Le score total= 6, 7 ou 8

CFG : champ de fort grossissement.

- ❖ Il permet de séparer les tumeurs de bon pronostic (grade 1) de celles de mauvais pronostic (grade 3). La survie sans métastases à cinq ans est de 90%, de 71% et de 43% pour les grades 1, 2 et 3, respectivement [35].
- ❖ Il intervient dans les indications à la chimiothérapie adjuvante. Les sarcomes de grade 1 ne métastasent presque jamais, leur traitement est local (chirurgie suivie souvent d'une radiothérapie en cas de marges d'exérèse insuffisantes). La chimiothérapie adjuvante est en général réservée aux sarcomes de grade 3, à haut risque métastatique.

### 2.2.2 Evaluer l'extension tumorale :

Par le stade TNM de l'American Joint Cancer Committee (AJCC) du tronc et des extrémités [36] (voir tableaux 2 et 3).

**Tableau 2 : stade TNM selon l'AJCC (8<sup>ème</sup> édition).**

La catégorie	La définition
<b>La tumeur (T)</b>	
TX	La tumeur primaire ne peut être évaluée.
T0	Aucun signe de tumeur primaire.
T1	Tumeur dont le grand axe est $\leq 5$ cm.
T2	Tumeur dont le grand axe est $>5$ cm et $\leq 10$ cm.
T3	Tumeur dont le grand axe est $>10$ cm et $\leq 15$ cm.
T4	Tumeur dont le grand axe est $>15$ cm.
<b>L'état ganglionnaire (N)</b>	
N0	Pas d'atteinte ganglionnaire régionale ou statut ganglionnaire indéterminé.
N1	Atteinte ganglionnaire régionale.
<b>L'état métastatique (M)</b>	
M0	Absence de métastases.
M1	Présence de métastases.

**Tableau 3 : La classification des stades pronostiques selon l'AJCC (8<sup>ème</sup> édition).**

Le stade	La tumeur primaire (T)	L'état ganglionnaire régional (N)	L'état Métastatique (M)	Le grade Histologique (G)
IA	T1	N0	M0	G1, GX
IB	T2, T3, T4	N0	M0	G1, GX
II	T1	N0	M0	G2, G3
IIIA	T2	N0	M0	G2, G3
IIIB	T3, T4 Quel que soit le T	N0 N1	M0 M0	G2, G3 Quel que soit le G
IV	Quel que soit le T	Quel que soit le N	M1	Quel que soit le G

### **2.2.3 Evaluer la qualité de l'exérèse chirurgicale :**

- Dans la plupart des études, la qualité de l'exérèse chirurgicale initiale ressort comme le plus important facteur prédictif de récurrence locale [37].
- Sur une pièce d'exérèse, l'évaluation des marges d'exérèse de sécurité est un temps crucial de l'examen anatomopathologique. Le pathologiste doit donc indiquer la distance (en cm ou en mm) qui sépare la tumeur et la pseudo-capsule qui l'entoure des différentes marges d'exérèse [38].
- La positivité des marges dans le tronc et les extrémités est souvent définie comme la présence de cellules néoplasiques  $\leq 1$  mm de la surface encrée ou la présence d'une barrière anatomique [39].

### **2.2.4 Déterminer les facteurs pronostiques moléculaires :**

- Dans certains types de sarcomes, des facteurs pronostiques moléculaires ont pu être identifiés. C'est le cas par exemple des rhabdomyosarcomes alvéolaires, porteurs d'une translocation PAX7 qui sont moins prolifératifs et ont tendance à donner moins de métastases que ceux porteurs de la translocation PAX3 [40].

- Au sein des sarcomes avec fusion de CIC, la fusion avec NUTM1 comme partenaire pourrait s'avérer de moins bon pronostic que la fusion avec DUX4, FOXO4 [41].
- Dans les sarcomes d'Ewing, d'autres anomalies comme l'inactivation (par mutation ou délétion) des gènes codants pour le p53 ou le p16 sont associées à un risque métastatique et un taux de mortalité très élevés [42].

### **2.2.5 Evaluer la réponse au traitement comme marqueur pronostique :**

- Evaluer sur une pièce d'exérèse, la réponse à la chimiothérapie, à la radiothérapie, ou aux thérapeutiques ciblées.
- Cependant, la valeur et la modalité de l'évaluation de la réponse tumorale sont encore controversées : Un article récent du Brigham and Women's Hospital évaluant la valeur pronostique du score de réponse EORTC-STBSG après radiothérapie, n'a trouvé aucune association avec la viabilité de la tumeur et la survie globale, ni avec la survie sans récurrence locale (SSR), alors que l'hyalinisation/fibrose s'est avérée être un facteur prédictif favorable indépendant significatif de la SSR et de la survie générale [43]. Au contraire, l'étude par le *French Sarcoma Group* a découvert qu'une bonne réponse pathologique, définie comme <10 % de cellules tumorales viables sur la pièce d'exérèse, était associée de manière uni- et multivariée à une meilleure survie globale et à une meilleure survie sans progression métastatique (SSPM) [44].

### **2.2.6 Détecter une maladie résiduelle après traitement ou une rechute infraclinique :**

Les méthodes de biologie moléculaire (RT-PCR surtout) interviennent dans la surveillance de certains patients porteurs d'un sarcome d'Ewing ou d'un rhabdomyosarcome alvéolaire, notamment dans la détection d'une maladie résiduelle qui persiste après un traitement et la détection précoce d'une rechute infraclinique [44].

# MATERIELS

# ET METHODES

## **1. Le type et le cadre de l'étude :**

### **1.1. Le type et la période de l'étude :**

Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive, analytique, et comparative, incluant tous les cas de sarcomes des tissus mous à génomique simple des extrémités diagnostiqués au service d'anatomie et de cytologie pathologique du CHU Hassan II de Fès, sur une période de 10 ans (2010 – 2019).

### **1.2. Les critères d'inclusion :**

Ils sont inclus dans notre étude :

- Les patients adultes avec un âge  $>18$  ans ; ayant des tumeurs pour lesquelles le diagnostic histologique de sarcome des tissus mous a été retenu sur des critères cliniques, radiologiques, morphologiques et immunohistochimiques ; en se basant sur la classification de l'OMS 2020 (voir l'annexe 2) ; sous la catégorie de tumeurs malignes des parties molles, quel que soit le sexe de ces patients.
- Exclusivement les patients ayant des tumeurs localisées sur les extrémités.
- Les patients ayant des STM pour lesquels on a pratiqué un examen de la FISH sur des prélèvements de tissus fixés au Formol et inclus en paraffine.
- Pour évaluer l'intérêt pronostique de la FISH nous avons inclus également les anciens cas des STM pour lesquels la FISH n'a pas été réalisée.

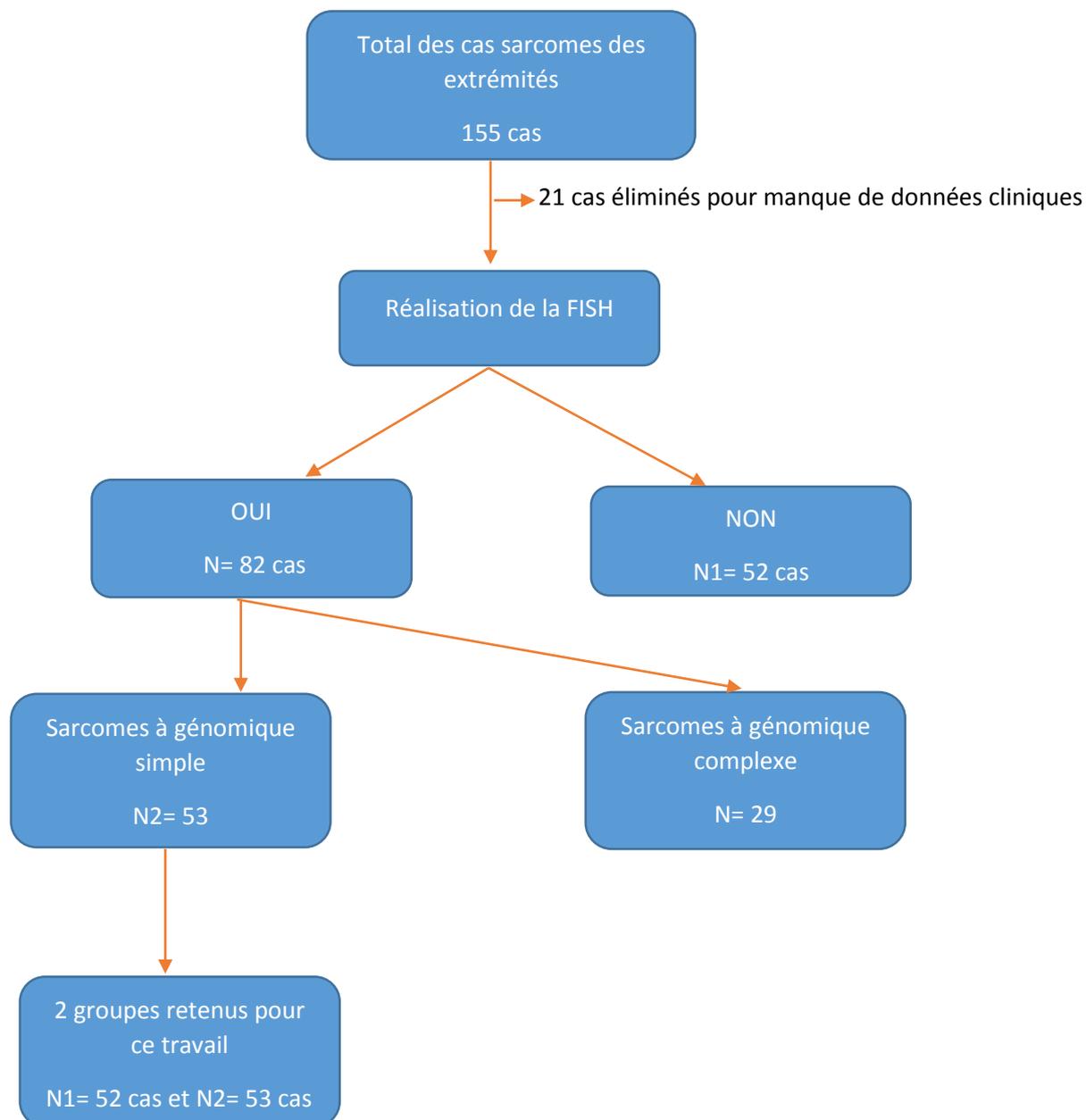


Figure 9 : la sélection de cas et les étapes de notre étude.

### **1.3. Les critères d'exclusion :**

Ils sont exclus de notre étude :

- Les sarcomes localisés hors extrémités.
- Les patients ayant des sarcomes osseux.
- Les dossiers cliniques incomplets, concernant surtout l'évolution.

## **2. Le recueil des données cliniques :**

- ❖ On a extrait toutes les informations cliniques et anatomopathologiques à partir du dossier médical informatisé (HOSIX). Ceci a été fait à l'aide d'une fiche d'exploitation (Annexe 2).
- ❖ Les informations extraites sont :

### **2.1. Les données démographiques :**

#### **2.1.1. L'âge au moment du diagnostic :**

L'âge est précisé en années, on a réparti l'âge des patients en 4 tranches qui sont : l'âge compris entre 18 et 40 ans, entre 41 et 60 ans, entre 61 et 80 ans, et l'âge supérieur à 80 ans.

#### **2.1.2. Le sexe :**

Féminin ou masculin.

### **2.2. Les données cliniques :**

#### **2.2.1. Le siège de la tumeur :**

Les tumeurs ont été réparties en 2 groupes majeurs qui sont les tumeurs siégeant au niveau du membre supérieur et celles siégeant au membre inférieur. Chacun des deux groupes est divisé en plusieurs sous-groupes selon le siège de la tumeur au niveau du membre.

### **2.2.2. La taille de la tumeur :**

On a réparti les tumeurs en deux groupes. Le premier groupe regroupe les tumeurs de taille inférieure à 10 cm et l'autre regroupe les tumeurs de taille supérieure à 10 cm.

### **2.2.3. La profondeur de la tumeur :**

Les tumeurs sont classées en tumeurs superficielles (sus-aponévrotiques) ou profondes (sous-aponévrotiques).

## **3. Les données anatomopathologiques :**

### **3.1. La prise en charge macroscopique des prélèvements :**

#### **3.1.1. Prélèvements biopsiques :**

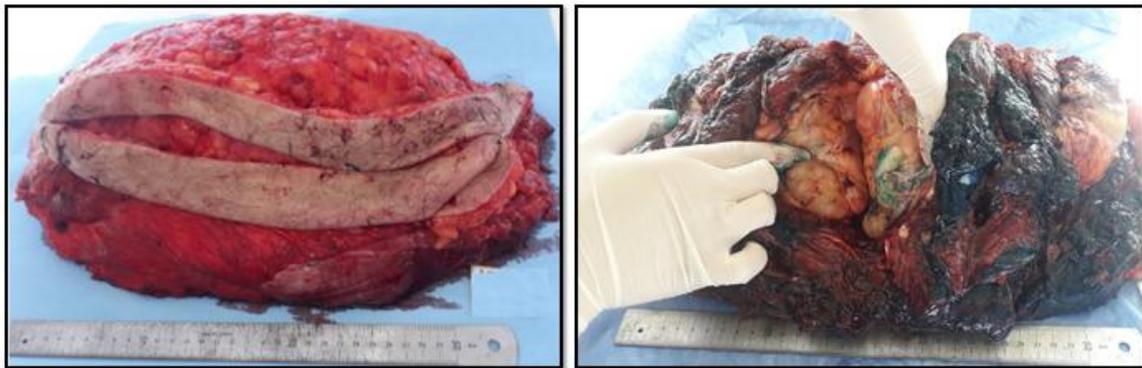
Les biopsies étaient soit radioguidées soit chirurgicales. Elles ont été fixées au Formol tamponné, puis incluses en 2 cassettes au minimum pour éviter l'épuisement du prélèvement.



**Figure 10 : biopsie radioguidée : les carottes biopsiques ont été incluses dans deux cassettes.**

### **3.1.2. Pièces opératoires :**

Les pièces ont été reçues dans notre laboratoire, orientées par le traumatologue, encrées à l'état frais, puis ont été ouvertes selon des tranches d'un centimètre d'épaisseur pour permettre une fixation optimale de la pièce opératoire. Les pièces ont été ensuite fixées dans du Formol tamponné. La durée de fixation dépendait de la taille de la pièce avec un maximum de 72h.



**Figure 11 : aspect macroscopique d'une pièce opératoire d'une compartimentectomie au niveau de la cuisse.**

### **3.1.3. Fixation :**

La fixation des prélèvements a été faite dans du Formol tamponné, dont la préparation a comporté :

- 200 ml de Formol 37%.
- 7g de phosphate monosodique.
- 13g de phosphate disodique.
- 2L d'eau distillée.

### 3.1.4. Inclusion en Paraffine :

L'inclusion des prélèvements a été faite dans la paraffine chauffée à 56°C. Après l'inclusion, les blocs sont mis dans une plaque refroidie à -10°C avant le démoulage des blocs.



Figure 12 : Console d'enrobage des tissus « Tissue Tek TEC 5) utilisé au service.

### **3.1.5. La coupe :**

Les blocs ont été coupés au microtome (coupes de 3 à 5 microns). Les rubans étaient étalés par la suite dans un bain Marie chauffé à 49°C (préparation : 2 g de gélatine dans 2 L d'eau distillée, puis récupérés par les lames. Celles-ci ont été déparaffinées dans l'étuve à 65°C pendant 30 min.



**Figure 13 : Microtome rotatif semi-automatique AEM 450 utilisé au service.**

### **3.1.6. L'étude microscopique :**

#### **3.1.6.1. L'analyse morphologique :**

Elle a été effectuée sur des prélèvements colorés par la coloration standard HES (Hématoxyline, éosine, safran).

##### **3.1.6.1.1. La coloration standard HES :**

C'est une coloration histologique topographique standard qui comporte une coloration trichromique : nucléaire par l'hémalum, une coloration cytoplasmique par la phloxine ou l'éosine, et une coloration du collagène par le safran.

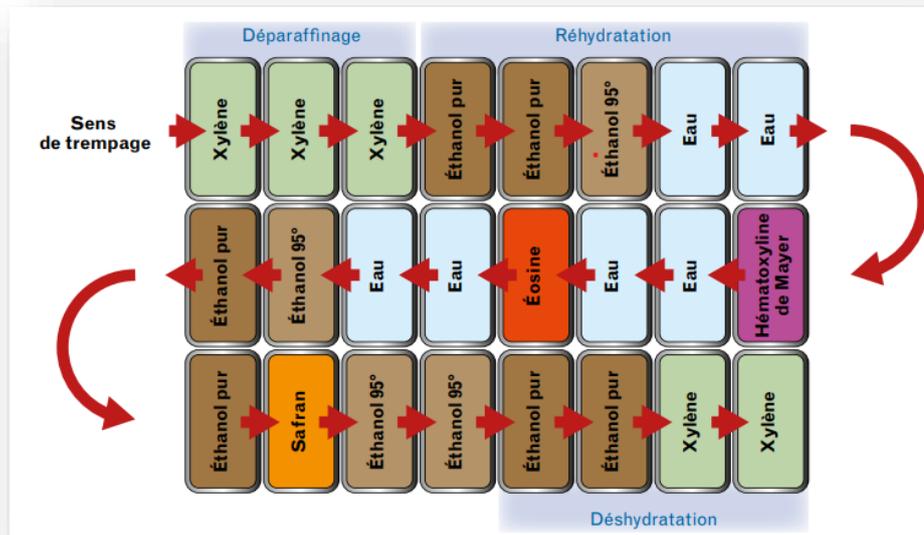


Figure 14 : Schéma illustrant les différentes étapes de coloration standard.



Figure 15 : Automate de coloration des lames Tissue Tek DRS 2000 utilisé au service.

### **3.1.6.1.2. Le diagnostic histologique :**

- Les tumeurs ont été réparties en tumeurs à cellules rondes, fusiformes, adipeuses, pléomorphes, fusiformes et épithéliales, et adipeuses et rondes.
- Une classification histologique a été établie pour chaque cas en se basant sur les profils cliniques, radiologiques, et morphologiques selon la classification de l'OMS de 2020 (annexe 1).
- Puis on a réparti les diagnostics en 2 catégories de degré de certitude diagnostique différents [45] :
  - La première catégorie : « Diagnostic probable » : Le diagnostic établi est le diagnostic le plus probable, la suspicion d'autres diagnostics différentiels vient au deuxième rang ou après élimination du diagnostic le plus probable.
  - La deuxième catégorie : « Diagnostic possible » : Le diagnostic est évoqué en dernier lorsque les autres diagnostics différentiels sont éliminés.
- Le grade histopronostique était établi selon le grading de la FNCLCC (tableau 1).

### **3.1.6.2. L'étude immunohistochimique :**

Une étude immunohistochimique a été réalisée dans la majorité des cas, selon l'orientation diagnostique morphologique.

#### **3.1.6.2.1. La technique d'immunohistochimie indirecte :**

- La technique d'immunohistochimie a été réalisée sur des coupes de tissu fixé au Formol et inclus en paraffine, et coupé à 5 µm d'épaisseur.
- Les fragments tissulaires coupés ont été étalés sur des lames silanées commercialisées spécialement pour cette technique. Les lames ont été incubées dans une étuve dont la température est réglée à 58°C pendant une nuit. Par la suite, un déparaffinage a été fait en immergeant les lames dans deux bains de Toluène pendant 5 min, puis deux bains d'éthanol absolu et à 95% successivement pendant 5 min. Après, un démasquage a été réalisé dans le but de provoquer une

rupture des liaisons entre les protéines lors de la fixation, pour permettre l'accessibilité de la reconnaissance de l'anticorps spécifique. Ce démasquage a été réalisé à l'aide d'une solution livrée avec le Kit commercialisé, et utilisée après dilution dans l'eau distillée. La dénaturation est nécessaire pour libérer les sites de fixation des anticorps sur leurs récepteurs antigéniques spécifiques, et se fait par un passage au bain marie à 95°C, suivi d'un refroidissement des lames à température ambiante pendant 20 à 30 min dans leur solution de démasquage. Par la suite, les lames sont rincées dans un bain de PBS (Phosphate-Buffered Saline) dont le but est d'arrêter la dénaturation. Les lames sont ensuite mises dans un milieu humide, fait d'un papier imbibé par l'eau distillée.

- Après avoir mis la peroxydase bloquante (1 à 2 gouttes/fragment), un rinçage à la solution de PBS est réalisé par la suite pour appliquer l'anticorps primaire (incubation à l'obscurité pendant 45 min), puis un lavage par la solution de PBS dans deux bains pendant 5 min, puis l'application de l'anticorps secondaire (incubation pendant 30 min), puis un rinçage par la solution de PBS.
- La révélation du complexe Ac-Ag a été réalisée à l'aide d'une solution de révélation fraîchement préparée en mélangeant une goutte de DAB (3,3-Diaminobenzidine, DAKO) (qui est un chromogène donnant une coloration marron des sites spécifiques) avec 1 ml d'un tampon spécial livré avec le Kit. Cette étape est suivie par un rinçage par l'eau distillée, suivi d'une application de l'hématoxyline (pour permettre la coloration des noyaux en bleu), suivie d'un deuxième lavage à l'eau distillée.
- La dernière étape a consisté à faire passer les lames dans une solution d'alcool ammoniacal, puis une déshydratation par un bain d'alcool de concentration décroissante avant de finir par un montage standard. (Voir la figure 16).

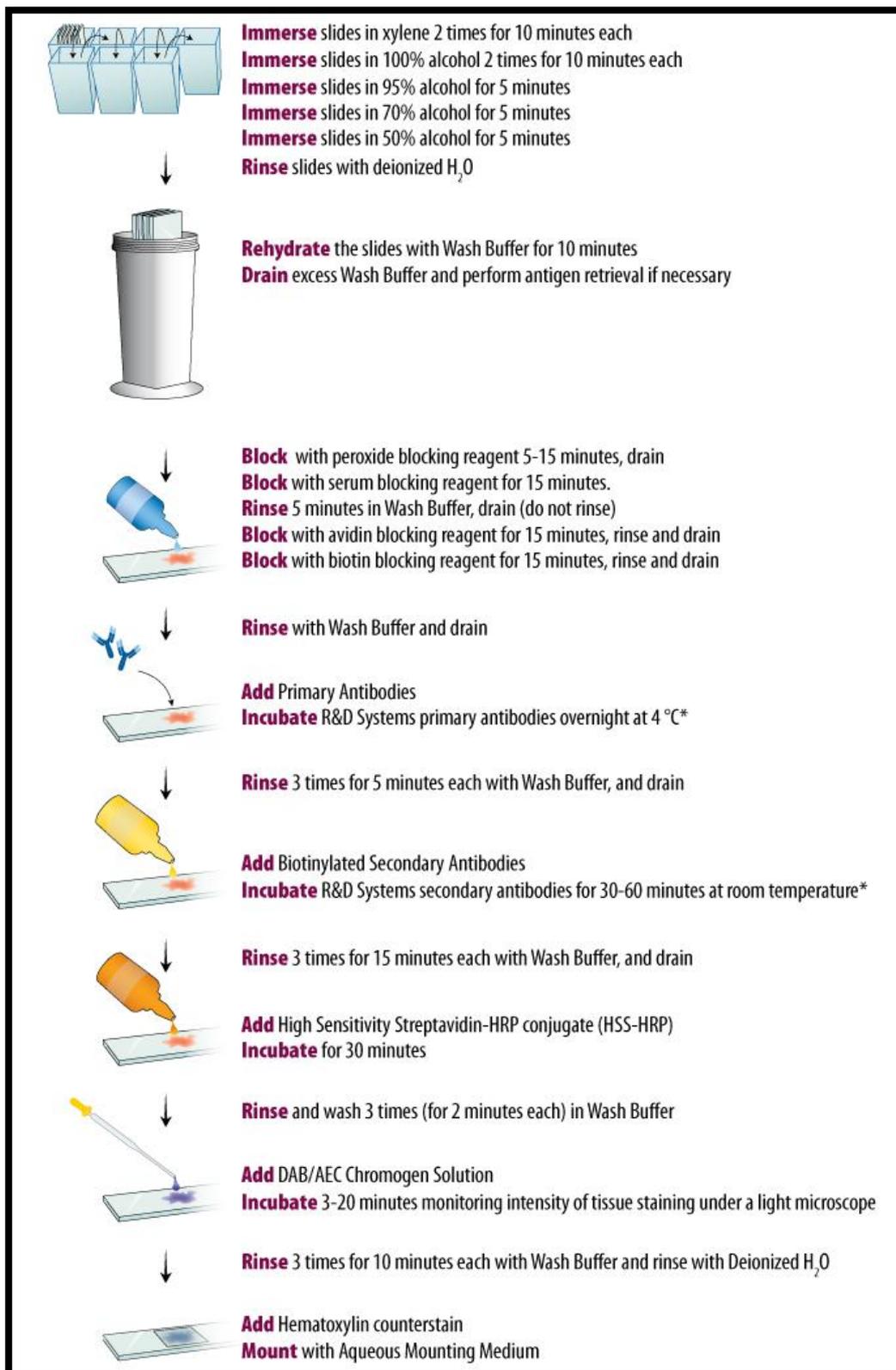


Figure 16 : schéma résumant les différentes étapes du protocole de l'immunohistochimie indirecte [8].

**3.1.6.2.2. Le choix des anticorps :**

Le choix des anticorps à réaliser dépend de l'aspect morphologique et de l'orientation clinique et radiologique.

**Tableau 4 : la liste des anticorps utilisés dans ce travail.**

<b>Anticorps</b>	<b>Clone</b>	<b>Marquage</b>
CK	AE1 /AE3 DAKO	Cytoplasmique
CD99	12 EZ DAKO	Membranaire
AML	1A4 DAKO	Cytoplasmique
DESMINE	D33 DAKO	Cytoplasmique
H-CALDESZONE	h-CD DAKO	Cytoplasmique
MYOGENINE	F5D DAKO	Cytoplasmique
EMA	E29 DAKO	Cytoplasmique/membranaire
PS 100	POLYCLONAL Rabbit AntiS100 DAKO	Cytoplasmique
CD34	QBend10 DAKO	Membranaire
CD31	JC70a DAKO	Membranaire
STAT6	EP 325 DAKO	Nucléaire

### **3.1.6.3. L'étude cytogénétique par hybridation in situ fluorescente (FISH) :**

#### **3.1.6.3.1. La technique de le FISH :**

Devant des sarcomes à cellules rondes, des sarcomes à cellules fusiformes, des néoplasies myxoïdes ou des néoplasies adipocytaires, une étude par FISH a été faite. Nous avons utilisé des sondes BREAK-APART Vysis pour analyser les gènes MDM2, SS18 et EWSR1.

La technique consistait à la recherche d'anomalies moléculaires d'ADN sur des blocs de paraffine, avec l'utilisation de lames chargées positivement (Super Frost). Ces lames ont été analysées sur un microscope à épifluorescence (Leica DM 2500), en utilisant un filtre triple bande DAPI – vert – rouge.

#### **3.1.6.3.1.1. Le matériel requis :**

La technique nécessite la disponibilité et le bon fonctionnement des instruments suivants :

- ✓ Un agitateur magnétique (Fisher B94386).
- ✓ Un bain-Marie (Fisher A90664 + A86692).
- ✓ Une balance de précision (Fisher B21560).
- ✓ Une micro-centrifugeuse (Fisher B92100).
- ✓ Des chronomètres (Fisher B57901).
- ✓ Un microscope a épifluorescence (Olympus AX 70).
- ✓ P (pipette) 0.5–10 µl (Fisher B75031).
- ✓ P 10–100 µl (Fisher B75033).
- ✓ P 100–1000 µl (Fisher B75035).
- ✓ Un pH mètre (Fisher A16342).
- ✓ Un thermomètre calibré (Fisher A86519).
- ✓ Un agitateur Vortex (Fisher A11118).
- ✓ Une platine d'hybridation THERMOBRITE (Abbott 7J9120).

### **3.1.6.3.1.2. La préparation des solutions:**

#### **☞ Le 20X Saline–Sodium Citrate (SSC) (Sodium chloride, 0.3M sodium citrate, pH 5.3)**

##### **- Le matériel :**

- HCl 5N (VWR 30018298).
- 20X SSC (ABBOTT 2J1032 ou flacon du kit PathVysion).

##### **- La préparation :**

On a dilué 66g de 20X SSC dans 200ml d'H<sub>2</sub>O déminéralisé (H<sub>2</sub>O<sub>d</sub>) sur agitateur magnétique. On a mesuré le pH et ajusté celui-ci à pH 5.3 avec l'HCl concentré. On a ajusté le volume quantité suffisante pour (qsp) 250mL avec H<sub>2</sub>O<sub>d</sub>. On a filtré la solution (unité de filtration de porosité 0.45µm). Puis, on a stocké à température ambiante jusqu'à 6 mois.

**Nb :** On peut directement utiliser du 20XSSC prêt à l'emploi.

#### **☞ Le tampon de lavage Post-hybridation 20XSSC /0.3% NP 40 :**

##### **Le matériel :**

- NaOH 1N (VWR31627290).
- NP40 (ABBOTT).

##### **La préparation :**

- Dans un Erlenmeyer sur agitateur magnétique, on a dilué 3mL de NP40 dans 100mL de 20XSSC. (On a d'abords commencé à diluer dans un petit volume de 20XSSC pour faciliter la dissolution du NP40 qui est très visqueux).
- On a ajouté 850mL d'H<sub>2</sub>O<sub>d</sub> et ajusté le pH à 7–7.5 avec du 1N NaOH (ici il peut être nécessaire d'utiliser du HCl si la solution 20XSSC est achetée prête à l'emploi).

**Nb :** Il faut jeter la solution après chaque jour d'utilisation. La solution stock peut être gardée jusqu'à 6 mois à température ambiante. Ne plus utiliser si la solution présente un aspect trouble ou contaminé.

### ☞ La dilution d'Ethanol :

- Ethanol 70% : 700 ml Ethanol, ajuster à 1L avec H<sub>2</sub>O.
- Ethanol 85% : 850 ml Ethanol, ajuster à 1L avec H<sub>2</sub>O.

### ➤ La technique :

#### ☞ Les réactifs nécessaires :

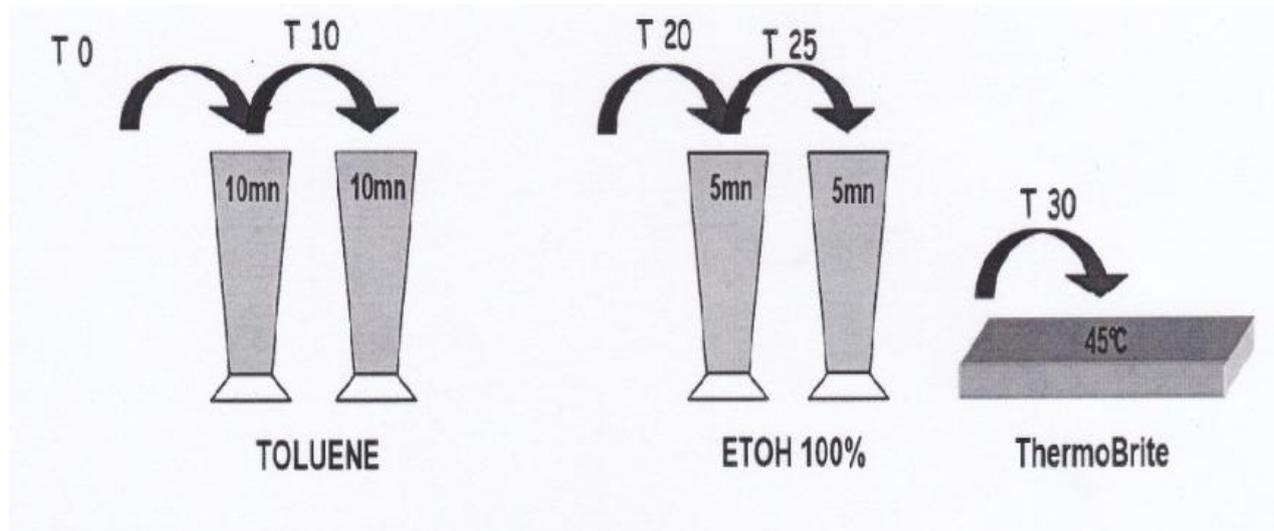
- ✓ Le toluène.
- ✓ La solution de 1XSSC, pH 7–7.5.
- ✓ Les solutions préparées dans la section 2.
- ✓ La pepsine diluée : On a utilisé la pepsine Vysis (protéase I (2x250mg ref.2J0832)) et le tampon pepsine Vysis (2x62, 5mL ref.1N9901). On a mélangé 1 tube de 250 mg de pepsine dans un flacon de tampon pepsine. On a laissé incuber 15 minutes à 37°C. On a aliquoté dans des tubes type Eppendor f et congelé à –20°C (en moyenne compter qu'un aliquot peut permettre de préparer 3 à 4 lames mais tout dépend de la taille de la section de tissu).
- ✓ DAPI (4,6 dimidino2–phenylindole) : Flacon contenus dans le kit PathVysion ou ref. ABBOT 6J4901

### **3.1.6.3.1.3. La préparation des lames pour FISH :**

On a placé les lames (épaisseur de coupes de 4 µm) à hybrider dans un incubateur à 56°C la veille de la technique.

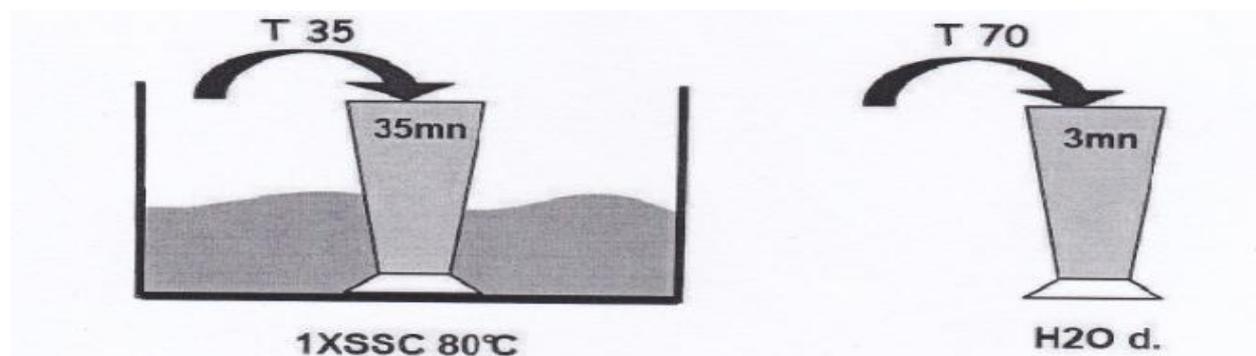
#### **3.1.6.3.1.3.1. Le déparaffinage :**

- ✓ On a immergé les lames dans du toluène 10 min (2x).
- ✓ Puis dans de l'Ethanol 5min (2x).
- ✓ On a séché les lames sur le Thermobrite réglé à 45°C (3 à 5 min) ou à température ambiante.



### **3.1.6.3.1.3.2. Le prétraitement :**

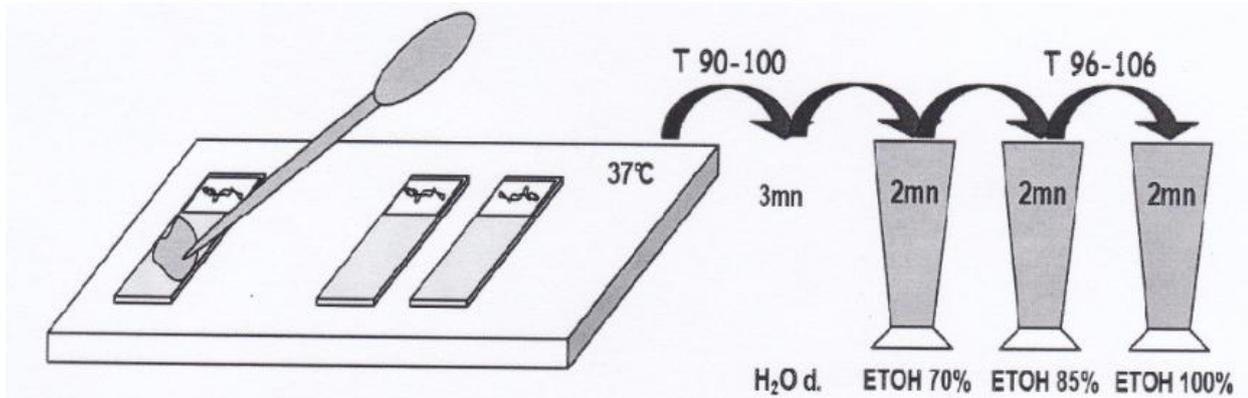
- ✓ On a immergé les lames dans la solution de 1XSSC à 80°C pendant 35 min.
- ✓ Puis dans du H2O d pendant 3min.



### **3.1.6.3.1.3.2.1. Le traitement à la pepsine :**

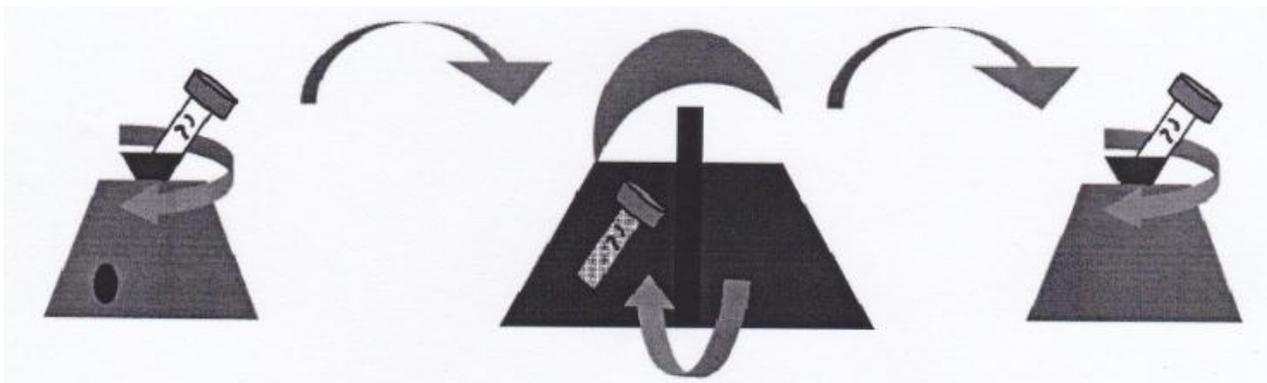
- ✓ On a placé les lames sur le Thermobrite à 37°C et on a recouvert la section avec la pepsine diluée.
- ✓ On a laissé incuber pendant 18min.
- ✓ On a immergé les lames dans du H2O d pendant 3 min.
- ✓ On a déshydraté les lames dans un gradient d'Ethanol 70, 85, 100 pendant 2min chaque.

- ✓ On a laissé sécher les lames avant de procéder à l'étape d'hybridation.



#### 3.1.6.3.1.4. L'hybridation des échantillons :

- ✓ On a fait sortir la sonde du congélateur et l'a laissée atteindre la température ambiante.
- ✓ On a centrifugé la sonde, l'a vortexé et la centrifugé à nouveau.



- ✓ On a déposé entre 5 et 10 $\mu$ l de sonde sur une lamelle.
- ✓ On a pris la lame échantillon et la retourné sur la lamelle.
- ✓ On a retourné immédiatement la lame et on a scellé la lamelle à l'aide du rubber cement.



- ✓ On a placé la lame dans le thermobrite et laissé incubé à 37°C pendant environ 5min avant de lancer le programme de dénaturation/hybridation.

#### **3.1.6.3.1.5. Le lavage post-hybridation :**

Le lavage post-hybridation permet l'élimination des sondes non hybridées ce qui donne plus de spécificité au signal détecté [17].

A partir de cette étape, on a travaillé en lumière réduite de manière à préserver les fluorochromes des sondes présentes sur les lames.

- ✓ A la fin de l'hybridation, on a fait sortir les lames du thermobrite.
- ✓ On a retiré le rubber cement sans retirer la lamelle, et on a placé la lame dans la solution de lavage 20XSSC / 0,3% NP40 à température ambiante. On a compté 30s à 1 min, le temps de traiter la totalité des lames. (Pour plus de facilité, on peut placer deux lames dos à dos).
- ✓ On a retiré ensuite délicatement les lamelles et transféré les lames dans la solution 20XSSC / 0,3% NP40 à 73°C. On a agité rapidement et on a lancé le chronomètre réglé à 2min.
- ✓ On a retiré les lames de la solution à 37°C et on a effectué un rinçage rapide dans la solution à température ambiante.
- ✓ On a mis les lames à sécher à l'obscurité et on a fait sortir le DAPI du congélateur.

#### **3.1.6.3.1.6. La contre-coloration des noyaux au DAPI :**

- ✓ On a déposé 10 à 20 $\mu$ l de DAPI (dépend de la taille de la lamelle) sur une lamelle couvre-objet.
- ✓ On a retourné la lame échantillon sur la lamelle (même technique que pour la sonde d'hybridation).
- ✓ On a placé les lames à 4°C pendant au moins 5 min avant de procéder à la lecture sous microscope.

### **4. Les données évolutives :**

#### **4.1. La survie :**

- On a précisé si le patient est vivant ou décédé
- La survie globale correspond à la proportion des patients vivant après la date du diagnostic.
- On a considéré que la date du diagnostic est celle du premier rendez-vous dans notre centre hospitalier.

#### **4.2. La récurrence locale :**

On a précisé si la récurrence locale est présente ou non, et à quel délai du moment du diagnostic.

#### **4.3. La métastase :**

On a précisé si la métastase (tous sites métastatiques confondus) est présente ou non, et à quel délai du moment du diagnostic.

## 5. L'analyse statistique :

- L'ensemble des données recueillies a été saisi et analysé au moyen du logiciel « SPSS Statistics version 26 ».
- Les variables qualitatives ont été décrites par les moyennes et les médianes, alors que les variables quantitatives ont été décrites par les effectifs et les pourcentages.
- La comparaison de la distribution des paramètres qualitatifs, selon certains critères, a été réalisée à l'aide d'un test du Khi-carré de Pearson,  $p < 0,05$  était considéré comme significatif.
- La sensibilité, la spécificité, les valeurs prédictives positive et négative du test de la FISH ont été calculées par un outil de calcul médico-statistique [46].
- La survie a été décrite par la méthode de Kaplan-Meier. Les événements considérés étaient la survenue du premier événement (progression locorégionale, progression métastatique et décès toutes causes confondues). La date originale de l'étude était la date du diagnostic.

# RESULTATS

# 1. Etude descriptive :

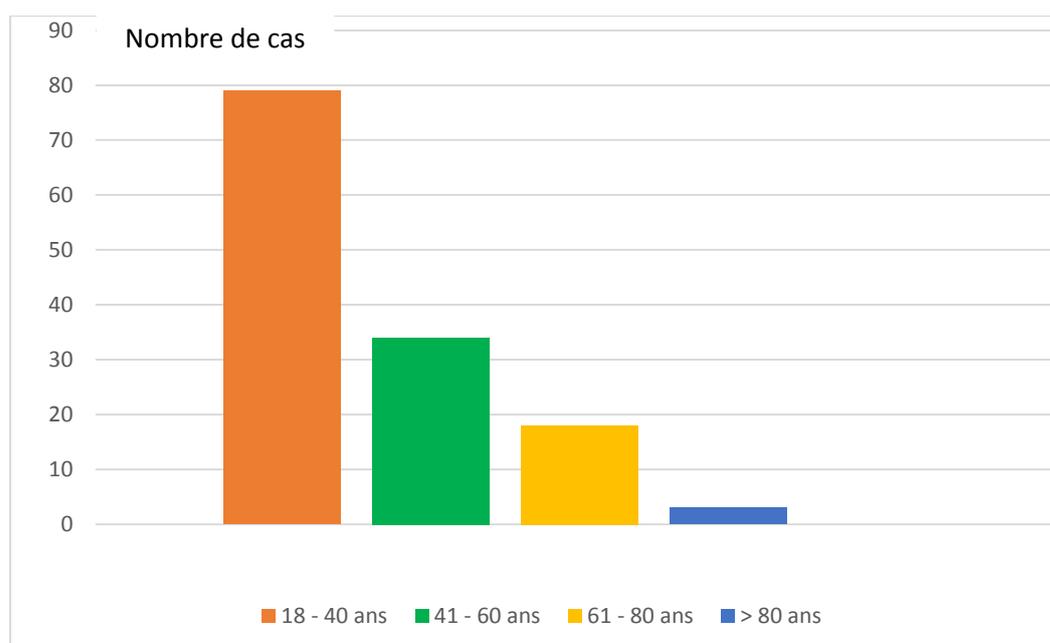
## 1.1. Les données démographiques :

### 1.1.1. La répartition des cas selon l'âge :

- L'âge des patients variait entre 18 et 86 ans, la moyenne d'âge est de 38 ans, l'écart type à 19.553.
- La tranche d'âge la plus touchée est celle comprise entre 18 et 40 ans avec 59% de cas. (Voir le tableau 5 et la figure 17).

**Tableau 5 : la répartition des cas en nombre et en pourcentage selon les tranches d'âge.**

Les tranches d'âge en année	Le nombre	Le pourcentage
18 - 40	79	59%
41 - 60	34	25,4%
61 - 80	18	13.4%
Supérieur à 80	3	2,2%
Total	134	100%



**Figure 17 : la répartition des cas en nombre selon les tranches d'âge.**

### **1.1.2. La répartition des cas selon le sexe :**

Le sexe masculin est plus touché dans notre série avec 73 cas (54.5%), Le sexe ratio est à 1,2 H/F. (Voir la figure 18)

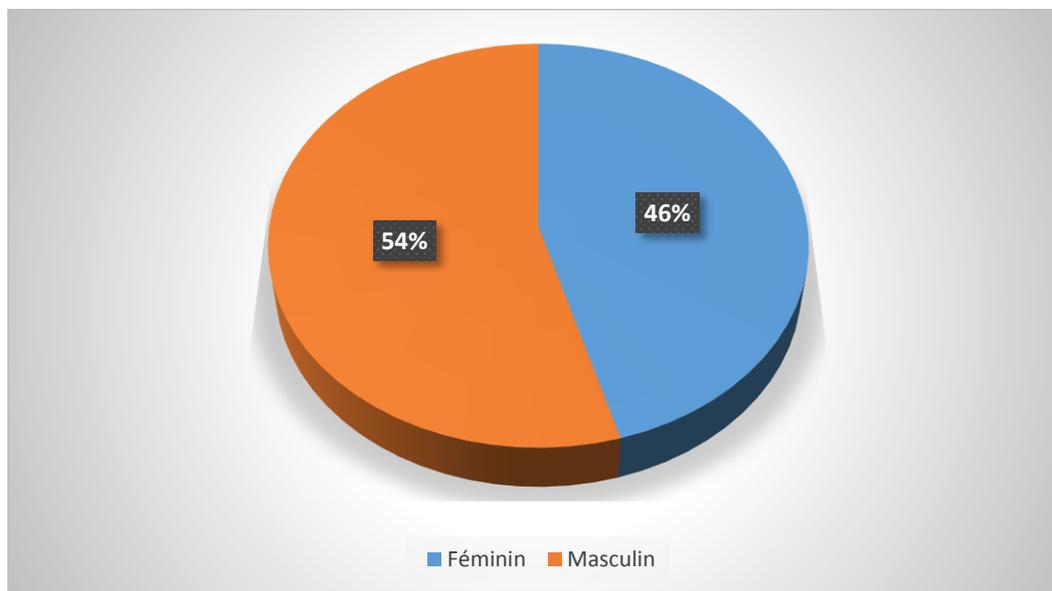


Figure 18 : la répartition des cas en pourcentage selon le sexe.

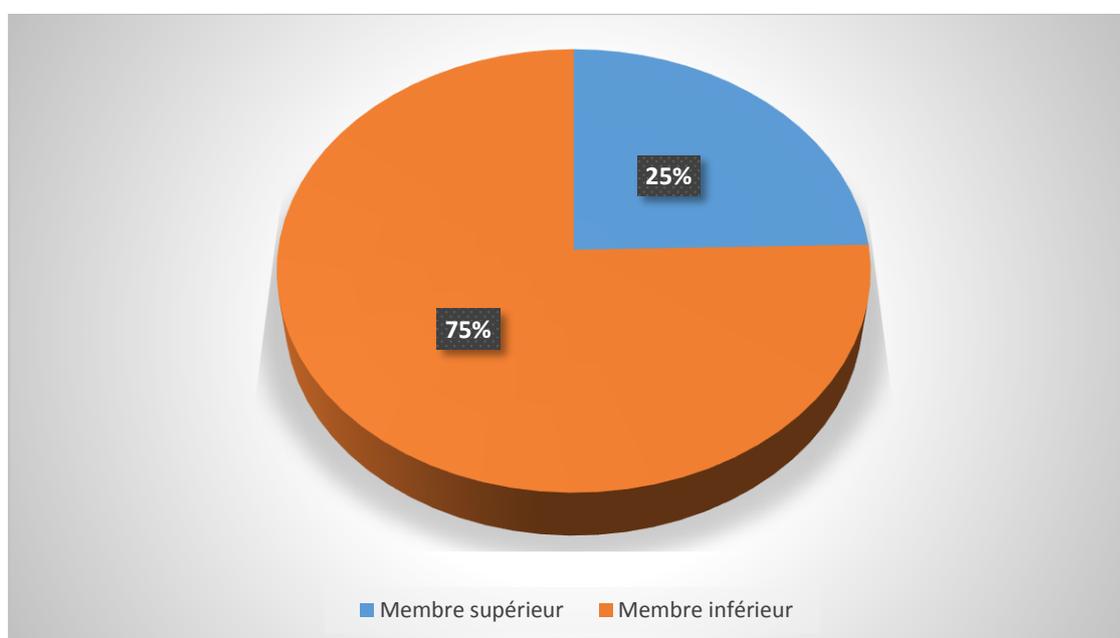
## **1.2. Les données cliniques :**

### **1.2.1. La répartition des cas selon la localisation tumorale :**

- La majorité des cas de notre série sont localisés au niveau du membre inférieur (101 cas, 75.4%). Le reste (33 cas, 24.6%) est localisé au niveau du membre supérieur.
- La localisation la plus fréquente est la cuisse (50 cas), suivie de la jambe (27 cas), puis le bras (16 cas), ensuite l'épaule (15 cas), puis les fesses (11 cas), puis le genou (9 cas), l'avant-bras, la cheville et le pied (2 cas chacun). (Voir le tableau 6 et les figures 19).

**Tableau 6 : la répartition des cas en nombre et en pourcentage selon la localisation de la tumeur.**

Le siège de la tumeur	Le nombre	Le pourcentage
<b>MEMBRE SUPERIEUR</b>	33	24.6%
Epaule	15	11.2%
Bras	16	11.9%
Avant-bras	2	1.5%
<b>MEMBRE INFERIEUR</b>	101	75.4%
Fesse	11	8.2%
Cuisse	50	37.3%
Genou / Creux poplité	9	6.7%
Jambe	27	20.1%
Cheville	2	1,5%
Pied	2	1.5%
<b>Total</b>	<b>134</b>	<b>100%</b>



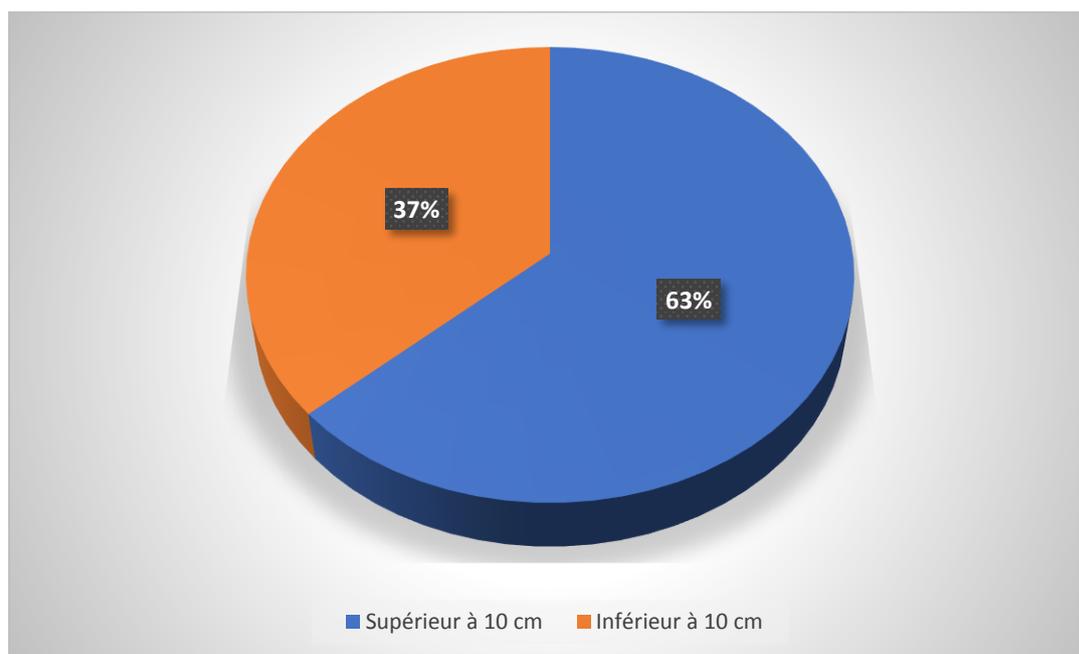
**Figure 19 : la répartition des cas en pourcentage selon la localisation de la tumeur.**

### 1.2.2. La répartition des cas selon la taille de la tumeur :

La plupart des tumeurs ont une taille supérieure à 10 cm (85 cas, 63.4%). (Voir tableau 7 et figure 20).

**Tableau 7 : la répartition des cas en nombre et en pourcentage selon la taille de la tumeur.**

La taille de la tumeur	Le nombre	Le pourcentage
Supérieur à 10 cm	85	63.4%
Inférieur à 10 cm	49	36.6%
Total	134	100%



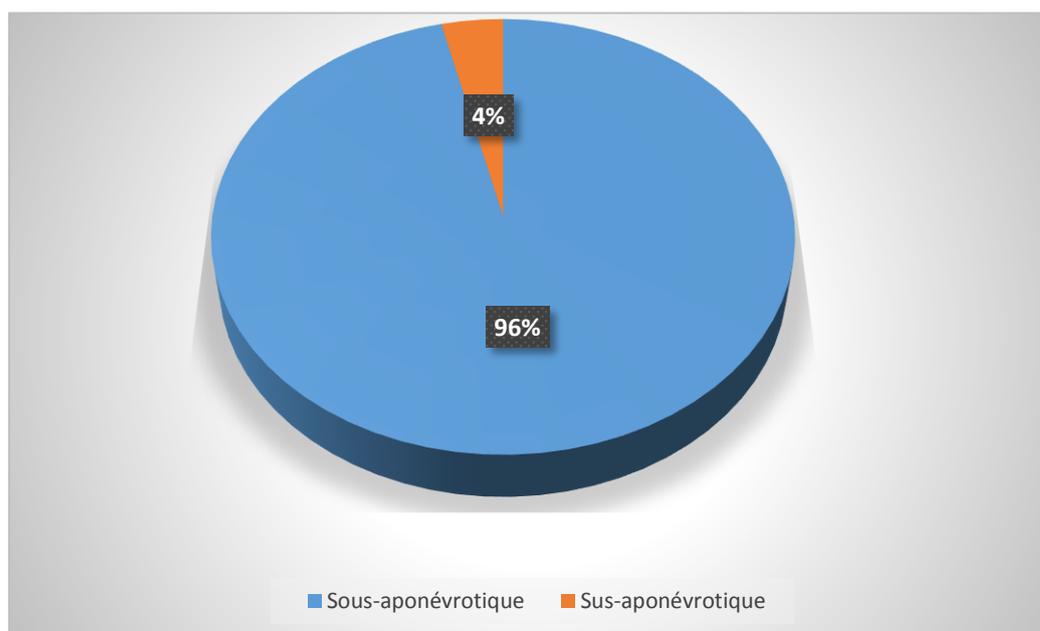
**Figure 20 : la répartition des cas en pourcentage selon la taille de la tumeur.**

### 1.2.3. La répartition des cas selon la profondeur de la tumeur :

La majorité des tumeurs sont profondes (129 cas ; 96.3%). (Voir tableau 8 et figure 21).

**Tableau 8 : la répartition des cas en nombre et en pourcentage selon la profondeur de la tumeur.**

La profondeur de la tumeur	Le nombre	Le pourcentage
Sous-aponévrotique	129	96.3%
Sus-aponévrotique	5	3.7%
Total	134	100,0



**Figure 21 : la répartition des cas en pourcentage selon la profondeur de la tumeur.**

#### 1.2.4. La répartition des cas selon le type de prélèvement :

- Une biopsie préalable au traitement proposé, qu'il soit chimiothérapie ou chirurgie, a été réalisée dans 104 cas (77.6%). 102 ont été des biopsies radioguidées (76.1%) et 32 ont été chirurgicales (23.9%). (Voir tableau 9 et figure 22).
- 80 patients ont bénéficié d'un traitement chirurgical. Une chirurgie conservatrice a été envisagée dans 64 cas (80%) et une amputation dans 16 cas (20%) (Voir la figure 23).

**Tableau 9 : la répartition des cas en nombre et en pourcentage selon la réalisation ou non d'une biopsie préalable au traitement.**

Biopsie préalable	Le nombre	Le pourcentage
Oui	104	77.6%
Non	30	22.4%
Total	134	100%
Type de biopsie		
Chirurgicale	32	23.9%
Radioguidée	102	76.1%
Total	134	100%

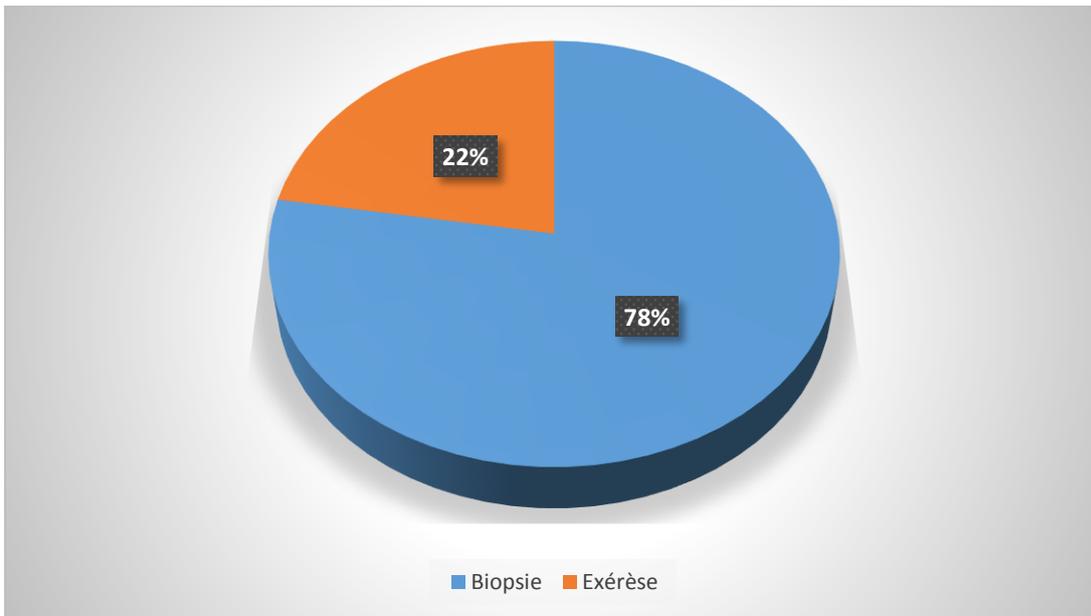


Figure 22 : la répartition des cas en pourcentage selon la réalisation d'une biopsie préalable au traitement.

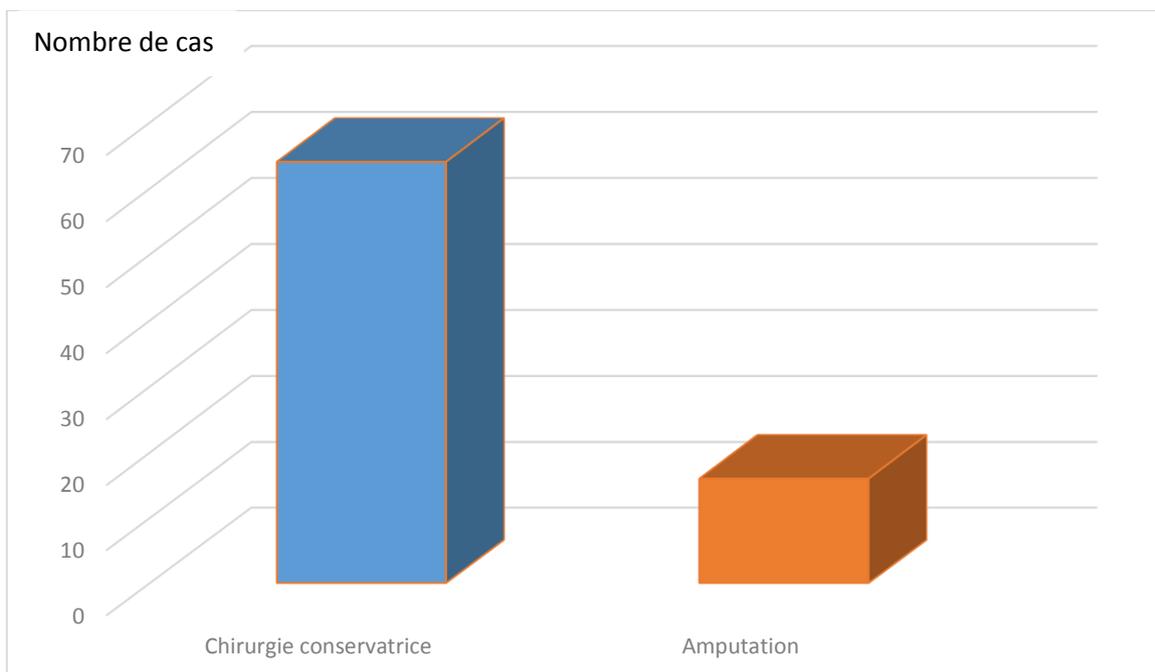


Figure 23 : la répartition des cas opérés en nombre selon le type de chirurgie (conservatrice ou amputation).

### 1.3. Les données anatomopathologiques :

#### 1.3.1. La répartition des cas selon la morphologie cellulaire :

A l'examen microscopique, la morphologie à cellules rondes était la plus fréquente (56 cas ; 41.8%), suivie de la morphologie à cellules adipeuses (28 cas ; 20.9%), à cellules fusiformes (24 cas ; 17.9%), à cellules pléomorphes (13 cas ; 9.7%), à cellules fusiformes et épithéliales (8 cas ; 6%) et enfin à cellules adipeuses et rondes (5 cas ; 3.7%) (Voir tableau 10 et figure 24).

**Tableau 10 : la répartition des cas en nombre et en pourcentage selon la morphologie cellulaire.**

La morphologie cellulaire	Le nombre	Le pourcentage
Cellules rondes	56	41.8%
Cellules adipeuses	28	20.9%
Cellules fusiformes	24	17.9%
Cellules pléomorphes	13	9.7%
Cellules fusiformes et épithéliales	8	6%
Cellules adipeuses et rondes	5	3.7%
Total	134	100%

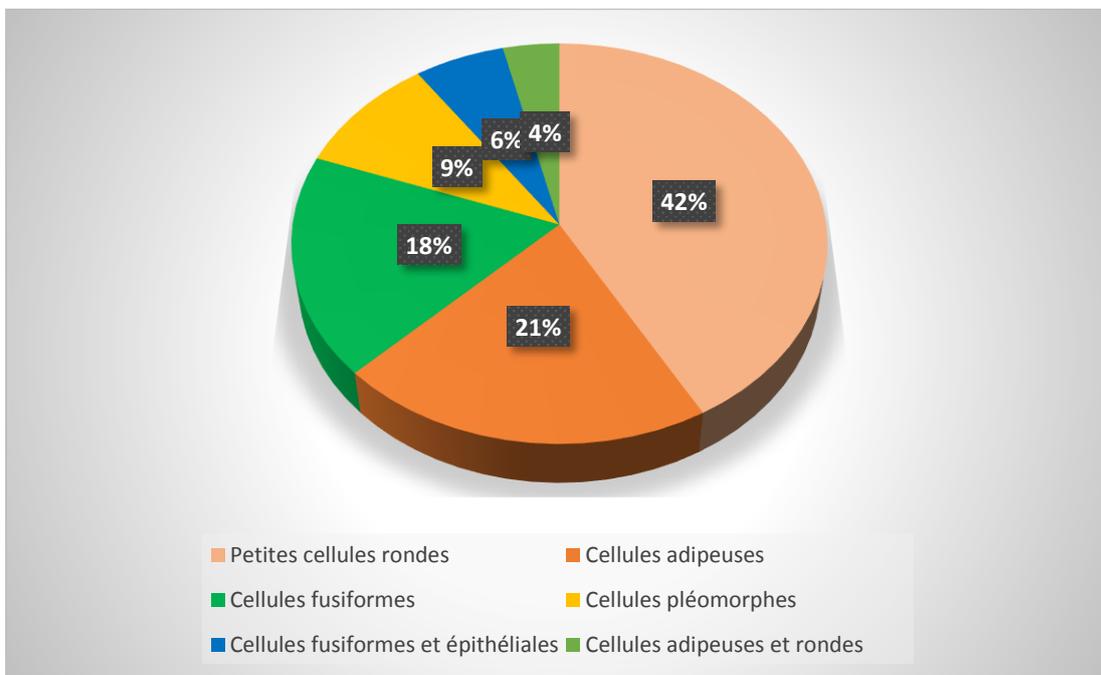


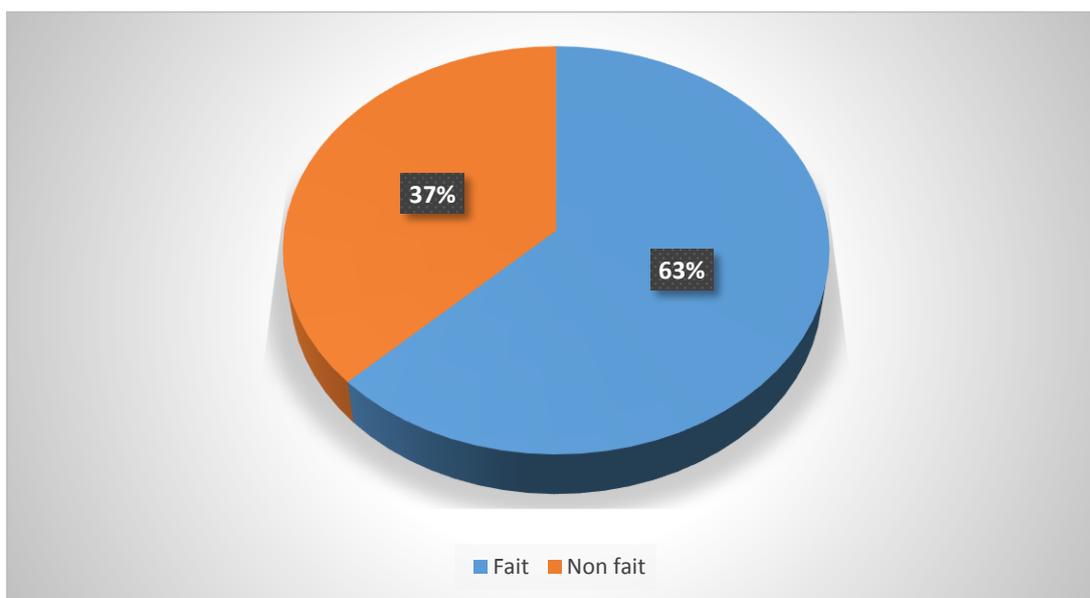
Figure 24 : la répartition des cas en pourcentage selon la morphologie cellulaire.

**1.3.2. La répartition des cas selon la réalisation ou non de l'examen immunohistochimique :**

L'examen immunohistochimique était fait dans 84 cas (62.7 %), alors qu'il n'était pas fait dans 50 cas (37.3%) parce qu'on a pu identifier la lignée de différenciation cellulaire par l'étude morphologique seule (tumeur adipeuse bien différenciée), ou par manque de données surtout des patients adressés uniquement pour étude FISH. (Voir tableau 11 et figure 25).

**Tableau 11 : la répartition des cas en nombre et en pourcentage selon la réalisation ou non de l'examen immunohistochimique**

L'examen immunohistochimique	Le nombre	Le pourcentage
Fait	84	62.7%
Non fait	50	37.3%
Total	134	100%

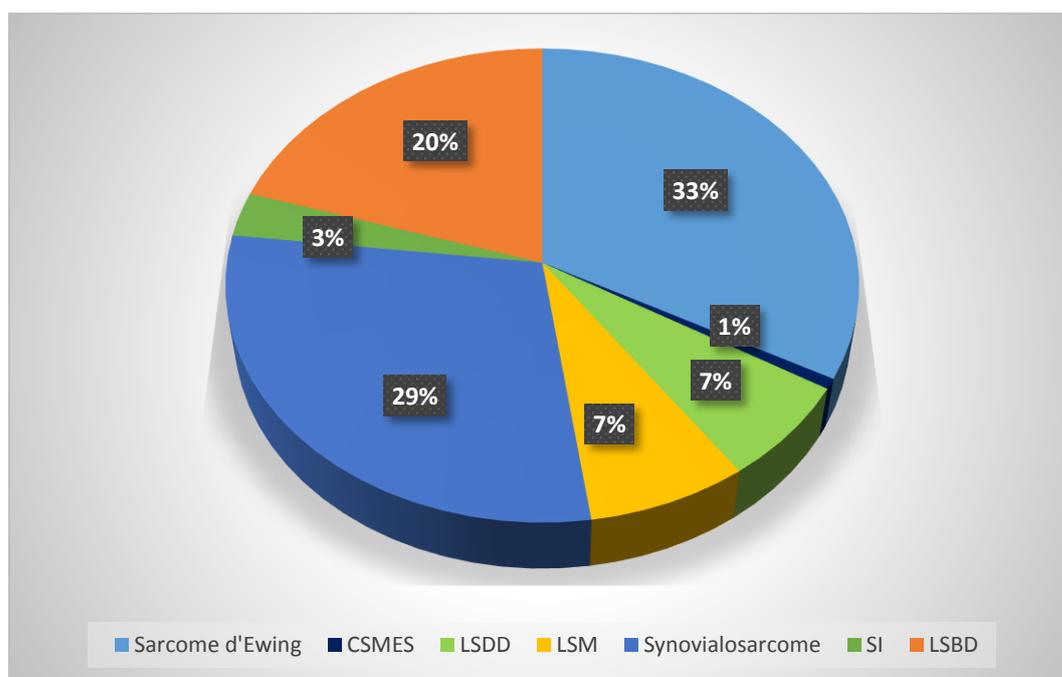
**Figure 25 : la répartition des cas en pourcentage selon la réalisation ou non de l'examen immunohistochimique.**

### **1.3.3. Le type histologique de présomption retenu avant la réalisation de la FISH :**

Avant la réalisation de la FISH, Les types histologiques les plus fréquents de notre série étaient les liposarcomes avec 46 cas (34.3 %) : 27 liposarcomes bien différenciés (LSBD) (20.1 %), 10 liposarcomes myxoïde (LSM) (7,5 %), et 9 liposarcomes dédifférenciés (LSDD) (6.7 %), puis les sarcomes d'Ewing avec 44 cas (32.8%), suivi des synoviosarcomes (39 cas ; 29.1%), ensuite les sarcomes indifférenciés (SI) avec 4 cas (3%), et enfin, un seul chondrosarcome myxoïde extra-squelettique (CSMES) (0.7%). (Voir tableau 12 et figure 26).

**Tableau 12 : la répartition des cas en nombre et en pourcentage selon le type histologique de présomption retenu avant l'examen de la FISH.**

Le type histologique	Le nombre	Le pourcentage
Le sarcome d'Ewing	44	32.8%
Les liposarcomes	46	34.3%
Les synoviosarcomes	39	29.1%
Le CSMES	1	0.7%
Les SI	4	3%
Total	134	100%



**Figure 26 : la répartition des cas en pourcentage selon le type histologique avant l'examen de la FISH.**

### 1.3.4. La répartition des cas selon le degré de certitude diagnostic :

Le diagnostic de présomption retenu pour chaque type histologique, avant l'examen de la FISH, était le plus probable dans 59,8% (49 cas) alors que le diagnostic était possible dans le reste des cas 40,2% (33 cas). (Voir les tableaux 13, 14 et la figure 27).

**Tableau 13 : la répartition des cas en nombre et en pourcentage selon le degré de certitude diagnostique des types histologiques confondus.**

Le niveau de certitude diagnostic	Le nombre	Le pourcentage
Probable	49	59,8%
Possible	33	40,2%
Total	82	100%

**Tableau 14 : la répartition des sous types histologique en nombre et en pourcentage selon le degré de certitude diagnostic.**

Le degré de certitude diagnostic	Probable		Possible	
	N	P (%)	N	P (%)
ES	19	23,2%	11	13,4%
LS	22	26,8%	8	9,8%
LSBD	20	24,4%	0	0%
LSDD	2	2,4%	7	8,5%
LSM	0	0%	1	1,2%
SS	7	8,5%	14	17,1%
CSMES	1	1,2%	0	0%
Total	49	59.8%	33	40.2%

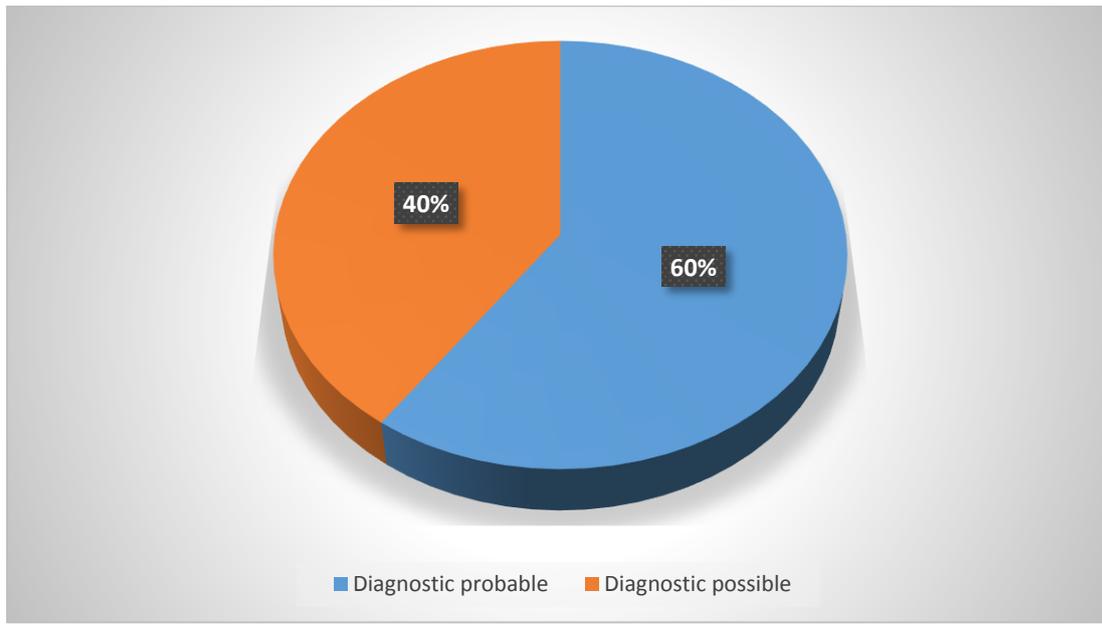


Figure 27 : la répartition des cas en pourcentage selon le degré de certitude diagnostique pour tous types histologiques confondus.

### 1.3.5. La répartition des cas selon le grade histopronostique de la FNCLCC :

La majorité des sarcomes de notre étude étaient de « grade 2 » (78 cas, 58.2%), 34 étaient de « grade 1 » (25.4%), et 22 de « grade 3 » (16.4%). (Voir figure 28).

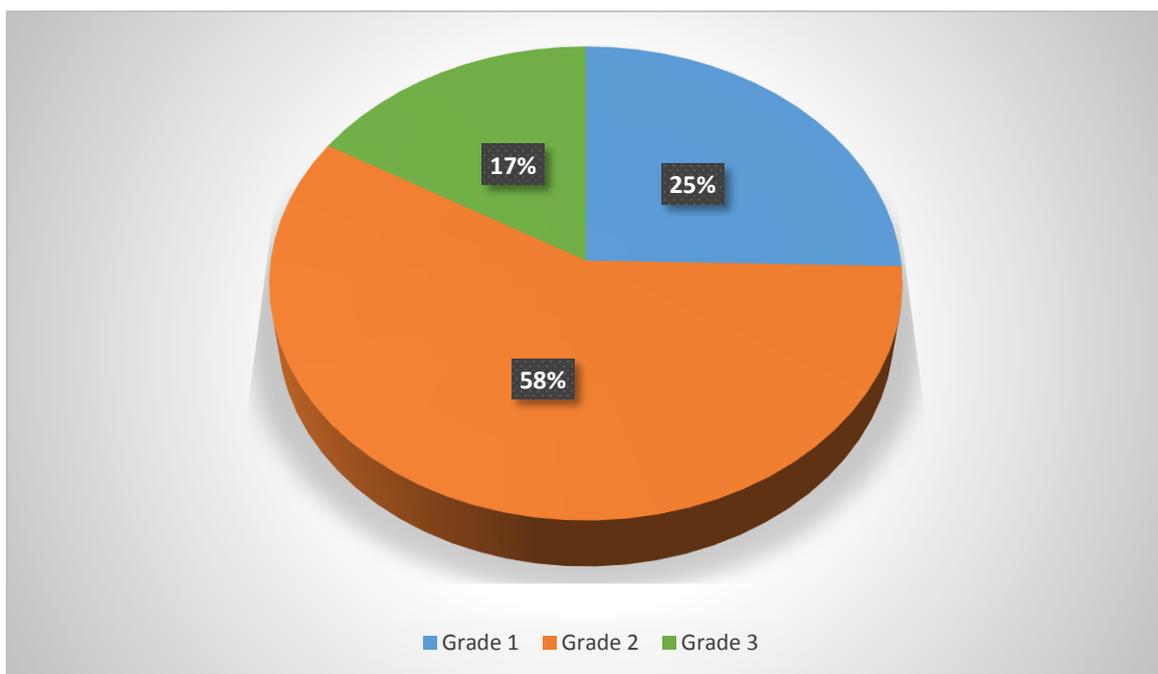


Figure 28 : la répartition des cas en pourcentage selon le grade de la FNCLCC

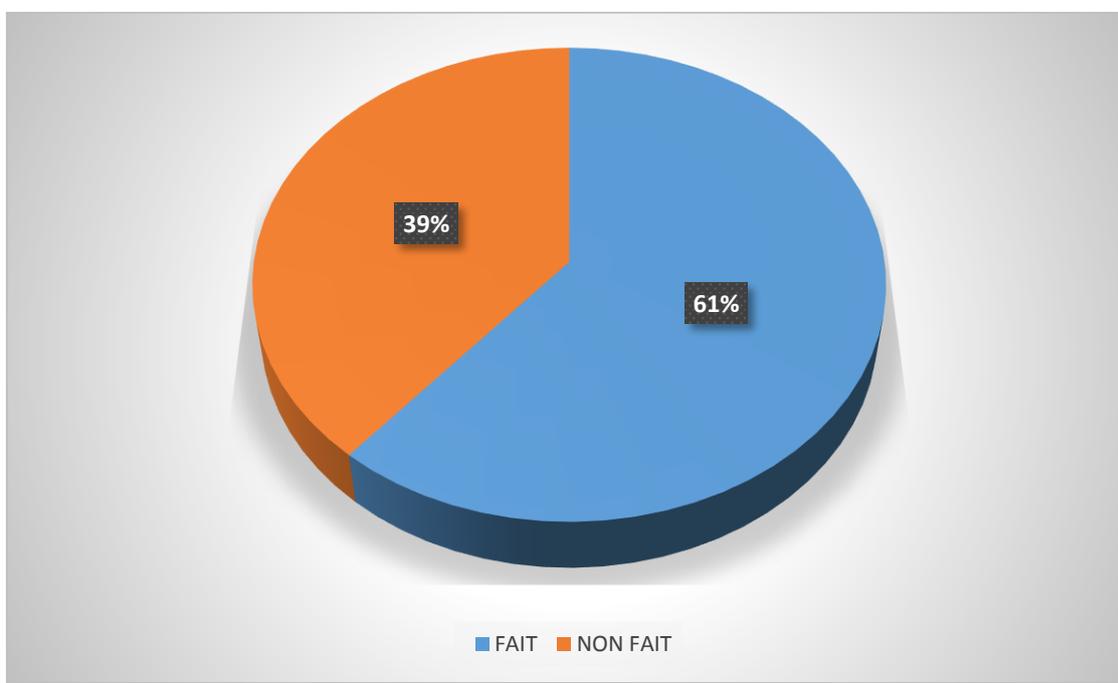
### 1.3.6. L'étude moléculaire :

#### 1.3.6.1. La répartition des cas selon la réalisation ou non de l'examen de la FISH :

La FISH était réalisée chez 82 patients de notre série (Voir figure 29 et tableau 15). La FISH n'était pas faite chez 52 cas (38.8%) parce qu'elle n'était pas disponible momentanément. La FISH était réalisée sur des biopsies préalables dans 67 cas (81.7%).

**Tableau 15 : la répartition des cas en nombre et en pourcentage selon la réalisation ou non de l'examen de la FISH.**

L'examen de la FISH	Le nombre	Le pourcentage
Fait	82	61.2%
Non fait	52	38.8%
Total	134	100%



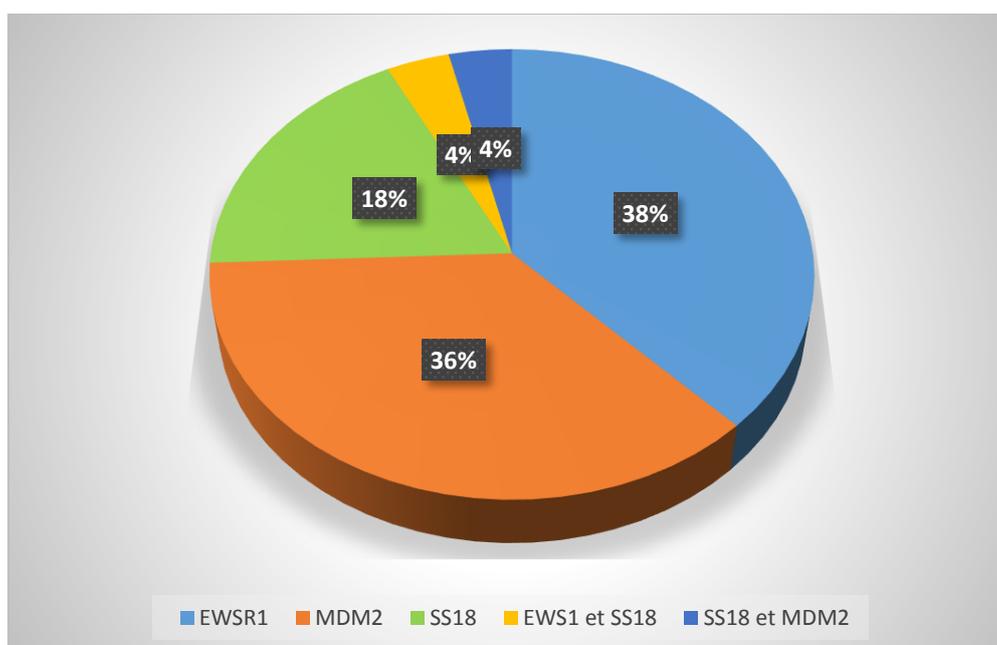
**Figure 29 : la répartition des cas en pourcentage selon la réalisation ou non de l'examen de la FISH.**

### 1.3.6.2. La répartition des cas selon le type de sonde utilisé :

La sonde EWSR1 a été utilisée dans la majorité des cas (31 cas ; 37,8%), suivie de la sonde MDM2 (30 cas ; 36,6%), ensuite la sonde SS18 (15 cas ; 18,3%), puis les deux combinaisons de sondes « EWSR1, SS18 » et « SS18, MDM2 » dans 3 cas chacun (3,7% chacun). (Voir tableau 16 et figure 30).

**Tableau 16 : la répartition des cas en nombre et en pourcentage selon le type de sonde utilisé à l'examen de la FISH.**

Le type de sonde	Le nombre	Le pourcentage
EWSR1	31	37,8%
MDM2	30	36,6%
SS18	15	18,3%
EWSR1 et SS18	3	3,7%
SS18 et MDM2	3	3,7%
Total	82	100%



**Figure 30 : la répartition des cas en pourcentage selon le type de sonde utilisé à l'examen de la FISH.**

• **La répartition des types histologiques selon le type de sonde utilisé : (Voir tableau 17)**

- On a utilisé la sonde EWSR1 dans 34 cas (41,5%) :
- On l'a utilisé toute seule dans 31 cas (37,7%) répartis comme suit : 30 sarcomes d'Ewing (36.6%) et un CSMES (1.2%). Alors qu'on l'a utilisé en combinaison avec la sonde SS18 dans 3 synoviosarcomes (3.66%).
- La sonde SS18 seule a été utilisée dans le diagnostic de tous les synoviosarcomes (15 cas ; 18,29%).
- La sonde MDM2 a été utilisée dans 33 cas (40,3%) : On l'a utilisée toute seule dans le diagnostic de tous les liposarcomes (30 cas ; 36,6%) tandis qu'on l'a utilisé en combinaison avec la sonde SS18 dans 3 synoviosarcomes (3.7%), en particulier sur les biopsies montrant une morphologie à cellules fusiformes.

**Tableau 17 : la répartition en nombre des sous-types histologiques selon le type de sonde utilisé.**

Le type histologique	EWSR1		SS18		MDM2		Total	
	N	P (%)	N	P (%)	N	P (%)	N	P (%)
Sarcome d'Ewing	30	36,6%	0	0%	0	0%	30	36.6%
LSBD	0	0%	0	0%	20	24.4%	20	24.4%
LSDD	0	0%	0	0%	9	11%	9	11%
LSM	0	0%	0	0%	1	1.2%	1	1.2%
SS	3	3.7%	15	18.3%	3	3.7%	21	25.6%
CSMES	1	1.2%	0	0%	0	0%	1	1.2%
<b>Total</b>	<b>34</b>	<b>41.5%</b>	<b>15</b>	<b>18.3%</b>	<b>33</b>	<b>40.3%</b>	<b>82</b>	<b>100%</b>

**1.3.6.3. La répartition des cas selon le résultat de la FISH :**

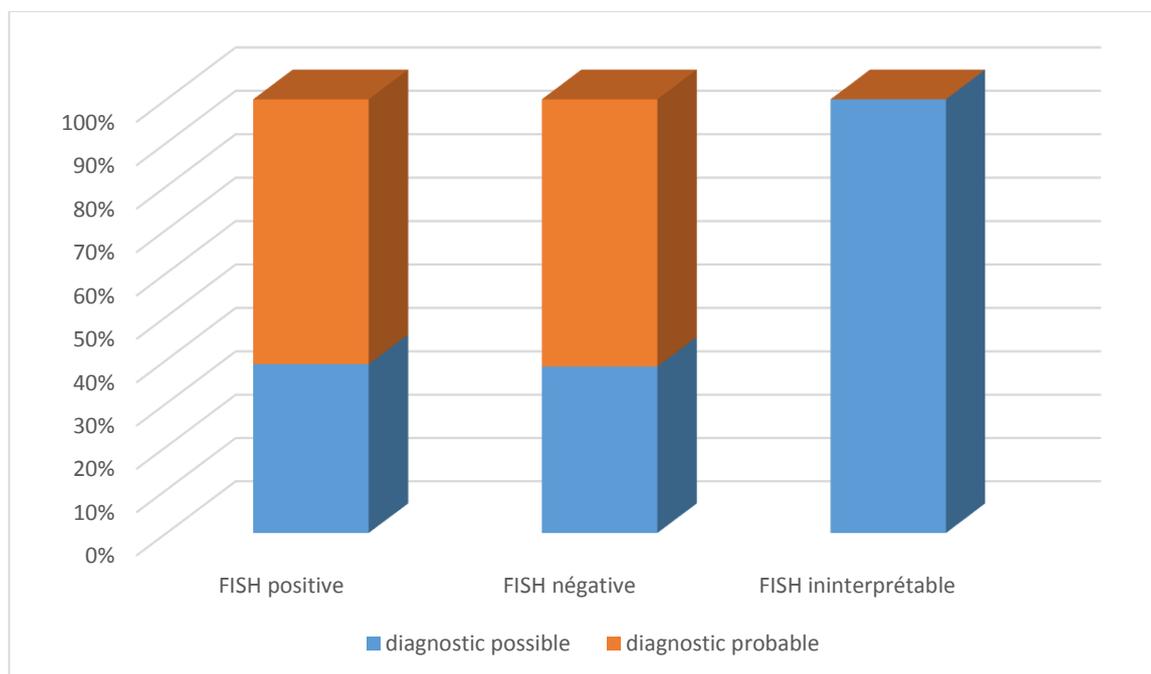
- Le résultat de la FISH a été positif dans 40 cas (48.8%), alors qu'il a été négatif dans 40 cas (48,8%). Le résultat de la FISH a été ininterprétable dans 2 cas (2,4%) pour des problèmes de fixation initiale. (Voir les tableaux 18 et 19, et la figure 31).
- La FISH était positive dans 59.8% des cas à diagnostic probable et 40.2% des cas de diagnostic possible.
- Dans les cas du sarcome d'Ewing, la FISH était positive dans 22 cas (26,8%) alors qu'elle était négative dans 7 cas (8.5%). Le résultat était ininterprétable dans un seul cas (1,2%).
- Dans les cas des synoviosarcomes, la FISH était positive dans 13 cas (15,85%) alors qu'elle était négative dans 8 cas (9,75%).
- Dans les cas des liposarcomes, la FISH était positive dans 4 cas (4,9%) : 2 LSBD (2,4%), 2 LSDD (2,4%). Alors qu'elle était négative dans 25 cas (30,5%) : 18 LSBD (21,95%), 6 LSDD (7,3%) et un LSM (1,2%). Le résultat était ininterprétable dans un seul cas (1,2%).
- Dans le cas unique du CSMES, la FISH était positive (1,2%).

**Tableau 18 : la répartition des cas en nombre et en pourcentage selon le résultat de la FISH.**

La certitude diagnostic	Diagnostic possible		Diagnostic probable		Total	
Le résultat de la FISH	N	P (%)	N	P (%)	N	P (%)
Positif	16	19.5%	25	30.5%	41	50%
Négatif	15	18.3%	24	29.3%	39	47.6%
Ininterprétable	2	2.4%	0	0%	2	2.4%
Total	33	40.2%	49	59.8%	82	100%

**Tableau 19 : la répartition des sous-types histologiques selon le résultat de la FISH.**

Le type histologique	Le résultat de la FISH						Total
	FISH positive		FISH négatif		FISH ininterprétable		
	N	P (%)	N	P (%)	N	P (%)	
Le sarcome d'Ewing	22	26.8%	7	8.5%	1	1,2%	30
LSBD	2	2,4%	18	22%	0	0%	20
LSDD	2	2,4%	6	7,3%	1	1,2%	9
LSM	0	0%	1	1,2%	0	0%	1
SS	13	15,9%	8	9,8%	0	0%	21
CSMES	1	1,2%	0	0%	0	0%	1
Total	40	48.8%	40	48.8%	2	2,4%	82

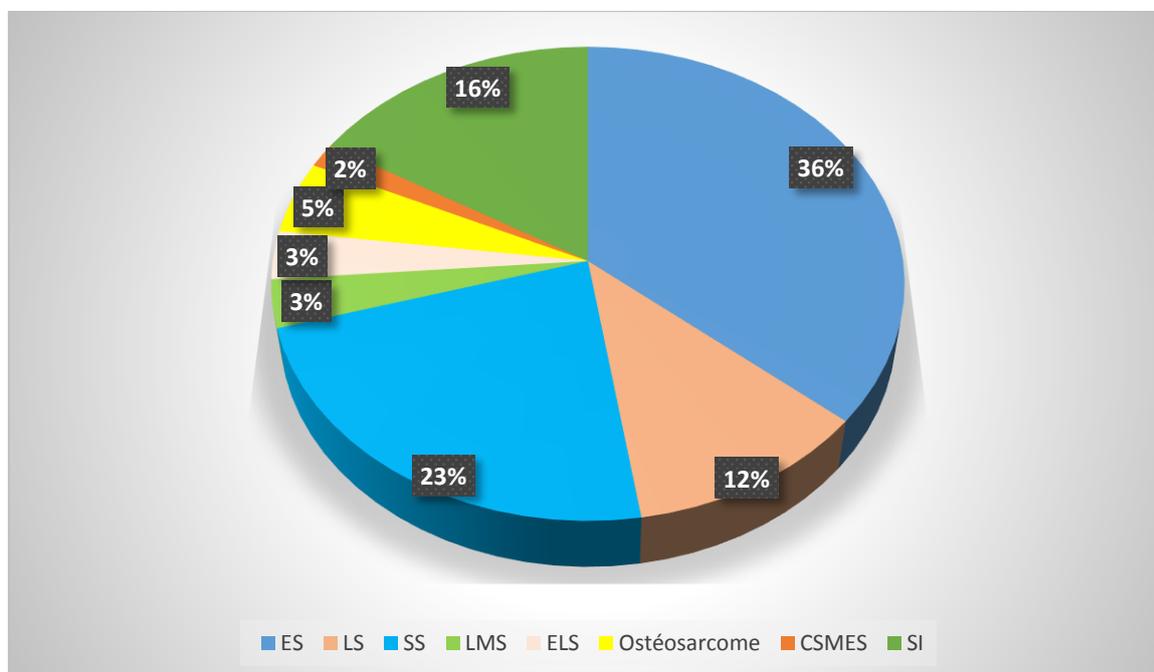


**Figure 31 : la répartition des cas en pourcentage selon le résultat de la FISH.**

### 1.3.6.4. La classification histo-moléculaire :

**Tableau 20 : la répartition des cas en nombre et en pourcentage selon la classification histo-moléculaire.**

Le sous-type histologique et moléculaire	Le nombre	Le pourcentage
Le sarcome d'Ewing (ES)	22	36%
Le liposarcome	7	11.5%
Le synoviosarcome (SS)	14	23%
Le léiomyosarcome (LMS)	2	3.3%
Le sarcome Ewing-like (ELS)	2	3.3%
L'ostéosarcome	3	4.9%
Le chondrosarcome myxoïde extra-squelettique (CSMES)	1	1,6%
Les sarcomes indifférenciés (SI)	10	16.4%
Total	61	100,0



**Figure 32 : la répartition des cas en pourcentage selon la classification histo-moléculaire après la FISH.**

## 1.4. Les données évolutives :

### 1.4.1. La survie :

#### 1.4.1.1. La survie globale :

- Parmi 105 patients, 12 sont décédés soit 11.5%. Le taux de survie globale à 10 ans est de 89.5%. La moyenne de survie est de 86.147 mois (de 67,843 mois à 104,451 mois avec un intervalle de confiance (IC) à 95%). La courbe de survie de notre cohorte est représentée par la figure 33.
- A noter qu'on n'a pas pu étudier et comparer la survie entre les sous-types histologiques des deux groupes (FISH oui et FISH non) à cause de la taille réduite des échantillons représentatifs de chaque sous-type dans notre série.

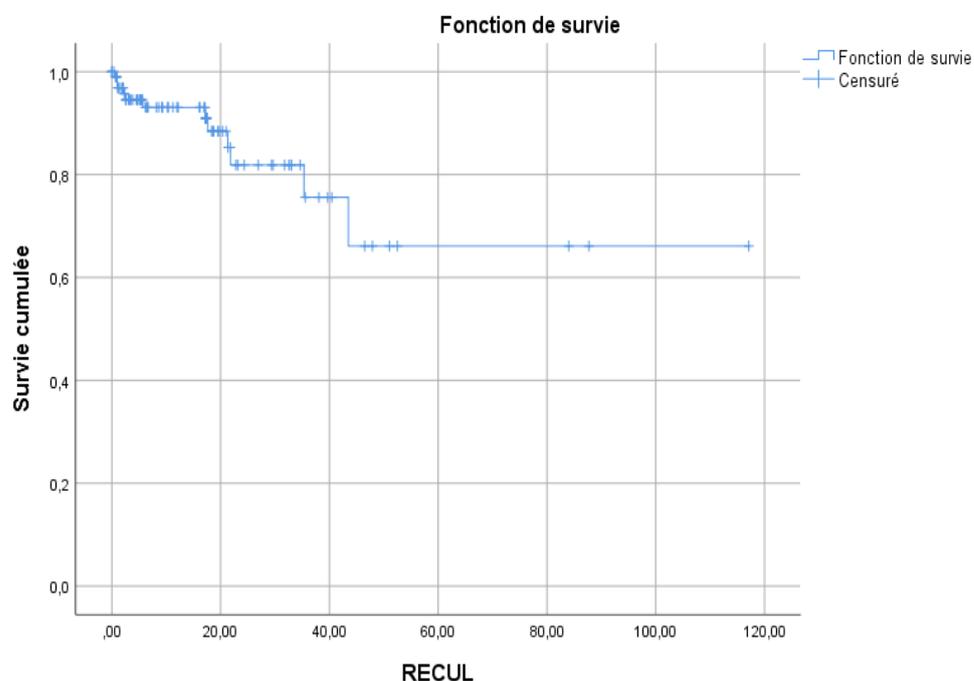


Figure 33 : la courbe de survie de notre cohorte.

### 1.4.1.2. La survie sans récurrence locale :

- Parmi 21 patients ayant fait une récurrence, 4 sont décédés. La moyenne de survie est de 87.748 mois (varie entre 66.064 mois et 109.431 mois, IC à 95%).
- Parmi 81 patients qui n'ont pas fait de récurrence, 8 sont décédés. La moyenne de survie est de 40.361 mois (varie entre 32.041 mois et 40.681 mois, IC à 95%). La médiane de survie est à 43.496 (65.88 à 80.404 mois, IC à 95%)
- La survie à 10 ans des patients avec récurrence est de 81%, alors que la survie des patients sans récurrence est de 90,1%. Cependant, la corrélation n'est pas significative ( $p = 0.641$ ). Les courbes de survie des patients qui ont récidivés et ceux qui ne l'ont pas sont représentées dans la figure 34.

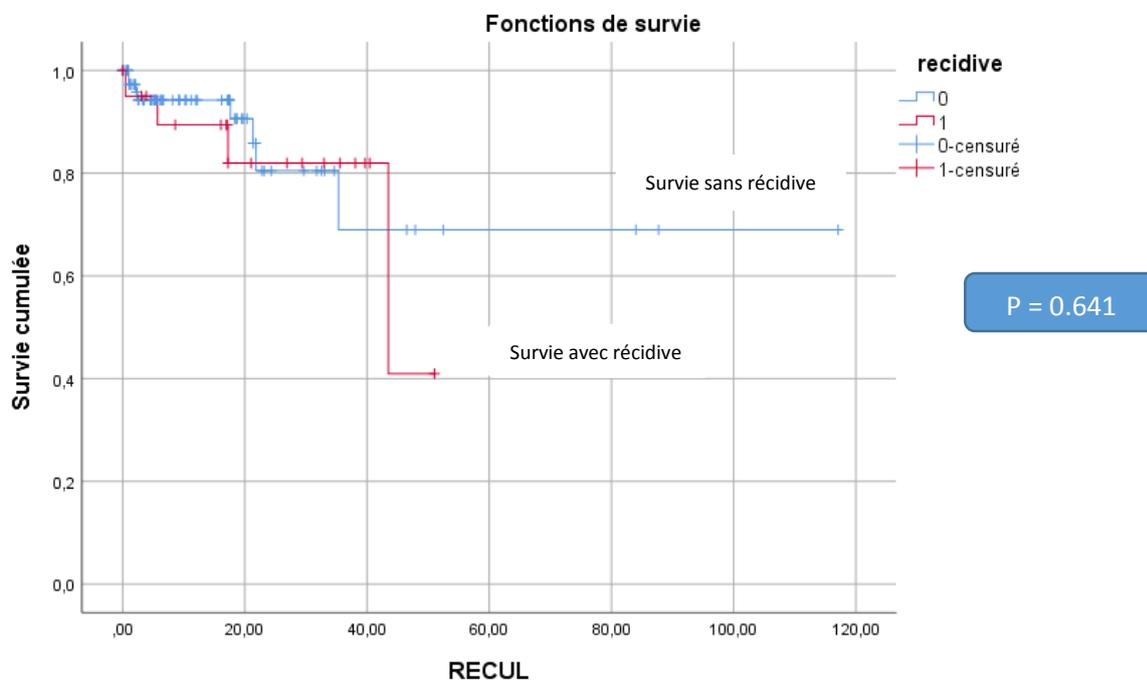


Figure 34 : la courbe de survie des patients avec et sans récurrence locale.

### 1.4.1.3. La survie sans métastase :

- Parmi 24 patients ayant fait des métastases, 4 sont décédés. La moyenne de survie est à 80,247 mois (varie entre 49,203 et 111,291 mois avec un intervalle de confiance à 95%).
- Parmi 78 patients qui n'ont pas fait des métastases, 8 sont décédés. La moyenne de survie est à 70,753 mois (varie entre 59,249 et 82,256 mois, IC à 95%).
- La survie à 10 ans des patients avec métastases est de 83.3%, alors que la survie des patients sans métastases est de 89,7%. Pourtant, la corrélation n'est pas significative ( $p = 0.904$ ). Les courbes de survie des patients avec et sans métastases sont représentées dans la figure 35.

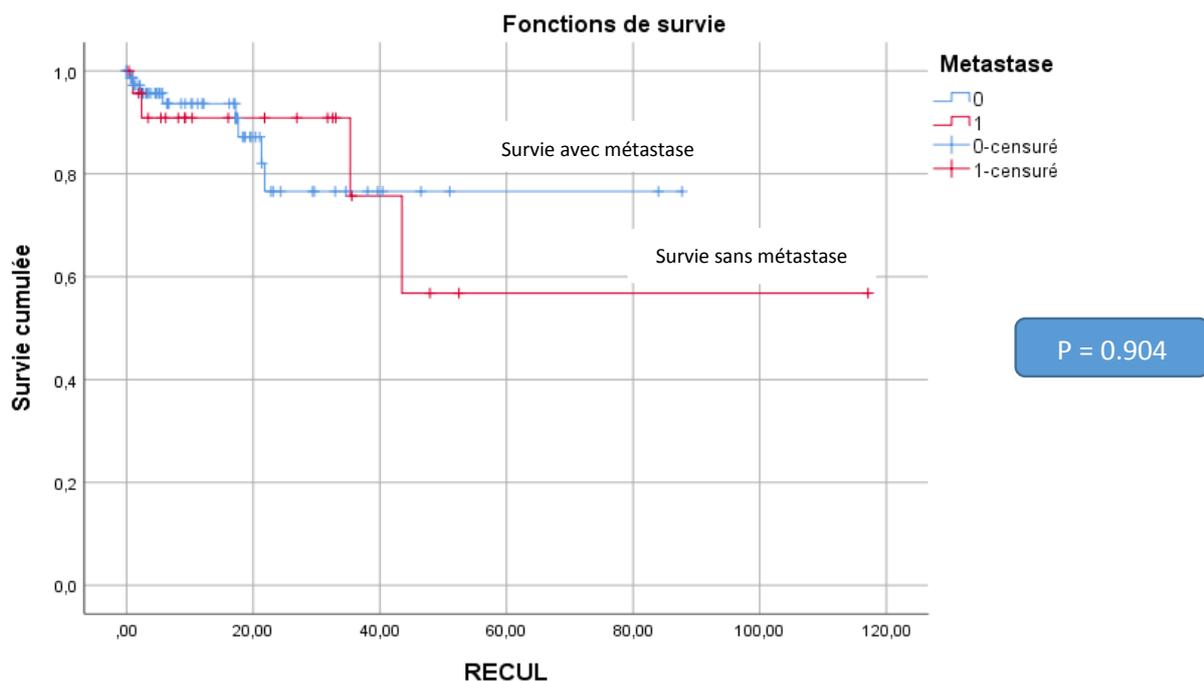


Figure 35 : la courbe de survie des patients avec et sans métastases.

#### **1.4.1.4. La survie du groupe ayant fait la FISH :**

Parmi 53 patients ayant bénéficié de l'examen de la FISH, 3 sont décédés soit 6%. Le taux de survie est à 94%. La moyenne de survie est à 77,402 mois (de 65,558 mois à 89,245 mois avec un intervalle de confiance à 95%). On n'a pas pu calculer la médiane de survie vue que moins de 50% des patients ayant fait la FISH sont décédés à la fin de la durée de notre étude.

#### **1.4.1.5. La survie du groupe n'ayant pas fait la FISH :**

Parmi 52 patients n'ayant pas bénéficié de l'examen de la FISH, 9 sont décédés soit 17% des cas. Le taux de survie à 10 ans est à 83%. La moyenne de survie est de 59,502 mois (de 22,231 mois à 96,773 mois avec un intervalle de confiance à 95%). La médiane de survie est estimée à 43,496 mois (de 12,626 mois à 74,366 mois, IC à 95%). Les courbes de survie des deux groupes sont représentées par la figure 36.

#### **1.4.2. La survenue de récurrence locale :**

- **La survenue de récurrence locale chez tous les patients :**

20.2% (21 / 104) des patients de notre série ont présenté une récurrence locale (voir tableau 21) avec 13.8% des ES, 20% des SS, 21.4% des LS et 37.5% des SI. Un patient était perdu de vue.

- **La survenue de récurrence locale chez les patients ayant fait la FISH :**

Le taux de récurrence locale chez les patients ayant fait la FISH est de 18.9%, avec 13.3% des ES, 17.6% des SS, 23.1% des LS, 33.3% des LSBD, et 33.3% des SI.

- **La survenue de récurrence locale chez les patients n'ayant pas fait la FISH :**

Le taux de récurrence locale chez les patients n'ayant pas fait la FISH est de 21.6%, avec 14,3% des ES, 22.2% des SS, 20% des LS, 42.9% des LSBD, et 50% des SI.

**Tableau 21 : la récurrence locale dans les différents types histologiques des deux groupes (FISH oui et FISH non)**

Le type Histologique	La récurrence	FISH oui		FISH non		P
		N	P (%)	N	P (%)	
Tous types confondus (104)	Absente	43	81.1%	40	78.4%	0.809
	Présente	10	18.9%	11	21.6%	
ES (29 cas)	Absente	19	86.7%	6	85.7%	1
	Présente	3	13.3%	1	14.3%	
SS (31 cas)	Absente	10	82.4%	14	77.8%	1
	Présente	3	17.6%	4	22.2%	
LS confondus (28 cas)	Absente	10	76.9%	12	80%	1
	Présente	3	23.1%	3	20%	
LSBD (13 cas)	Absente	4	66.7%	4	57.1%	1
	Présente	2	33.3%	3	42.9%	
SI (16 cas)	Absente	8	66.7%	2	50%	1
	Présente	4	33.3%	2	50%	

### **1.4.3. La survenue de métastase :**

- **La survenue de métastase chez tous les patients :**

Dans notre série, 23,3% (24/103) ont fait des métastases (sites métastatiques confondus, au moment du diagnostic ou au cours de l'évolution de la maladie). Ils sont répartis par ordre décroissant comme suit : 44.8% des ES, 30% des LSDD, 15.4% des LSBD, 14.7% des SS et 6.3% des SI. On n'a pas pu étudier la métastase chez 2 patients vu le manque des informations sur l'archive. (Voir le tableau 22).

- **La survenue de métastase chez les patients ayant fait la FISH :**

Le taux de métastase chez les patients ayant fait la FISH est de 15.1%, avec 26.7% des ES, 5.9% des SS, 15.4% des LS, 33.3% des LSBD, et 8.3% des SI.

- **La survenue de métastase chez les patients n'ayant pas fait la FISH :**

Le taux de métastase chez les patients n'ayant pas fait la FISH est de 32%, avec 64.3% des ES, 23.5% des SS, 20% des LS, 37.5% des LSDD.

**Tableau 22 : la répartition des deux groupes (FISH oui et FISH non) selon la présence ou non de métastase pour chaque type histologique.**

Le type Histologique	La métastase	FISH oui		FISH non		P
		N	P (%)	N	P (%)	
Tous types confondus (103 cas)	Absente	45	84.9%	34	68%	0.061
	Présente	8	15.1%	16	32%	
ES (29 cas)	Absente	11	73.3%	5	35.7%	0.449
	Présente	4	26.7%	9	64.3%	
SS (34 cas)	Absente	16	94.1%	13	76.5%	0.335
	Présente	1	5.9%	4	23.5%	
LS confondus (24 cas)	Absente	11	84.6%	8	80%	1
	Présente	2	15.4%	2	20%	
LSBD (13 cas)	Absente	4	66.7%	7	100%	0.192
	Présente	2	33.3%	0	0%	
LSDD (10 cas)	Absente	2	100%	5	62.5%	0.533
	Présente	0	0%	3	37.5%	
SI (16 cas)	Absente	11	91.7%	4	100%	1
	Présente	1	8.3%	0	0%	

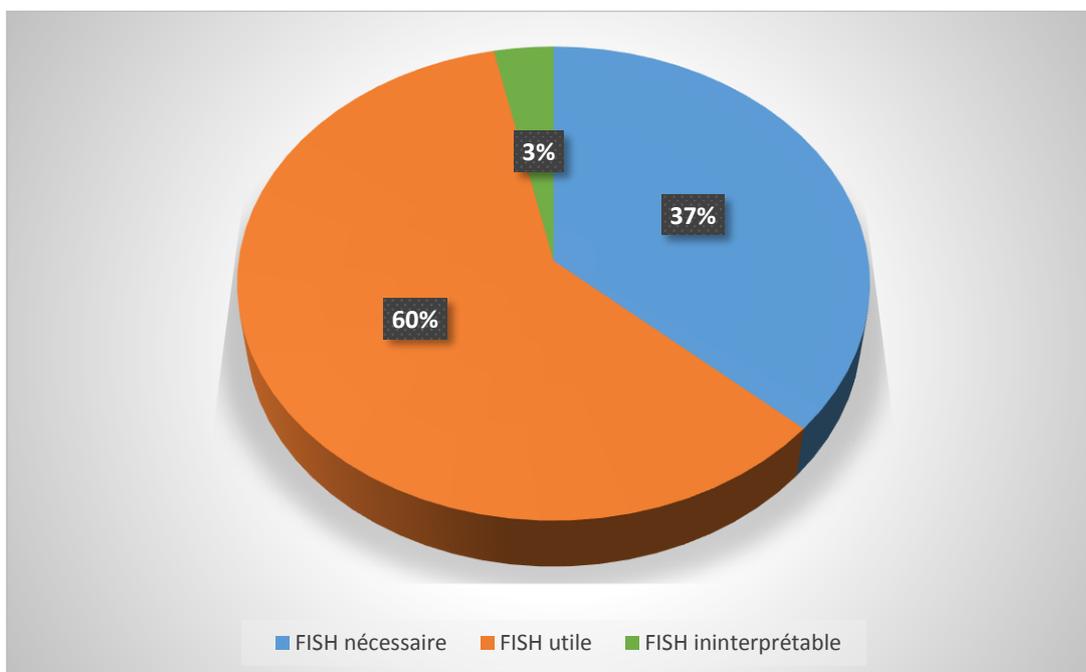
## 2. Etude analytique

### 2.1. L'étude de l'apport de la FISH dans le diagnostic des STM :

#### 2.1.1. L'apport de la FISH dans le diagnostic des sarcomes d'Ewing :

- ✚ Parmi 19 cas (63.3%) des sarcomes d'Ewing de diagnostic probable :
  - 15 cas (78,9%) ont présenté un réarrangement du gène EWSR1. Dans ces cas, la FISH était utile pour confirmer le diagnostic du sarcome d'Ewing.
  - 4 cas (21.1%) n'ont pas présenté ce réarrangement. Ici, la FISH était nécessaire pour nous orienter vers d'autres diagnostics. Ces cas ont été reclassés en d'autres sous-types histologiques.
- ✚ Parmi 11 cas (36.7%) des sarcomes d'Ewing de diagnostic possible :
  - 7 cas (63.6%) ont présenté un réarrangement du gène EWSR1. Dans ces cas, la FISH était nécessaire pour retenir le diagnostic du sarcome d'Ewing.
  - 3 cas (27.3%) n'ont pas présenté ce réarrangement. Ce qui était utile pour classer ces tumeurs en d'autres sous-types histologiques.
  - Un cas était ininterprétable (9.1%) pour des problèmes de fixation initiale (la FISH étant une technique très sensible à la phase pré-analytique, notamment la fixation).

Ainsi, pour le diagnostic des sarcomes d'Ewing, la FISH était utile dans 60% des cas, nécessaire dans 36.7% des cas et ininterprétable dans 3.3% des cas. (Voir le tableau 23 et la figure 37).



**Figure 37 : l'apport de la FISH dans le diagnostic des sarcomes d'Ewing.**

### 2.1.2. L'apport de la FISH dans le diagnostic des liposarcomes :

- ✚ Parmi 22 cas (73.3%) des liposarcomes de diagnostic probable :
  - 3 cas (13,6%) ont présenté une amplification du gène MDM2 (2 LSBD (2.4%) et un LSDD (1.2%)). Donc, la FISH était utile pour confirmer le diagnostic d'une tumeur lipomateuse atypique, d'un liposarcome bien différencié ou dédifférencié.
  - 19 cas (86.4%) n'ont pas présenté une amplification de ce gène (18 LSBD (22%) et un seul LSDD (1,2%)). Dans ces cas, la FISH était nécessaire pour retenir le diagnostic de lipome vu que la taille de ces tumeurs est supérieure à 10cm.
- ✚ Parmi 8 cas (26.7%) des liposarcomes de diagnostic possible :
  - 2 cas (25%) ont présenté une amplification du gène MDM2 (2 LSDD (2.4%)), la FISH était nécessaire dans ces cas pour garder le diagnostic du liposarcome.
  - 5 cas (62.5%) n'ont pas présenté une amplification de ce gène. Ce qui était utile pour classer ces tumeurs en d'autres sous-types histologiques.
  - Un cas était ininterprétable (12.5%) pour des problèmes de fixation initiale.

En résumé, pour le diagnostic des liposarcomes, la FISH était utile dans 26.7% des cas, nécessaire dans 70% des cas et ininterprétable dans 3.3% des cas. (Voir le tableau 23 et la figure 38).

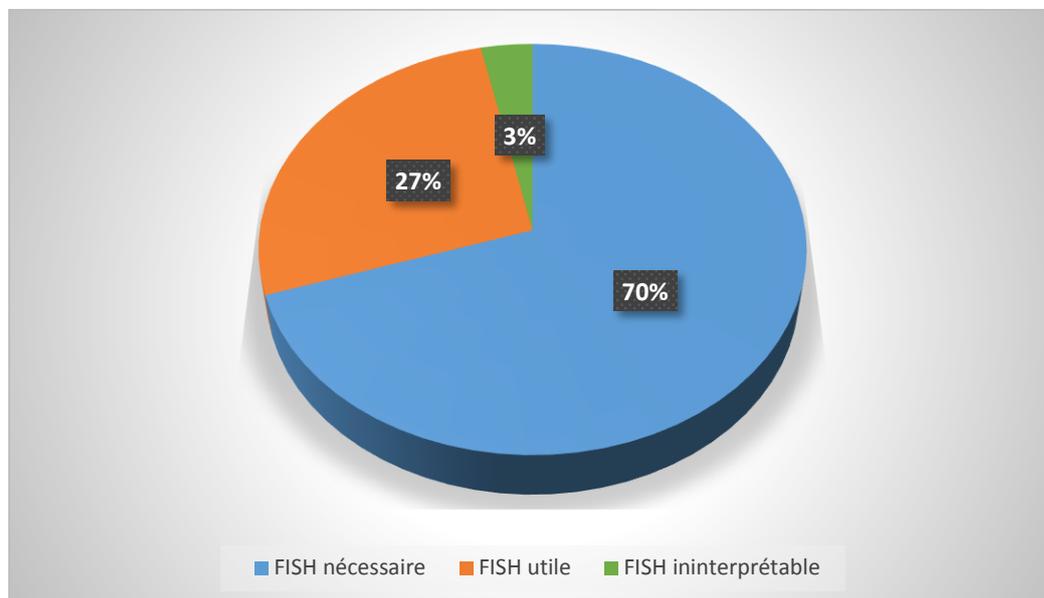


Figure 38 : l'apport de la FISH dans le diagnostic des liposarcomes.

### 2.1.3. L'apport de la FISH dans le diagnostic des synoviosarcomes :

- ✚ Parmi 7 cas (33.3%) des synoviosarcomes de diagnostic probable :
  - Six cas (85.7%) ont présenté un réarrangement du gène SS18, dans ce cas, la FISH était utile pour confirmer le diagnostic du synoviosarcome.
  - Un cas (14.3%) n'a pas présenté ce réarrangement. Ceci était nécessaire pour reclasser cette tumeur en un autre sous-type histologique.
- ✚ Parmi 14 cas (66.7%) des synoviosarcomes de diagnostic possible :
  - 8 cas (57.1%) ont présenté un réarrangement du gène SS18, ce qui était nécessaire pour retenir le diagnostic du synoviosarcome.
  - 6 cas (42.9%) n'ont pas présenté ce réarrangement ce qui était utile pour classer ces tumeurs en d'autres sous-types histologiques.

En résumé, pour le diagnostic des synoviosarcomes, la FISH était utile dans 57.1% des cas, nécessaire dans 42.9% des cas. (Voir le tableau 23 et la figure 39).

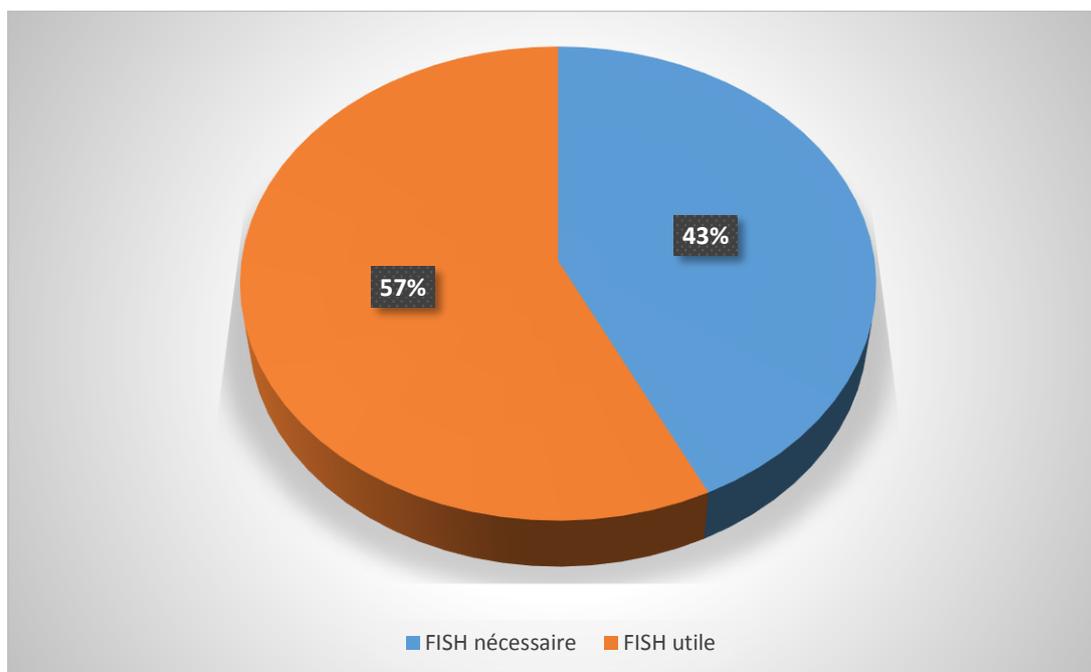


Figure 39 : l'apport de la FISH dans le diagnostic des synoviosarcomes.

En conclusion, dans notre série, la FISH était nécessaire dans 50% de cas alors qu'elle était utile dans 47.6% de cas, et elle était ininterprétable dans 2.4% de cas (voir figure 40 et le tableau 23).

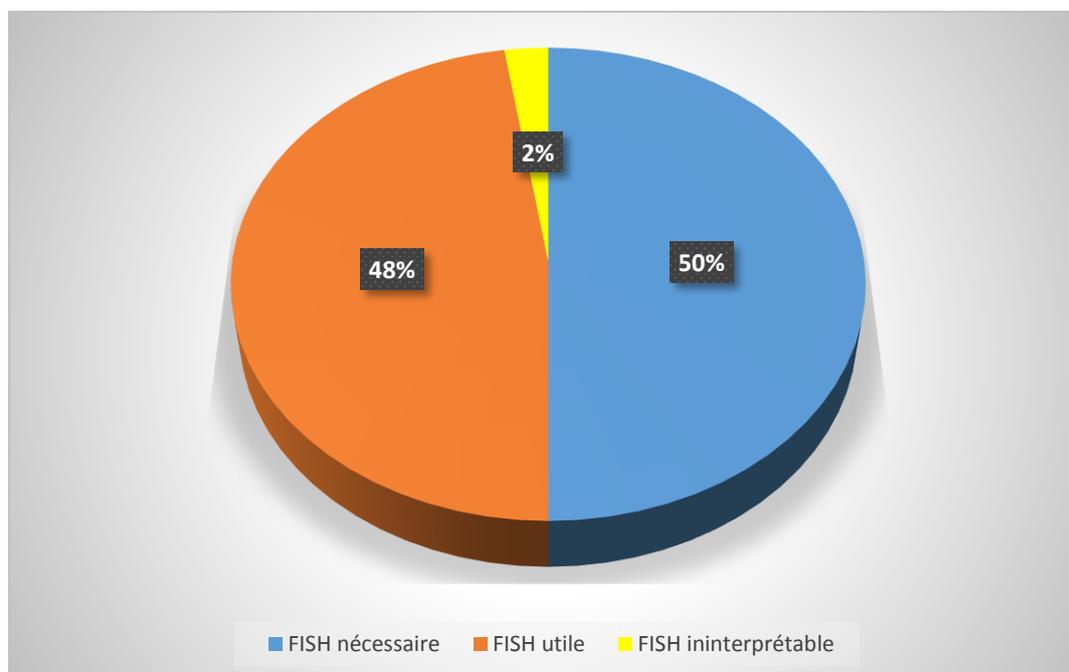


Figure 40 : l'apport de la FISH dans le diagnostic des sarcomes des tissus mous de notre série.

**Tableau 23 : La répartition en nombre et en pourcentage du degré de certitude diagnostique des types histologiques selon le résultat de la FISH.**

Le type histologique	Le résultat de la FISH						Nombre total	Pourcentage total
	FISH positive		FISH négatif		FISH ininterprétable			
	N	P (%)	N	P (%)	N	P (%)		
Sarcome d'Ewing probable	15	18.3%	4	4.9%	0	0%	19	23.2%
Sarcome d'Ewing possible	7	8.5%	3	3.7%	1	1.2%	11	13,4%
LS Probable	3	3,7%	19	23,2%	0	0%	22	26,8%
LS Possible	1	1.2%	6	7,3%	1	1,2%	8	9.8%
LSBD Probable	2	2.4%	18	22%	0	0 %	20	24.4%
LSBD Possible	0	0	0	0	0	0	0	0
LSDD Probable	1	1.2%	1	1.2%	0	0%	2	2.4%
LSDD Possible	1	1.2%	5	6.1%	1	1.2%	7	8.5%
LSM Possible	0	0%	1	1.2%	0	0,0	1	1.2%
SS Probable	6	7.3%	1	1.2%	0	0,0	7	8.5%
SS Possible	8	9.8%	6	7.3%	0	0%	14	17.1%
CSMES probable	1	1,2%	0	0%	0	0%	1	1.2%
Total	41	50%	39	47,6%	2	2,4%	82	100%

## 2.2. Comparaison des groupes FISH oui/ FISH non :

### 2.2.1. La répartition des paramètres cliniques :

- La répartition des cas selon l'âge :

- L'âge du premier groupe variait entre 16 ans et 83 ans, avec une moyenne d'âge est à 44,96 ans, l'écart type de 19.956, la médiane est de 36,5 ans les modes sont 22 ans et 41 ans. Alors que l'âge variait entre 18 ans et 86 ans, la moyenne d'âge est à 40,6 ans, l'écart type de 19.996, la médiane est de 44 ans, et les modes sont 33 ans et 37 ans.
- Il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les deux groupes ( $p = 0.231$ ).

### 2.2.2. La comparaison des paramètres évolutifs entre le groupe ayant fait la FISH et celui ne l'ayant pas fait :

#### 2.2.2.1. La comparaison de la survie globale :

Le teste du Log Rank (Mantel-Cox) est significatif (0.05). Ce qui signifie qu'il y a une relation statistiquement significative entre la réalisation de la FISH et la survie, les patients qui ont bénéficié de la FISH ont une meilleure survie (voir la figure 36).

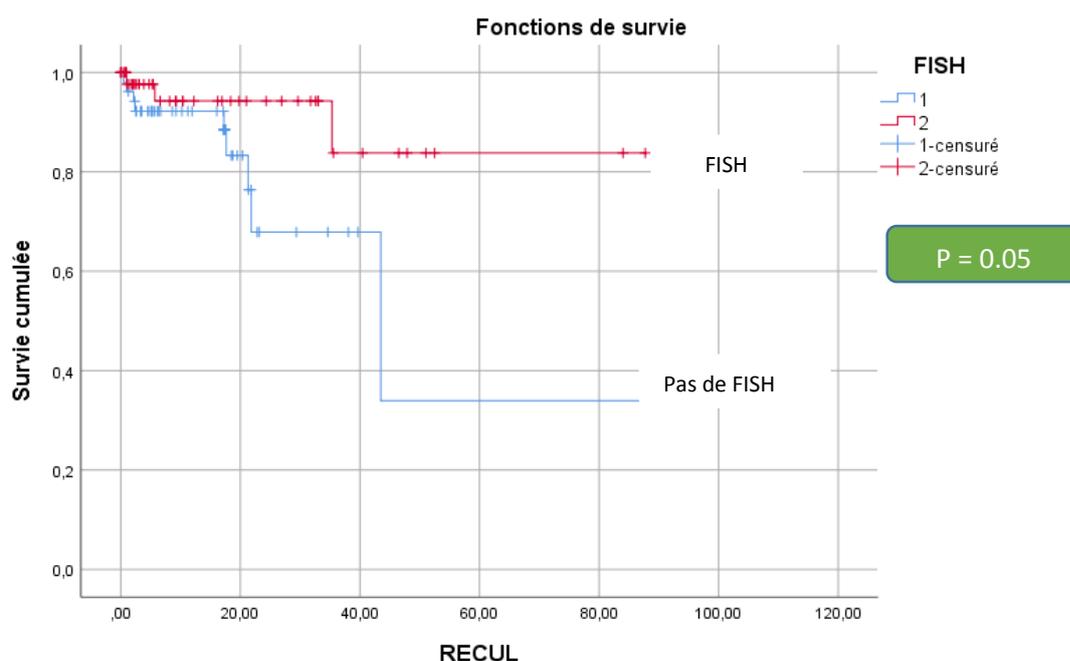


Figure 36 : comparaison des courbes de survie des deux groupes de notre cohorte.

#### **2.2.2.2. La comparaison de la survenue de récurrence locale :**

##### **2.2.2.2.1. La comparaison de la survenue de récurrence locale chez tous types histologiques confondus :**

Le taux de récurrence des patients ayant fait la FISH est légèrement inférieur à celui des patients qui ne l'ont pas fait (18.9% et 21.6% respectivement), mais ceci n'est pas statistiquement significatif ( $p = 0.809$ ). (Voir le tableau 21).

##### **2.2.2.2.2. La comparaison de la survenue de récurrence locale chez chaque type histologique :**

- **La comparaison de la survenue de récurrence locale chez les patients avec sarcomes d'Ewing (ES) :**

Le taux de récurrence des patients ayant fait la FISH est légèrement inférieur à celui des patients qui n'ont pas fait la FISH (13.3% et 14.3% respectivement), mais ceci n'est pas statistiquement significatif ( $p = 1$ ).

- **La comparaison de la survenue de récurrence locale chez les patients avec synoviosarcomes (SS) :**

Le taux de récurrence des patients ayant fait la FISH est légèrement inférieur à celui des patients qui n'ont pas fait la FISH (17.6% et 22.2% respectivement), mais ceci n'est pas statistiquement significatif ( $p = 1$ ).

- **La comparaison de la survenue de récurrence locale chez les patients avec liposarcomes (LS) :**

Le taux de récurrence des patients ayant fait la FISH est légèrement supérieur à celui des patients qui n'ont pas fait la FISH (23.1% et 20% respectivement), mais ceci n'est pas statistiquement significatif ( $p = 1$ ).

- **La comparaison de la survenue de récurrence locale chez les patients avec liposarcomes bien-différenciés (LSBD) :**

Le taux de récurrence chez les patients ayant fait la FISH est inférieur à celui des patients qui n'ont pas fait la FISH (33.3% et 42.9% respectivement), mais ceci n'est pas statistiquement significatif ( $p = 1$ ).

- **La comparaison de la survenue de récurrence locale chez les patients avec liposarcomes dédifférenciés LSDD :**

Aucun patient diagnostiqué de liposarcome dédifférencié n'a récidivé.

- 2.2.2.3. **La comparaison de la survenue de métastase :**

- 2.2.2.3.1. **La comparaison de la survenue de métastase chez tous types histologiques confondus :**

Le taux de métastase chez les patients ayant fait la FISH (15.1%) est 2 fois inférieur à celui des patients qui n'ont pas fait la FISH (32%). Mais ceci n'est pas statistiquement significatif ( $p = 0.061$ ). (Voir le tableau 22).

- 2.2.2.3.2. **La comparaison de la survenue de métastase chez chaque sous type histologique :**

- **La comparaison de la survenue de métastase chez les patients avec sarcomes d'Ewing (ES) :**

Le taux de métastase chez les patients ayant fait la FISH (26.7%) est presque 3 fois inférieur à celui des patients qui n'ont pas fait la FISH (64.3%). Mais, ceci n'est pas statistiquement significatif ( $p = 0.449$ ).

- **La comparaison de la survenue de métastase chez les patients avec synoviosarcomes (SS) :**

Le taux de métastase chez les patients ayant fait la FISH (5.9%) est presque 4 fois inférieur à celui des patients qui ne l'ont pas fait (23.5%), pourtant, ceci n'est pas statistiquement significatif ( $p = 0.335$ ).

- **La comparaison de la survenue de métastase chez les patients avec liposarcomes (LS) :**

Le taux de métastase chez les patients ayant fait la FISH (15.4%) est légèrement inférieur à celui des patients qui n'ont pas fait la FISH (20%). Mais, ce résultat n'est pas statistiquement significatif ( $p = 1$ ).

- **La comparaison de la survenue de métastase chez les patients avec liposarcomes bien-différenciés (LSBD) :**

Le taux de métastase chez les patients ayant fait la FISH est de 33.3% alors qu'aucun patient ayant fait la FISH n'a fait de métastase, pourtant, ceci n'est pas statistiquement significatif ( $p = 0.192$ ).

- **La comparaison de la survenue de métastase chez les patients avec liposarcomes dédifférenciés (LSDD) :**

Aucun patient ayant fait la FISH n'a présenté des métastases tandis que 37.5% des patients n'ayant pas fait la FISH ont présenté des métastases. Ce résultat n'est pas statistiquement significatif ( $p = 0.533$ ).

# DISCUSSION

## **1. Le diagnostic anatomopathologique des STM :**

Les STM représentent un spectre large de tumeurs malignes d'origine mésenchymateuse. Ils présentent une variété d'aspects histologiques qui sont parfois chevauchants rendant leurs diagnostics positif et différentiel très difficiles [47].

Le diagnostic positif et la classification de ces tumeurs repose essentiellement sur l'examen anatomopathologique. L'analyse morphologique microscopique, à côté de l'analyse immunohistochimique, ne permettent pas toujours d'orienter vers une lignée de différenciation [48].

En effet, les sarcomes n'adhèrent pas toujours à des catégories morphologiques spécifiques (cellules rondes, fusiformes ou pléomorphes). Par exemple, certains sarcomes ayant généralement un aspect de cellules fusiformes peuvent rarement présenter une morphologie épithélioïde, tels que les variantes épithélioïdes du léiomyosarcome, du MPNST, du liposarcome pléomorphe, de l'angiosarcome et du myxofibrosarcome. Ce qui rend leur reconnaissance difficile sur la base de la morphologie seule [47].

L'analyse immunohistochimique est une technique très facile à réaliser, et est largement disponible. Elle est facile à interpréter et utile au diagnostic des STM. Mais, un panel initial d'anticorps est souvent nécessaire afin d'établir une classification [48]. En outre, à cause de l'expression chevauchante et non spécifique des marqueurs immunohistochimiques de certaines tumeurs, l'IHC reste insuffisante pour poser un diagnostic précis, surtout dans certains sarcomes où aucune lignée de différenciation n'est clairement identifiable.

Par exemple, le CD99 est un marqueur très sensible dans le diagnostic du sarcome d'Ewing (90–95%) [49,50]. Mais, sa spécificité est limitée car il peut être positif dans d'autres tumeurs sarcomateuses comme le synoviosarcome, ou même non sarcomateuses comme le lymphome lymphoblastique [51].

Un autre exemple est le SS qui exprime plusieurs marqueurs immunohistochimiques (des marqueurs épithéliaux, des cytokératines, l'EMA, la TLE1, la NY-ESO-1, la calponine, la CD99, la protéine S100 etc.) et qui n'y sont pas spécifiques car ils sont exprimés par d'autres tumeurs faisant partie de son diagnostic différentiel (MPNST, SFT, DFSP) [52].

L'immunohistochimie peut aussi avoir des limites comme celles rencontrées dans le diagnostic des LSBD. L'IHC par les anticorps anti MDM2 et anti CDK4 tend à mettre en évidence les noyaux atypiques, qui sont rares ou absents dans les cas ambigus [53]. De plus, l'IHC par l'anticorps anti MDM2 est positive sur les macrophages qui peuvent être présents dans les tumeurs adipeuses avec nécrose graisseuse, ce qui peut conduire à un faux diagnostic de malignité [54,55].

Pour ces cas, une meilleure compréhension de leur biologie moléculaire et l'identification des anomalies génétiques récurrentes et spécifiques impliquées dans leur pathogénèse a permis de faire le tri. Ces anomalies ont été caractérisées par NGS, dans presque la moitié des sarcomes, et la recherche se poursuit [56-64]. On peut actuellement classer les sarcomes en deux grandes catégories moléculaires :

- Les sarcomes à génomique simple dont l'anomalie génétique sous-jacente peut être : une translocation, une mutation activatrice, une mutation inhibitrice, ou une amplification simple.
- Les sarcomes à génomique complexe dont les anomalies génétiques peuvent être multiples (touchant plusieurs gènes) et non spécifiques [57,65].

La traduction des découvertes moléculaires par NGS, en cibles diagnostiques détectées par les tests moléculaires, la cytogénétique, et l'immunohistochimie a facilité leurs diagnostics, classification et en conséquence a amélioré leur prise en charge [65] (voir tableau 24). Dans une étude multicentrique récente, les tests moléculaires ont permis une modification du diagnostic dans 14 % des cas initialement examinés hors centres de référence pour les sarcomes [66].

## **2. L'évolution de la classification de l'OMS des tumeurs des tissus mous :**

La classification de l'OMS a incorporé les données moléculaires comme des critères diagnostiques de certains STM tout au long de son évolution, surtout depuis sa 3ème édition (2002). Alors qu'au tout début, cette classification se basait sur des critères morphologiques microscopiques et immunohistochimique pour le diagnostic et la classification des STM [3, 67,68].

Le diagnostic moléculaire des STM a permis :

- D'une part de rassembler des entités distinctes sur le plan microscopique, mais présentant des anomalies génétiques identiques (le liposarcome dédifférencié).
- Et d'autre part, de différencier des tumeurs morphologiquement identiques mais, présentant des anomalies moléculaires différentes. Comme le cas des sarcomes indifférenciés à cellules rondes, qui sont désormais séparés du sarcome d'Ewing et classées en fonction des réarrangements génétiques sous-jacents en trois sous-groupes principaux (sarcomes CIC, BCOR et non fusionnés avec l'ETS) dans la nouvelle classification de l'OMS de 2020 [3].

Ces classifications ont permis une prise en charge standardisée et adaptée de ces tumeurs, qui sont de pronostics différents et qui impliquent des approches thérapeutiques différentes.

**Tableau 24 : les sarcomes présentant des altérations cytogénétiques et moléculaires distinctes utiles au diagnostic des STM des extrémités [57].**

Le type du sarcome	L'anomalie cytogénétique	L'anomalie moléculaire
Le sarcome d'Ewing	t(11 ; 22) (q24 ; q12) t(21 ; 22) (q12 ; q12) t(7 ; 22) (p22 ; q12) t(17 ; 22) (q21 ; q12) t(2 ; 22) (q35 ; q12)	La fusion EWSR1–FLI1 La fusion EWSR1–ERG La fusion EWSR1–ETV1 La fusion EWSR1–ETV4 La fusion EWSR1–FEV
Le synoviosarcome	t(X ; 18) (p11 ; q11)	La fusion SS18–SSX1 /SSX2
Le liposarcome dédifférencié	Chromosome géant en anneau	Amplification du 12q13–15 : MDM2, CDK4, HMGA2
Le liposarcome myxoïde	t(12 ; 16) (q13 ; p11) t(12 ; 22) (q13 ; q12)	La fusion FUS–DDIT3 La fusion EWSR1–DDIT3
Les sarcomes avec réarrangement du gène BCOR	Inv (X) (p11p11) ? ?	La fusion BCOR–CCNB3 La fusion BCOR–MAML3 La fusion ZC3H7B–BCOR
Les sarcomes avec réarrangement du gène CIC	t(4 ; 19) (q35 ; q13) ou t(10 ; 19) (q26 ; q13) t(X ; 19) (q13 ; q13.3)	La fusion CIC–DUX4 La fusion CIC–FOXO4
La tumeur desmoplastique à petites cellules rondes	t(11 ; 22) (p13 ; q12)	La fusion EWSR1–WT1
Le chondrosarcome myxoïde extra-squelettique.	t(9 ; 22) (q22 ; q12) t(9 ; 17) (q22 ; q11) t(9 ; 15) (q22 ; q21) t(3 ; 9) (q11 ; q22) t(9 ; 17) (q22 ; q11)	La fusion EWSR1–NR4A3 La fusion TAF2N–NR4A3 La fusion TCF12–NR4A3 La fusion TFG–NR4A3 La fusion RBP56–NR4A3
Le chondrosarcome mésoenchymateux	t(8 ; 8) (q13 ; q21)	La fusion HEY1–NCOA2
Le rhabdomyosarcome alvéolaire	t(2 ; 13) (q35 ; q14) t(1 ; 13) (p36 ; q14), double minutes t(2 ; 2) (q35 ; p23) t(X ; 2) (q35 ; q13)	La fusion PAX3–FOXO1 La fusion PAX7–FOXO1  La fusion PAX3–NCOA1 La fusion PAX3–AFX
Le sarcome alvéolaire des parties molles	t(X ; 17) (p11.2 ; q25)	La fusion TFE3–ASPSCR1
La tumeur fibreuse solitaire	Inv (12) (q13q13)	La fusion NAB2–STAT6
Le dermatofibrosarcome protubérant	Chromosomes 17 et 22 en anneaux	La fusion COL1A1–PDGFB
Le fibrosarcome épithélioïde sclérosant	t (11 ; 22) (p11 ; q12) t (7 ; 16) (q33 ; p11)	La fusion EWSR1–CREB3L1 La fusion FUS–CREB3L2
Le sarcome épithélioïde	Délétion du 22q t (8 ; 22) (q22 ; q11) t (10 ; 22)	L'inactivation du SMARCB1
La tumeur myofibroblastique inflammatoire	t (1 ; 2) (q22 ; p23) t (2 ; 19) (p23 ; p13) t (2 ; 17) (p23 ; q23) t (2 ; 2) (p23 ; q13) t (2 ; 2) (p23 ; q35) t (2 ; 11) (p23 ; p15) t (2 ; 4) (p23 ; q21) t (2 ; 12) (p23 ; p12) ? ? ?	La fusion TPM3–ALK La fusion TPM4–ALK La fusion CLTC–ALK La fusion RANBP2–ALK La fusion ATIC–ALK La fusion CARS–ALK La fusion SEC31L1–ALK La fusion PPFIBP1–ALK La fusion RRBP1–ALK La fusion TFG–ROS1 La fusion YWHAE–ROS1
Le sarcome fibromyxoïde de bas grade	t (7 ; 16) (q33 ; p11) t (11 ; 16) (p11 ; p11)	La fusion FUS–CREB3L2 La fusion FUS–CREB3L1
L'hémangioendothéliome épithélioïde	t (1 ; 3) (p36 ; q25)	La fusion WWTR1–CAMTA1

Parmi les techniques de détection ciblée de ces anomalies on distingue la FISH. Celle-ci a plusieurs avantages :

- C'est une technique peu onéreuse. Elle est utilisée en pratique courante par la majorité des laboratoires anatomopathologiques spécialisés dans le diagnostic des STM.
- Les sondes « *Break Apart* » sont largement disponibles. Et leur applicabilité aux différents types de STM à génétique simple a été démontrée dans plusieurs études (par exemple : des sondes « *Break Apart* » pour la détection des translocations des gènes DDIT3, FOXO1, EWSR1 et SS18 dans le LS myxoïde, le rhabdomyosarcome (RMS) alvéolaire, le sarcome d'Ewing et le CCS, et le SS, respectivement). [69–77].
- Elle peut être réalisée sur un matériel frais, des empreintes de tissu congelé, ou des tissus inclus en paraffine et fixés au Formol. Dans ces derniers, l'architecture tissulaire est préservée, donc seules les cellules tumorales peuvent être évaluées, rendant la FISH plus spécifique.
- Elle cible l'ADN qui est plus stable que l'ARN (ciblé dans la RT-PCR) dans ce type de tissus.
- Elle peut être réalisée sur des microbiopsies, qui sont actuellement le gold standard pour la prise en charge des STM [58,78].
- Elle peut être utilisée avec succès sur des prélèvements cytologiques contenant un nombre suffisant de cellules tumorales [79]. Cependant, les aspirations à l'aiguille fine seules sont souvent insuffisantes pour permettre aux pathologistes de poser un diagnostic spécifique de sarcome primaire. Mais, ils sont plutôt utiles pour confirmer une récurrence ou une métastase [57].
- Les signaux générés par la FISH utilisant les sondes à signal divisé sont généralement clairs [80].

Dans notre série, la FISH a été faite chez 82 cas (61.2%) (30 ES, 21 SS, 30 LS, un CSMES). Elle a été indiquée sur des bases morphologiques et immunohistochimiques. Le résultat de la FISH était positif (identifiant, soit une translocation du gène EWSR1 ou du gène SS18, soit une amplification du gène MDM2) dans 40 cas (22 sarcomes d'Ewing, 13 synoviosarcomes et 4 liposarcomes bien différenciés et dédifférenciés et un CSMES). Le résultat était négatif dans 30 cas (7 ES, 8 SS et 25 LS). Le résultat était ininterprétable dans 2 cas pour des problèmes de fixation initiale (un ES et un LS).

### **3. L'apport de la FISH dans le diagnostic des sarcomes d'Ewing**

#### **(ES) :**

Le sarcome d'Ewing (ES) représente 32.8% (44/134) des sarcomes des tissus mous des extrémités de notre série. On a réalisé la FISH chez 68.2% des cas (30/44).

La FISH était utile, en confirmant le diagnostic du ES dans 15 des 19 ES de diagnostic probable (78.9%). Ceci est proche des résultats de Machado et al et de Bridge et al. Des études ont rapporté un taux inférieur (Krams et al) alors que d'autres ont rapporté des taux supérieurs [50,80–82] (voir tableau 25 et 26). La variation des taux entre les études peut être due aux biais de sélection et à la petite taille des échantillons dans quelques études. Dans notre étude, les 4 ES de diagnostic probable qui n'ont pas présenté un réarrangement du gène EWSR1 ont été classés en 2 sarcomes indifférenciés à cellules rondes, un sarcome à cellules rondes de type Ewing-like et un ostéosarcome à cellules rondes.

La FISH était nécessaire en permettant de retenir le diagnostic de ES dans 63.6% (7/11) des ES de diagnostic possible et 24.1% de tous les ES. Les 4 cas de diagnostic possible négatifs ont été classés en 2 ostéosarcomes à cellules rondes, et un léiomyosarcome. Le résultat de la FISH était ininterprétable dans un seul cas de diagnostic possible 14.3%.

Plusieurs études ont montré que la FISH est un examen très sensible et spécifique dans le diagnostic du sarcome d'Ewing [73,80–84] (voir tableau 26). La recherche du réarrangement EWSR1 par FISH est très utile pour confirmer le diagnostic d'un sarcome d'Ewing quand il est le plus probable sur des critères morphologiques et immunohistochimique. Pourtant, l'absence de ce réarrangement par FISH ne permet pas d'éliminer ce diagnostic, parce qu'il est possible de ne pas le détecter par cette technique [85,86].

La FISH est nécessaire pour retenir le diagnostic du sarcome d'Ewing quand il est incertain. Et dans le cadre de son diagnostic différentiel. Elle permet de distinguer l'ES des autres tumeurs à cellules rondes qui ne présentent pas ce réarrangement ; comme le synoviosarcome peu différencié, le rhabdomyosarcome alvéolaire et embryonnaire, le sarcome indifférencié à cellules rondes [87]. En revanche, elle ne permet pas de différencier l'ES (voir tableau 27) des autres tumeurs impliquant le gène EWSR1 et d'autres gènes dans leurs transcrits de fusion (CSMES (EWSR1–NR4A3), DSRCT (EWSR1–WT1), l'histiocytome fibreux angiomatoïde (EWSR1–ATF1, CREB1–EWSR1), le liposarcome myxoïde (EWSR1–DDIT3), les tumeurs myoépithéliales bénignes (EWSR1–PBX1, EWSR1–ZNF444, EWSR1–POU5F1)) [88]. Mais ceci peut être résolu par la recherche des partenaires de fusion de l'EWSR1 de ces tumeurs par des sondes FISH spécifiques (par exemple, la sonde FISH NR4A3 dans le CSMES [27]), ou par la recherche du transcrit de fusion spécifique par RT–PCR en passant par une extraction d'ARN.

**Tableau 25 : comparaison de l'utilité de la FISH dans le diagnostic des sarcomes d'Ewing sur des tissus fixés au formol et inclus en paraffine.**

Auteurs, référence et nombre de cas	Cas positifs par FISH
Horn et al (15 ES) [73]	15 (100%)
Yamaguchi et al (16 ES) [89]	14 (87.5%)
Kumar et al (11 ES) [90]	11 (100%)
Yang et al (10 ES) [91]	9 (90%)
Machado et al (382 ES) [80]	238 (62.3%)
Bridge et al (27 ES) [83]	20 (74.0%)
Qian et al (18 ES) [92]	15 (83%)
Sugita et Hasigawa (5 ES) [93]	4 (80%)
Asif et al (8 ES) [82]	7 (87.5%)
Vargas et al (48 ES) [94]	40 (93%)
Vural et al (18 ES) [50]	7 (38.9%)
Rekhi et al (13 ES) [81]	12 (92.3%)
Notre étude (19 ES de diagnostic probable)	15 (78.9%)

**Tableau 26 : la performance du test de détection du réarrangement EWSR1 par hybridation in situ en fluorescence dans les tissus fixés au Formol et inclus en paraffine du sarcome d'Ewing (ES).**

Auteurs, références et nombre de cas	Sensibilité de la FISH	Spécificité de la FISH
Horn et al [73]	95%	93%
Bridge et al 67 cas (27 ES) [83]	91%	100%
Liu et al 59 cas (35 ES) [84]	93.8%	81.8%
Machado et al 560 cas (382 ES) [80]	96.7%	95.2%
Rekhi et al 58 cas (12 ES) [81]	92.3%	100%
Notre étude (30 ES)	95.7%	90.9%

**Tableau 27 : les caractéristiques moléculaires et clinico-pathologiques de base du ES et de quelques sarcomes parmi son diagnostic différentiel.**

Fusion	Caryotype	Site	Morphologie	CD99	Autres marqueurs
<b>Sarcome d'Ewing extra-squelettique des extrémités</b>					
<b>EWSR1-FL1</b>	t(11 ; 22) (q24 ; q12)	Os ou Tissu mou	ES ou ES atypique	+++	FLI1
<b>EWSR1-ERG</b>	t(21 ; 22) (q22 ; q12)			+++	ERG
<b>EWSR1-ETV1</b>	t(7 ; 22) (p22 ; q12)			+++	NSE, S100, DES, EMA
<b>EWSR1-ETV4</b>	t(17 ; 22) (q21 ; q12)	Tissu mou		+++	
<b>EWSR1-FEV</b>	t(2 ; 22) (q35 ; q12)	Le tissu mou		+++	
<b>Les sarcomes à cellules rondes avec la fusion du EWSR1 avec un gène autre que l'ETS</b>					
<b>EWSR1-NFATC2</b>	t(20 ; 22) (q13 ; q12)	L'os	ES atypique	+++	Aucun
<b>EWSR1-SP3</b>	t(2 ; 22) (q31 ; q12)	Os ou Tissu mou	ES atypique	+++	NSE
<b>EWSR1-PATZ1</b>	Inversion (22) dans t(1 ; 22)	Paroi Thoracique	PNET	+++	DES, keratines, NSE
<b>EWSR1-SMARCA5</b>	t(4 ; 22) (q31 ; q12)	Colonne Lombaire	ES atypique	+++	NSE, Synaptophysine
<b>(EWSR1-POU5F1)</b>	t(6 ; 22) (p21 ; q12)	L'os	Tumeur myoépithéliale	+++	NSE, S100
<b>Les sarcomes à cellules rondes n'ayant pas la fusion EWSR1-ETS</b>					
<b>FUS-ERG</b>	t(16 ; 21) (p11 ; q22)	Paroi thoracique	ES	+++	ERG, NSE
<b>FUS-FEV</b>	t(2 ; 16) (q35 ; p11)	Os (clavicule)	ES	+++	Aucun
<b>Les sarcomes à cellules rondes avec un la fusion CIC-DUX4</b>					
<b>CIC-DUX4</b>	t(4 ; 19) (q35 ; q13) t(10 ; 19) (q26 ; q13)	Tissu mou	SICR ou ES atypique	Faible Focale	WT1
<b>Les sarcomes à cellules rondes avec la fusion BCOR-CCNB3</b>					
<b>BCOR-CCNB3</b>	Inversion (X) (p11)	Os	SICR	50% +++	CCNB3
<b>Les sarcomes indifférenciés à cellules rondes (SICR)</b>					
<b>Pas encore disponible</b>	Pas de translocation Récurrente	Variable	SICR		Variable

#### **4. L'apport de la FISH dans le diagnostic des synoviosarcomes :**

Le SS représente 29.1% (39/134) des sarcomes des tissus mous des extrémités de notre série. On a réalisé la FISH chez 53.8% des cas (21/39).

La FISH était utile en confirmant le diagnostic du SS dans (6/7) des SS avec un diagnostic probable (85.7%). Ceci est proche des résultats de Horn et al (89%). D'autres études ont rapporté des taux supérieurs : Sun et al (96.7%), Terry et al (96%), Vroobel et al (100%) [73,77,95-98] (tableau 28). Un SS (14.3%) de diagnostic probable n'a pas présenté un réarrangement du gène SS18, qu'on a classé en sarcome indifférencié à cellules fusiformes.

La FISH était nécessaire en permettant de retenir le diagnostic de SS dans 57.1% (8/14) des SS de diagnostic possible et 20.5% de tous les SS. Parmi les 6 cas de diagnostic possible négatifs, 5 avaient une morphologie cellulaire fusiforme et un une morphologie à cellules rondes. Ils étaient classés après utilisation des sondes *Break Apart* MDM2 et EWSR1 en 4 sarcomes indifférenciés à cellules fusiformes, un LSDD, et un sarcome de type Ewing.

**Tableau 28 : la performance et l'utilité de la détection du réarrangement du gène SS18 par FISH dans les tissus fixés au formol et inclus en paraffine.**

Etudes, auteurs et nombre de cas	FISH utile	FISH Nécessaire	Sensibilité	Spécificité
Horn et al 9 SS [73]	8 (89%)	–	89%	100%
Sun et al 255 cas [95]	58/62 (93.5%) 7 ininterprétables	100/133(75.2%) 20 ininterprétables	96.7%	94.7%
Terry et al 23 SS [96]	22 (96%)	–	96%	100%
Vroobel et al 6 SS [77]	6 (100%)	–	84.3%	76.9%
Ten Heuvel et al 62 SS [97]	41 / 50 (82%) 6 ininterprétables	0/12 (0%)	82%	100%
Safaei et al 23 SS [98]	17 (73.9%)	–	–	–
Notre étude 21 SS	6/7 (85.7%)	8/14 (57.1%)	–	–

Les SS sont caractérisés par la translocation pathognomonique t (X ; 18). Elle résulte de la fusion du gène SS18 (anciennement SYT) sur le chromosome 18 avec le gène SSX sur le chromosome X (SSX1, SSX2, ou rarement SSX4). Cette translocation est absente dans d'autres sarcomes des tissus mous et elle est spécifique du synoviosarcome [45,99–101]. L'utilisation de la sonde « *Break Apart* » SS18 par la FISH a montré une sensibilité et une spécificité élevée dans la détection de ce réarrangement dans plusieurs études [73,77,95–97].

La FISH est utile à la confirmation du synoviosarcome quand il est le plus probable. Là aussi, la non détection par FISH, du réarrangement du gène SS18 par la sonde *break Apart* SS18 n'élimine pas le diagnostic du SS. Vu que, dans de rares cas (<5%), les SS ne portent pas la translocation pathognomonique, mais des réarrangements chromosomiques cryptiques du SS18–SSX qui pourraient être créés par épissage alternatif. Ces derniers ne sont pas détectables par FISH [99–102]. D'où l'intérêt de rechercher le transcrite de fusion par RT–PCR.

La FISH est nécessaire pour retenir le diagnostic du SS quand il est seulement possible. Elle permet de différencier les SS des tumeurs figurant parmi ses diagnostics différentiels, surtout en cas de morphologie à cellules rondes [45,100].

## **5. L'apport de la FISH dans le diagnostic de l'ALT/LSBD et du LSDD :**

Les liposarcomes représentent 34.3% (46/134) des sarcomes des tissus mous des extrémités de notre série. Avec 58.7% des LSBD (27/46), 39.1% des LSDD (18/46) et un LSM (2.2%). On a réalisé la FISH chez 65.2% des cas (30/46), avec 66.7% des LSBD (20/30), 30% des LSDD (9/30) et un LSM (3.3%).

La FISH était utile en confirmant le diagnostic du liposarcome dans 3 cas des 22 LS de diagnostic probable (13.6%), dont 2 LSBD (9.1%) et un LSDD (4.5%). Ceci est inférieur au résultat de l'étude de Neuville et al où la FISH était utile au diagnostic de

86.8% des LS de diagnostic probable. Similairement, dans l'étude de Zhang et al, la FISH était utile au diagnostic de 79% des ALT/LSBD [73,77,82,103-107] (voir le tableau 29).

La FISH était nécessaire pour différencier entre LS et lipomes dans 19 cas (86.4%), dont 18 LSBD (81.8%), et un LSDD (4.5%) de diagnostic probable. Elle était aussi nécessaire pour retenir le diagnostic de liposarcome dans 2 cas (25%) de diagnostic possible. Les six cas de diagnostic possible négatifs ont été classés en 3 sarcomes indifférenciés (2 à cellules fusiformes et un à cellules pléomorphe), un léiomyosarcome pléomorphe et un liposarcome myxoïde avec composante à cellules rondes. Le résultat de la FISH était ininterprétable dans un seul cas de diagnostic possible (3.3%).

Dans l'étude de Takeshi et al, l'examen de la FISH a permis de reclasser 2% des lipomes en TLA/LSBD et 24% des liposarcomes en lipomes. Dans l'étude de Zhang et al, la FISH a permis de reclasser 7% des TLA en lipomes et moins de 1% des lipomes en TLA. Dans l'étude de Neuville et al, la FISH était nécessaire pour retenir le diagnostic de liposarcome dans 7% des liposarcomes de diagnostic possible. Dans l'étude de Thway et al 31,6 % des LSBD de diagnostic possible étaient positifs pour la MDM2 et 26.7% des LSBD de diagnostic probable étaient négatifs [103-105,108].

**Tableau 29 : la performance et l'utilité de la détection de l'amplification du gène MDM2 par FISH dans les tissus fixés au Formol et inclus en paraffine.**

Etudes, auteurs et nombre de cas	FISH utile	FISH Nécessaire	Sensibilité	Spécificité
<b>Neuville et al</b> 220 LS [103] 15 ininterprétables	66/76 (86.8%)	7/99 (7%)	-	-
<b>Zhang et al</b> 405 tumeurs Adipeuses [104] 52 TLA/LSBD 324 lipomes	41 (79%) -	11 (21%) 7 (2%)	85%	97%
<b>Takeshi et al</b> 227 tumeurs Adipeuses [105] 92 TLA 20 LSDD 84 lipomes	79 (86%) 18 (90%) -	13 (14%) 2 (10%) 2 (2%)	93.5%	-
<b>Thway et al</b> 347 tumeurs [108] 73 LSBD 69 LSDD 122 lipomes	17 (97.3%) 66 (95.7%)	9 (7.4%)		
<b>Sirvent et al</b> 200 tumeurs [106] 36 TLA/LSBD (4 interprétables) 8 LSDD 50 lipomes	30 (83.3%) 8 (100%)	2 (5.5%) 0%	95%	100%
<b>Kimura et al</b> 177 tumeurs [107] 49 TLA/LSBD 5 LSDD 23 LSM 25 lipomes	48 (98%) 5 (100%) 0% 0%	1 (2%)	100%	95%
<b>Asif et al</b> [82] 5 TLA/LSBD 2 LSDD	1 (20%) 1 (50%)	- -	-	-
<b>Horn et al</b> [73] 8 TLA/LSBD 3 LSDD	7 (88%) 3 (100%)	- -	91%	100%
<b>Vroobel et al</b> [77] 38 LSBD/LSDD	38 (100%)	-	76.9%	84.3%
<b>Notre étude</b> 30 liposarcomes 20 LSBD 9 LSDD (1 ininterprétable) 1 LSM	2 (10%) 1 (11.1%) -	18 (90%) 6 (88.9%) -	-	-

Sur le plan histologique :

1. Le liposarcome dédifférencié est traditionnellement défini par l'association de zones de tumeur lipomateuse atypique ou de liposarcome bien différencié et d'une composante non lipidique, avec une transition abrupte entre les deux. La composante non lipidique est généralement pléomorphe ressemblant aux sarcomes indifférenciés à cellules pléomorphes (de pronostic plus péjoratif). En outre, une différenciation hétérologue se produit dans environ 10 % des LSDD et peut se présenter sous une forme ostéo/chondrosarcomateuse, myogénique ou angiosarcomateuse. Ainsi, les LSDD peuvent imiter un large spectre de tumeurs malignes des tissus mous. Il est vrai que le diagnostic est facilité par la mise en évidence d'une composante lipomateuse bien différenciée, mais celle-ci peut passer inaperçue dans les microbiopsies [109,110].
2. Les tumeurs lipomateuses atypiques et les liposarcomes bien différenciés (TLA/LSBD) se distinguent généralement des lipomes par l'identification de cellules atypiques hyperchromatiques ou de lipoblastes atypiques. Cependant, ces cellules peuvent être rares ou absentes en particulier sur les microbiopsies. En plus, les lipomes peuvent présenter des changements secondaires tels que l'inflammation, la fibrose et la nécrose, ou peuvent induire une atrophie musculaire secondaire péri-tumorale. Ce qui peut être confondu avec les caractéristiques atypiques observées dans les TLA/LSBD. [104,108,110].

Ces deux situations pathologiques sont des dilemmes diagnostiques pour l'anatomopathologiste en pratique courante.

Dans la deuxième situation, la différenciation entre un lipome et une tumeur lipomateuse atypique ou un liposarcome bien différencié (TLA/LSBD) est nécessaire. Parce que, pour les TLA/LSBD, une excision large doit être réalisé afin d'éviter leur récurrence, ce qui n'est pas le cas pour le lipome [111].

Dans la première situation, le pronostic diffère entre le liposarcome dédifférencié et le liposarcome pléomorphe, le pronostic de ce dernier étant plus péjoratif avec un risque métastatique plus élevé [112]. Ce qui nécessite une prise en charge différente.

La détection de l'amplification du gène MDM2 est nécessaire d'une part, pour distinguer les TLA/LSBD du lipome. Et d'autre part, pour différencier le liposarcome dédifférencié du liposarcome pléomorphe [29,105,113,114].

De nombreuses études ont documenté l'utilité et la fiabilité de la détection de l'amplification du gène MDM2 par FISH, sur des tissus fixés au Formol et inclus en paraffine, avec une bonne sensibilité (voir le tableau 29).

Cependant un résultat négatif par FISH (absence de l'amplification du gène MDM2) ne permet pas d'éliminer le diagnostic des LSDD, en particulier sur microbiopsie. Car il pourrait s'agir d'un tissu adipeux orthoplasique. D'où la nécessité d'interpréter les résultats de la FISH dans la lumière des données cliniques, morphologiques et de l'IHC [115,116].

## **6. La comparaison des deux groupes FISH réalisée et non réalisée en matière de survie, de récurrence locale, et des métastases :**

Dans le but de déterminer l'impact de la réalisation ou non de l'examen de la FISH pour le diagnostic des STM sur la survie, la récurrence locale et la métastase, on a comparé deux groupes de patients l'un ayant bénéficié de cet examen (53 cas) et l'autre non (52 cas). A notre connaissance, aucune étude n'a fait une comparaison similaire à la nôtre, sauf l'étude par Zhang et al, qui a étudié l'apport des tests moléculaires sur le diagnostic de 405 tumeurs adipeuses des extrémités. Dans cette étude, les taux de récurrence locale des lipomes, des lipomes intramusculaires et des TLA/LSBD avant la classification moléculaire étaient respectivement de 2 %, 5 % et 45 % ( $p < 0,0001$ ). Alors qu'après classification moléculaire, ces groupes ont été classés

en entités séparées avec un taux de récurrence locale de 1 %, 12 %, et 44 % respectivement ( $p < 0,0001$ ) [104].

Après la comparaison des deux groupes de notre série, on a constaté que :

- La moyenne de survie de notre série est de 86,1 mois (IC à 95%). Le taux de survie globale est de 89.5%.

Le taux de survie des patients ayant fait la FISH était supérieur à celui des patients n'ayant pas fait la FISH (94% et 83% respectivement). Le test du Log Rank (Mantel-Cox) est significatif ( $p = 0.05$ ). En conséquence, les patients ayant fait la FISH avaient une meilleure survie. Ces résultats peuvent être expliqués par la participation importante de la FISH dans le diagnostic et la classification précise de ces tumeurs qui s'est traduite par une meilleure prise en charge thérapeutique et une meilleure surveillance de nos patients. Plusieurs facteurs pronostiques affectant la survie des patients atteints de sarcomes des tissus mous ont été documentés jusqu'à présent. Par exemple, dans le sarcome d'Ewing, l'âge de plus de 14 ans, la taille tumorale de plus de 8 cm et le volume de plus de 200 ml, le siège axial, la récurrence locale, la présence de métastases à la présentation, le site métastatique surtout l'atteinte de la moelle osseuse, et la réponse à la chimiothérapie (une mauvaise réponse a été définie par la présence de plus de 10 % de cellules tumorales viables selon le système de classification de Salzer-Kuntschik) [117-120]. D'autres études ont étudié le rôle pronostique des anomalies génétiques pour certains STM. Par exemple, les tumeurs avec la fusion *EWSR1-FLI1* ont un meilleur pronostic par rapport aux autres fusions. Toutefois, on n'a pas réussi à valider ce résultat à l'heure actuelle, et les informations sur le type de fusion ne sont pas systématiquement utilisées dans la pratique clinique [119,121,122].

- Le taux de récurrence locale chez les patients ayant réalisé la FISH est légèrement inférieur à celui des patients ne l'ayant pas réalisé (18.9% et 21.6% respectivement,  $p = 0.809$ ). Mais ce résultat n'est pas statistiquement significatif. Ceci est logique

étant donné que les facteurs de risque liés à la récurrence locale documentés par la littérature sont, soit des facteurs extrinsèques liés au traitement : une marge chirurgicale positive, une marge chirurgicale de 2 mm ou moins, la contamination du lit opératoire par excision fragmentaire ou la rupture de la tumeur, l'utilisation de la radiothérapie ou de la chimiothérapie. Soit des facteurs intrinsèques liés au patient et à la tumeur : l'âge avancé du patient ; la taille importante, la profondeur et le siège de la tumeur ; et le sous-type histologique [120,123,124-126].

- Le taux de métastases chez les patients ayant fait la FISH est 2 fois inférieur à celui des patients ne l'ayant pas fait (15.1 et 32% respectivement  $p= 0.061$ ). Ce résultat est proche de la signification. Ceci a été anticipé vu que les principaux facteurs de risque liés à la métastase dans les STM sont le grade histologique [35] et la récurrence locale [126,127].

## **7. Les avantages et les limites de notre étude :**

- Un biais de sélection a pu être introduit lors de l'inclusion des patients dans notre étude en raison de sa nature rétrospective, mais ceci est inévitable lors de l'étude des maladies rares. Nous avons essayé de minimiser le biais de sélection en incluant tous les patients atteints de STM diagnostiqués dans notre formation. Les données compilées dans la base de données ont pu être enregistrées de manière incomplète, incorrecte ou inexacte à partir des dossiers des patients. La taille de l'échantillon est réduite, ce qui peut limiter nos analyses en termes de puissance statistique nécessitant ainsi d'autres études avec plus de cas pour valider nos résultats. Dans l'étude de la survie, on a pu enregistrer des causes de décès non liées à la maladie.
- C'est vrai que la classification pré-moléculaire des tumeurs en « diagnostic possible » et « diagnostic probable » est subjective et qu'elle est liée à l'expertise du pathologiste, de plus qu'on ne sait pas à quel point on est précis dans le

diagnostic histologique des STM. Mais, elle est pratique et peut être utilisée en pratique courante.

- Pour des raisons techniques, un pourcentage des tests par FISH, comme d'autres techniques moléculaires, est ininterprétable en raison d'une mauvaise fixation, d'une décalcification excessive, d'un tissu insuffisant ou d'une nécrose excessive, comme il était décrit dans les références précédentes. Un nombre de tests par FISH peut être non informatif en raison du chevauchement des noyaux des tissus pendant la coupe des blocs de paraffine ou au cours du traitement de la FISH. Dans ces cas, le diagnostic final est basé sur la morphologie, l'IHC et les autres tests moléculaires comme la RT-PCR [80,94,103]. La FISH est un test peu coûteux. Mais, si on compare son coût à celui du traitement ; englobant généralement une chirurgie, une radiothérapie, et une chimiothérapie ; il reste négligeable.

Les points forts de notre étude sont :

- Nos résultats sont basés sur la pratique clinique quotidienne.
- Notre étude se concentre spécifiquement sur une localisation (c'est-à-dire les extrémités).
- Il s'agit de l'expérience d'un seul centre, alors, l'évaluation pathologique est cohérente et la prise en charge est relativement homogène.

# CONCLUSION

A la lumière des données de cette étude, la détection des réarrangements des gènes EWSR1 et SS18, et de l'amplification du gène MDM2 par FISH s'est avéré comme un moyen de classification et de diagnostic très utile à la confirmation des sarcomes d'Ewing, des synoviosarcomes et des tumeurs lipomateuses atypiques/ des liposarcomes bien différenciés et dédifférenciés surtout quand ils sont fortement suspectés sur la base des données cliniques, radiologiques, morphologiques et immunohistochimiques.

Elle s'est avérée nécessaire au diagnostic de ces sous-types histologiques (avec anomalie génétique simple et spécifique) d'une part, quand leurs diagnostics étaient incertains sur la lumière des données cliniques, radiologiques, morphologiques et immunohistochimiques. Et d'autre part, pour écarter les diagnostics différentiels.

Les patients ayant réalisé la FISH pour le diagnostic de leurs STM, ont présenté une meilleure survie, moins de récurrence et de métastases que ceux ne l'ayant pas réalisé. Alors, la réalisation de la FISH pour le diagnostic s'est révélée comme un facteur améliorant le pronostic des patients avec STM.

Ces éléments doivent :

- Inciter les médecins généralistes à sensibiliser et orienter les patients avec suspicion de sarcomes des tissus mous vers un centre spécialisé (CHU) pour qu'ils bénéficient d'un diagnostic précoce et exact à l'aide des moyens diagnostics moléculaires, et d'une prise en charge multidisciplinaire.
- Inciter les pathologistes à utiliser la technique de la FISH dans le diagnostic des sarcomes des tissus mous à génomique simple en pratique courante. Un diagnostic précoce et exact veut dire une stratégie thérapeutique et un suivi meilleurs et adaptés, et en conséquence une meilleure survie et un meilleur pronostic de ces patients.

- Inciter le ministère de la santé d'une part, à équiper les laboratoires d'anatomie pathologique existants des moyens nécessaires au diagnostic moléculaire des STM (FISH, RT-PCR, NGS...). Et d'autre part, à créer des réseaux et des centres régionaux et nationaux spécialisés dans la recherche, le diagnostic et la prise en charge des sarcomes des tissus mous au Maroc.

# PERSPECTIVES

Elargir notre échantillon pour inclure :

- Tous les sarcomes des tissus mous toutes localisations confondues.
- D'autres sous-types histologiques avec anomalie moléculaire simple.
- Les cas d'autres régions.

Dans le but de réaliser une analyse de survie, de récurrence locale et de métastase représentative de tous les sous-types histologiques et moléculaires des sarcomes des tissus mous dans notre royaume.

# RESUMES

## Résumé

**Introduction** : les sarcomes des tissus mous sont des tumeurs malignes rares regroupant plusieurs sous-types histologiques dont la prise en charge et le pronostic diffèrent même au sein d'un seul type histologique. Le diagnostic anatomopathologique de ces tumeurs est compliqué vu les chevauchements de leurs aspects morphologiques et immunohistochimiques. Certains de ces tumeurs sont caractérisés par des anomalies génétiques récurrentes simples et spécifiques qui peuvent être des marqueurs diagnostiques intéressants pour le pathologiste.

### **Objectifs** :

#### **Principaux** :

- Evaluer l'intérêt de la FISH dans le diagnostic des sarcomes des tissus mous des extrémités de notre série et comparer nos résultats avec la littérature.
- Evaluer l'impact pronostique de la FISH dans notre contexte.

#### **Secondaire** :

- Décrire les aspects épidémiologiques, cliniques et anatomopathologiques des sarcomes des tissus mous des extrémités de notre série.

**Matériels et méthodes** : il s'agit d'une étude rétrospective descriptive, analytique et comparative incluant tous les patients diagnostiqués de sarcomes des tissus mous des extrémités au service d'anatomie pathologique du CHU Hassan 2 de Fès, entre 2010 et 2019.

L'analyse anatomopathologique a été effectuée sur des prélèvements fixés au Formol et inclus en paraffine, qui ont été coupés en rubans de 4 microns et étalés sur des lames. Ils ont été par la suite déparaffinés. L'analyse morphologique a été effectuée sur des lames colorées par la coloration standard (HES). On a complété notre procédure diagnostique par une étude immunohistochimique. Pour notre premier objectif, un diagnostic pré-moléculaire a été établi qu'on a classifié en fonction du degré de certitude diagnostique en 2 groupes : « diagnostic probable » quand le

diagnostic établi est le plus probable, et « diagnostic possible » : quand le diagnostic établi est incertain ou est le moins probable. Ensuite, une étude par FISH a été faite en utilisant les sondes BREAK-APART Vysis EWSR1, SS18, MDM2 pour détecter les translocations des gènes EWSR1 et SS18 et l'amplification du gène MDM2 sur des lames chargées positivement. L'analyse des lames a été faite par un microscope à épifluorescence en utilisant un filtre triple bande DAPI - vert - rouge. Une classification histo-moléculaire a été établie selon le résultat de la FISH et conformément à la classification de l'OMS 2020. Pour notre 2<sup>ème</sup> objectif, on a collecté les données sur la survie, la récurrence locale et la métastase de 105 patients, 52 n'ayant pas bénéficié de la FISH et 53 l'ayant fait.

**Résultats :** 134 cas de sarcomes des tissus mous des extrémités diagnostiqués sur des critères morphologiques et immunohistochimiques ont été retenus. La moyenne d'âge était de 38 ans. Le sexe ratio était de 1.2 H/F. Le membre inférieur était le siège le plus fréquent (75.4%) surtout la cuisse (37.3%). La taille de la tumeur était supérieure à 10 cm dans 63.4% des cas avec une localisation sous-aponévrotique dans 96.3% des cas. 77.6% ont bénéficié d'une biopsie préalable dont 76.1% étaient radioguidées. La morphologie à cellules rondes était la plus fréquente (41.8%). Plus de la moitié des tumeurs étaient de grade 2 (58.2%). L'analyse immunohistochimique a été faite chez 62.7% des cas. Le histologique le plus fréquent était le liposarcome (34.3%) (20.1% LSB, 7.5% LSM, 6.7% LSDD), suivie du sarcome d'Ewing (32.8%), du synoviosarcome (29.1%), des sarcomes indifférenciés (3%) et du CSMES (0.7%).

La FISH a été réalisée chez 82 cas (61.2%) sur des prélèvements biopsiques préalables dans 81.7% des cas. La sonde EWSR1 a été utilisée dans la majorité des cas (37,8%), suivie de la sonde MDM2 (36,6%), ensuite la sonde SS18 (18,3%), puis les deux combinaisons de sondes « EWS1, SS18 » et « SS18, MDM2 » (3,7% chacun). Le diagnostic était probable dans 59.8% de cas (26.8% des LS, 8.5% des SS et 23.2% des ES, 1 CSMES 1.2%), le diagnostic était possible dans 40.2% de cas (9.8% des LS, 17.1% des SS et 13.4% de ES). La FISH était positive (montrant un réarrangement des gènes

EWSR1, SS18 ou une amplification du gène MDM2) dans 48.8% des cas alors qu'elle était négative (absence d'un réarrangement ou d'une amplification) dans 48.8% des cas, et elle était ininterprétable dans 2.4% de cas (un LS et un ES). La FISH était utile dans 47.6% de cas (60% ES, 26.7% LS, 57.1% SS, 100% CSMES) alors qu'elle nécessaire dans 50% de cas (36.7% des ES, 70% LS, 42.9% SS) et ininterprétable dans 2.4% des cas. 59.7% des patients ont bénéficié d'un traitement chirurgical. Une chirurgie conservatrice était envisagée dans 80% des cas.

Chez les 53 patients ayant bénéficié de l'examen de la FISH, Le taux de survie globale est à 94%, la moyenne de survie est à 77,402 mois (de 65,558 mois à 89,245 mois avec un IC à 95%). On n'a pas pu calculer la médiane de survie vu que moins de 50% des patients ont été décédés à la fin de la durée de notre étude. Chez les 52 patients n'ayant pas bénéficié de l'examen de la FISH, le taux de survie globale est à 83%, la moyenne de survie est de 59,502 mois (de 22,231 mois à 96,773 mois avec IC à 95%) et la médiane de survie est estimée à 43,496 mois (de 12,626 mois à 74,366 mois avec IC à 95%). Les patients qui ont bénéficié de la FISH ont une meilleure survie globale (Log Rank (Mantel-Cox)  $p = 0.05$ ). Le taux de récurrence locale des patients ayant fait la FISH est légèrement inférieur à celui des patients qui n'ont pas fait la FISH (18.9% et 21.6% respectivement,  $p = 0.809$ ). Le taux de métastase chez les patients ayant fait la FISH est 2 fois inférieur à celui des patients qui n'ont pas fait la FISH (15.1% et 32% respectivement,  $p = 0.061$ ).

**Conclusion :** la FISH est un moyen utile pour confirmer le diagnostic des sarcomes des tissus mous des extrémités à génétique simple quand ils sont fortement suspectés sur des critères cliniques, radiologiques, morphologiques et immunohistochimiques. Elle est nécessaire quand leur diagnostic est incertain, et pour les différencier de leurs mimiques histologiques bénins ou malins. Les patients ayant fait la FISH ont une meilleure survie globale, moins de récurrence et de métastases.

## **Abstract**

**Background:** Soft tissue sarcomas are rare malignant tumors with several histological subtypes displaying a myriad of morphologic patterns. Their management and prognosis differ even within a single histological type. The pathological diagnosis of these tumors is often complicated due to their overlapping morphological and immunohistochemical aspects. Some of these tumors harbor simple and specific recurrent genetic abnormalities that could be interesting diagnostic markers for the pathologists.

**Purpose:** our main objectives were to:

- Evaluate the utility of FISH in the diagnosis of soft tissue sarcomas of the extremities in our series and compare our results with the literature.
- Compare two groups of patients, one has underwent FISH technique for the diagnosis of their soft tissue sarcomas of the extremities and the other has not, in terms of survival, local recurrence, and metastasis.
- Our secondary objective is to describe epidemiological, clinical, and pathological aspects of soft tissue sarcomas in our series.

**Patients and methods:** This is a retrospective descriptive, analytical, and comparative study including all patients diagnosed with soft tissue sarcomas of the extremities at the department of pathological anatomy of Hassan 2 University Hospital of Fez, between 2010 and 2019.

Pathological analysis was performed on 4-micron thick tissue sections cut from formalin-fixed, paraffin-embedded blocks that were after that deparaffinized. Morphological analysis was performed on slides stained with standard coloration (HES). Our diagnostic procedure was completed by an immunohistochemical study when needed. For our first objective, a pre-molecular diagnosis was established for

all our cases with 2 degrees of diagnostic certainty: "probable diagnosis" when the established histologic diagnosis is the most probable, and "possible diagnosis": when the established diagnosis is uncertain or is the least probable. Next, a FISH study was performed using BREAK-APART Vysis EWSR1, SS18, and MDM2 probes to detect rearrangement of EWSR1, SS18 genes, and the amplification of MDM2 gene respectively on positively charged slides. The slides were analyzed on an epifluorescence microscope using a DAPI-green-red triple band filter. A histomolecular diagnosis was established according to FISH results and the 2020 WHO classification of soft tissue tumors. For our second objective, survival, local recurrence and metastasis data were collected from 105 patients, 53 underwent FISH and 52 did not.

**Results:** 134 cases of soft tissue sarcomas of the extremities diagnosed on morphological and immunohistochemical criteria were selected. The average age was 38 years. Sex ratio was 1.2 M/F. Lower limb was the most frequent site (75.4%), especially the thigh (37.3%). Size of the tumor was greater than 10cm in 63.4% of cases, with a deep (sub-aponeurotic) location in 96.3% of cases. 77.6% of cases had a prior biopsy, 76.1% of which were radio-controlled. Round cell morphology was the most frequent (41.8%). More than half of tumors were grade 2 (58.2%). Immunohistochemical analysis was performed in 62.7% of cases. The most frequent histological subtype was liposarcoma (34.3%) (20.1% LSBD, 7.5% LSM, 6.7% LSDD), followed by Ewing's sarcoma (32.8%), synovial sarcoma (29.1%), undifferentiated sarcoma (3%) and extra skeletal myxoid chondrosarcoma (CSMES) (0.7%).

FISH was performed in 82 cases (61.2%) on prior biopsy specimens in 81.7% of cases. EWSR1 probe was used in the majority of cases (37.8%), followed by MDM2 probe (36.6%), then SS18 probe (18.3%), and finally the two probe combinations "EWS1, SS18" and "SS18, MDM2" (3.7% each). The diagnosis was probable in 59.8% of cases (26.8% of LS, 8.5% of SS and 23.2% of ES, 1 CSMEs 1.2%) while it was possible in

40.2% of cases (9.8% of LS, 17.1% of SS and 13.4% of ES). FISH was positive (showing EWSR1 or SS18 genes rearrangements, or MDM2 gene amplification) in 48.8% of cases while it was negative (absence of rearrangement or amplification) in 48.8% of the cases, and it was uninterpretable in 2.4% of the cases (one LS and one ES). FISH was useful to diagnosis in 47.6% of cases (60% ES, 26.7% LS, 57.1% SS, 100% CSMES) while it was necessary in 50% of cases (36.7% of ES, 70% LS, 42.9% SS). It was uninterpretable in 2.4% of cases. 59.7% of patients received surgical treatment. Conservative surgery was performed in 80% of cases.

Among 53 patients who underwent FISH, overall survival rate was 94%, mean survival was 77.402 months (95% CI 65.558 – 89.245). We could not calculate median of survival since less than 50% of the patients were deceased at the end of our study. Among 52 patients who did not receive FISH examination, overall survival rate was 83%, mean survival was 59.502 months (95% CI 22.231 – 96.773), and median of survival was estimated at 43.496 months (95% CI 12.626 – 74.366). Patients who underwent FISH had a better overall survival (Log Rank (Mantel–Cox)  $p = 0.05$ ). Local recurrence rate of patients who underwent FISH was slightly lower than that of patients who did not undergo FISH (18.9% and 21.6% respectively,  $p = 0.809$ ). The rate of metastasis in patients who underwent FISH was 2 times lower than in patients who did not undergo FISH (15.1% and 32% respectively,  $p = 0.061$ ).

**Conclusion:** FISH is a useful means to confirm the diagnosis of single-genetic associated soft tissue sarcomas of extremities when they are highly suspected on clinical, radiological, morphological and immunohistochemical criteria. It is necessary when their diagnosis is uncertain, and to differentiate them from their benign or malignant histological mimics. Patients who underwent FISH has better overall survival than those who did not. Local recurrence and metastasis rates in patients who underwent FISH are lower than those who did not.

## ملخص:

**مقدمة:** تُعد ساركومات الأنسجة اللينة من الأورام الخبيثة النادرة التي تحتوي على العديد من الأنواع الفرعية. وتختلف إدارتها وتشخيصها حتى في إطار نوع واحد. تتميز هذه الأخيرة بتشخيص معقد نظرا الى تداخل أنماطها المورفولوجية والمناعية الكيميائية. بعض هذه الأورام تحتوي على تشوهات جينية بسيطة محددة ومتكررة والتي تمثل معايير تشخيصية مثيرة للاهتمام لأخصائيي التشريح المرضي.

### الاهداف: أهدافنا الرئيسية هي:

- تقييم فائدة التهجين الموضعي المتألق (ت.م.م) في تشخيص ساركومات الأنسجة اللينة للأطراف ومقارنة نتائجها بالنتائج المنشورة في الأدبيات.
- مقارنة معدلات البقاء على قيد الحياة والتكرار الموضعي وانتشار المرض بين مجموعتين من المرضى، الأولى استفادت من (ت.م.م) لتشخيص ساركومات الأنسجة اللينة للأطراف لديها والأخرى لا.

### طرق ومعدات :

هذه دراسة وصفية وتحليلية ومقارنة بأثر رجعي تشمل جميع المرضى الذين تم تشخيصهم بساركومات الأنسجة الرخوة للأطراف في قسم التشريح المرضي بالمستشفى الجامعي الحسن الثاني بفاس بين عامي 2019 و2010. أجريت تحليلات التشريح المرضي على شرائح من أنسجة مثبتة بالفورمالين ومنقوعة بالبارافين بسمك 4 ميكرون. تم التحليل المورفولوجي على شرائح ملونة بالتلوين المعياري (هيماتوكسيلين، اليوسين، الزعفران). وأكملنا إجراءنا التشخيصي بدراسة كيميائية مناعية عند الحاجة. بالنسبة لهدفنا الأول، تم وضع تشخيص أولي لكل الحالات قبل استخدام تقنية "ت.م.م". هذا التشخيص يتميز بدرجتين من اليقين، عالي أو منخفض: "التشخيص المحتمل" عندما يكون التشخيص المقرر هو الأكثر احتمالا، و "التشخيص الممكن": عندما يكون التشخيص غير مؤكد أو يكون أقل احتمالا. بعد ذلك، تم إجراء دراسة التهجين الموضعي المتألق باستخدام المسابر MDM2، SS18، EWSR1 للكشف عن تضخيم الجين MDM2 وإعادة ترتيب الكروموسومات SS18، EWSR1 على شرائح مشحونة بشكل إيجابي. تم تحليل لشرائح باستخدام مجهر إبيفلوريون باستخدام مرشح ثلاثي النطاق DAPI-أخضر-أحمر. بعد ذلك تم تصنيف الأورام تصنيفا جزيئيا استنادا إلى تصنيف منظمة الصحة العالمية لأورام الأنسجة الرخوة والعظام لسنة 2020. أما بالنسبة لهدفنا الثاني، تم جمع البيانات المتعلقة بالبقاء على قيد الحياة، والتكرار الموضعي وانتشار المرض من 105 مرضى، منهم 53 استفادوا من تقنية "ت.م.م"، و 52 لم يستفيدوا.

**النتائج:**

اخترنا 134 حالة من الساركوما ذات الأنسجة الرخوة للأطراف التي تم تشخيصها على أساس مورفولوجي وكيميائي مناعي. كان متوسط العمر 38 عاماً. وكانت نسبة الجنس  $H/F = 1.2$ . وكان موقع الأورام في الأطراف السفلية أكثر شيوعاً (75.4 في المائة) وخاصة الفخذ (37.3 في المائة). كان الورم أكبر من 10 سم وعميقاً في 63.4% و96.3% من الحالات على التوالي. واستفاد 77.6 في المائة من خزعة سابقة للعلاج، كان 76.1 في المائة منها موجهاً بالأشعة السينية. كانت مورفولوجيا الخلايا المستديرة أكثر شيوعاً (41.8%) وكان أكثر من نصف الأورام من الدرجة 2 (58,2%). وقد أجري التحليل الكيميائي المناعي في 62.7 في المائة من الحالات. وكان نوع الساركوما الأكثر شيوعاً هو الليبوساركوما (LS) 34.3% (20.1% من LSBD، 7.5% LSM، 6.7% LSDD)، يليه الساركوما يوينج (ES) 32.8%، والسينوفايالوساركوما (SS)، 29.1%، ثم الساركوما العشوائي (SI) 3% وأخيراً الساركوما الغضروفية للأنسجة الرخوة (CSMES) 0.7%.

لقد أجريت تقنية "ت.م.م" في 82 حالة (61.2 في المائة) على عينات خزعة أولية في 81.7 في المائة من الحالات. وقد استخدم المسبار "EWSR1" في أغلب الحالات (37.8%)، ثم المسبار "MDM2" (36.6%)، ثم المسبار "SS18" (18.3%)، ثم المزيج بين المسبارين «SS18، EWS1» و"SS18، MDM2" (3.7% لكل منهما). كان التشخيص محتملاً في 59.8% من الحالات (26.8% من LS، و8.5% من SS، و23.2% من ES، و1.21% CSMEs)، وكان التشخيص ممكناً في 40.2% من الحالات (9.8% من LS، و17.1% من SS، و13.4% من الحالات). وكان هذا الفحص إيجابياً في 48.8 في المائة من الحالات، بينما كان سلبياً في 48.8 في المائة من الحالات، وكان غير قابل للتحليل في 2.4 في المائة من الحالات. قد كان الفحص مفيداً في 47.6% من الحالات (60% من ES، 26.7% من LS، 57.1% من SS، 100% من CSMEs) في حين أنه كان ضرورياً في 50% من الحالات (36.7% من ES، 70% من LS، 42.9% من SS) وغير قابل للتحليل في 2.4% من الحالات. وتلقى 59.7 في المائة من المرضى علاجاً جراحياً، 80% منها جراحة محافظة

بالنسبة للمرضى الذين حصلوا على فحص "ت.م.م" (53)، بلغ معدل البقاء على قيد الحياة 94%، ومتوسط البقاء على قيد الحياة 77.402 شهراً (65.558 شهراً إلى 89.245 شهراً مع مجال للثقة بنسبة 95%). لم نتمكن من حساب متوسط البقاء على قيد الحياة باعتبار أن أقل من 50% من هؤلاء المرضى ماتوا في نهاية دراستنا. أما بالنسبة للمرضى الذين لم يحصلوا

على فحص "ت.م.م" (52)، بلغ معدل البقاء على قيد الحياة 83%، ومتوسط البقاء على قيد الحياة 22,231 (59,502) شهراً إلى 96,773 شهراً مع مجال للثقة بنسبة 95%. إن المرضى الذين استفادوا من "ت.م.م" يتمتعون بمعدل أفضل للبقاء على قيد الحياة (Log Rank (Mantel-Cox) = 0.05). كما أن معدل التكرار المحلي للمرض لديهم أقل قليلاً منه لدى أولئك الذين لم يستفيدوا منها (18.9% و21.6% على التوالي،  $p = 0.809$ ). وكذلك معدل انتشار المرض، فهو أقل مرتين من معدله لدى المرضى الذين لم يستفيدوا من "ت.م.م" (15,1% و32% على التوالي،  $p = 0,061$ ).

### خلاصة:

تعتبر تقنية التهجين الموضعي المتألق وسيلة مفيدة لتأكيد تشخيص ساركوما الأنسجة الرخوة ذات الشدود الجيني البسيطة عندما يشتبه بها بشدة استنادا على معايير سريرية وإشعاعية ومورفولوجية وكيميائية مناعية من جهة. وتعتبر ضرورية عندما يكون تشخيص هذه الساركوما غير مؤكد وللتمييز بينها وبين الأورام الحميدة أو الخبيثة التي تشبهها. إن المرضى الذين استفادوا من هذه التقنية في إطار التشخيص أظهروا معدلا عاليا للبقاء على قيد الحياة، كما أظهروا تكراراً موضعياً وانتشاراً أقل للمرض من أولئك الذين لم يستفيدوا منها.

# ANNEXES

## Annexe 1 : classification de l'OMS 2020 des tumeurs du tissu mou :

Catégorie	Tumeur
<u>Les tumeurs adipeuses</u>	
<b>Bénignes</b>	<p>Lipome et lipomatose.                      Lipomatose du nerf.                      Lipoblastome et lipoblastomatose.                      Angiolipome.                      Myolipome des parties molles.                      Lipome chondroïde.                      Lipome à cellules fusiformes ou pléomorphe.                      Tumeur lipomateuse atypique à cellules fusiformes ou pléomorphes.                      Hibernome.</p>
<b>Intermédiaires (Localement agressives)</b>	<p>Tumeur lipomateuse atypique.</p>
<b>Malignes</b>	<p>Liposarcome bien différencié : lipome-like, sclérosant, inflammatoire.                      Liposarcome dédifférencié.                      Liposarcome myxoïde.                      Liposarcome pléomorphe.                      Liposarcome pléomorphe myxoïde.</p>
<u>Les tumeurs fibroblastiques et myofibroblastiques.</u>	
<b>Bénignes</b>	<p>Fasciite nodulaire.                      Fasciite proliférante et myosite proliférante.                      Myosite ossifiante et tumeur fibro-osseuse des doigts.                      Fasciite ischémique.                      Élastofibrome.                      Hamartome fibreux de l'enfant.                      Fibromatose colli .                      Fibromatose juvénile hyaline.                      Fibromatose à corps d'inclusion.                      Fibrome de la gaine des tendons.                      Fibroblastome desmoplastique.                      Myofibroblastome.                      Myofibroblastome de type mammaire.                      Fibrome aponévrotique calcifiant.                      Tumeur fibroblastique EWSR1-SMAD3-positif.                      Angiomyofibroblastome.                      Angiofibrome cellulaire.                      Angiofibrome des parties molles.                      Fibrome de type nuqual.                      Fibromyxome acral.                      Fibrome de Gardner.</p>
<b>Intermédiaires (Localement agressives)</b>	<p>Fibromatose plantaire/palmaire.                      Fibromatose de type desmoïde.                      Lipofibromatose.</p>

<p><b>Intermédiaires</b> (Rarement métastatiques)</p>	<p><b>Fibroblastome à cellules géantes.</b> <b>Dermatofibrosarcome protuberans (DFSP).</b></p> <p>DFSP avec transformation fibrosarcomateuse. Tumeur fibreuse solitaire. Tumeur myofibroblastique inflammatoire. Sarcome myofibroblastique de bas grade. Tumeur fibroblastique superficielle CD34-positif. Sarcome fibroblastique myxo-inflammatoire. Fibrosarcome pédiatrique.</p>
<p><b>Malignes</b></p>	<p>Tumeur fibreuse solitaire malignes. Fibrosarcome des parties molles. Myxofibrosarcome. Sarcome fibromyxoïde de bas grade. Fibrosarcome épithélioïde sclérosant.</p>
<p><u>Les tumeurs dites Fibrohistiocytaires</u></p>	
<p><b>Bénignes</b></p>	<p>Tumeur ténosynoviale à cellules géantes. Histiocytofibrome bénin profond.</p>
<p><b>Intermédiaires</b> (Rarement métastatiques)</p>	<p>Tumeur fibrohistiocytairé plexiforme. Tumeur à cellules géantes des parties molles.</p>
<p><u>Les tumeurs vasculaires</u></p>	
<p><b>Bénignes</b></p>	<p>Hémangiome synovial. Hémangiome intramusculaire. Malformation artérioveineuse/hémangiome. Hémangiome veineux. Hémangiome anastomotique. Hémangiome épithélioïde Angiomatose et lymphangiomatose. Hémangiome tufté acquis.</p>
<p><b>Intermédiaires</b> (Localement agressives)</p>	<p>Hémangioendothéliome kaposiforme. Hémangioendothéliome rétifforme. Angioendothéliome intralymphatique papillaire. Hémangioendothéliome composite. Sarcome de Kaposi. Hémangioendothéliome pseudomyogénique.</p>
<p><b>Malignes</b></p>	<p>Hémangioendothéliome épithélioïde. Angiosarcome.</p>
<p><u>Tumeur péricytiques ou périvasculaires</u></p>	
<p><b>Bénignes et intermédiaires</b></p>	<p>Tumeur glomique des parties molles. Myopéricytome incluant le myofibrome.</p>

	<b>Angioleiomyome.</b>
<b>Malignes</b>	<b>Tumeur glomique maligne.</b>
<u><b>Tumeurs musculaires lisses</b></u>	
<b>Bénignes</b>	<b>Leiomyome</b>
<b>Intermédiaires</b>	<b>Tumeur musculaire lisse à potential incertain de malignité. Tumeur musculaire lisse associée à l'EBV.</b>
<b>Malignes</b>	<b>Léiomyosarcome inflammatoire. Léiomyosarcome.</b>
<u><b>Tumeurs musculaires Squelettiques</b></u>	
<b>Bénignes</b>	<b>Rhabdomyome.</b>
<b>Malignes</b>	<b>Rhabdomyosarcome embryonnaire. Rhabdomyosarcome alvéolaire. Rhabdomyosarcome pléomorphe. Rhabdomyosarcome à cellules fusiformes/ sclérosant. Ectomesenchymome.</b>
<u><b>Tumeurs stromales Gastrointestinales (GIST)</b></u>	
<b>Bénignes</b>	<b>Micro GIST.</b>
<b>Malignes</b>	<b>GIST.</b>
<u><b>Tumeurs chondro-osseuses</b></u>	
<b>Bénignes</b>	<b>Chondrome.</b>
<b>Malignes</b>	<b>Ostéosarcome extra-squelettique.</b>
<u><b>Tumeurs des gaines des Nerfs périphériques</b></u>	
<b>Bénignes</b>	<b>Schwannome. Neurofibrome. Perineuriome. Tumeur à cellules granuleuses. Myxome des gaines nerveuses. Neurome solitaire circonscrit. Meningiome. Tumeurs hybrides des gaines nerveuses.</b>
<b>Malignes</b>	<b>Tumeur maligne des gaines des nerfs périphériques (MPNST). Tumeur mélanocytaire maligne des gaines des nerfs périphériques. Tumeur à cellules granuleuses maligne. Perineuriome malin.</b>

<p><b>Tumeurs de différenciation Incertaine</b></p>	
<p><b>Bénignes</b></p>	<p>Myxome (myxome cellulaire)                  Angiomyxome profond (aggressive)                  Tumeur angiectatique hyalinisante pléomorphe.                  Tumeur mésoenchymale phosphaturique.                  Tumeur épithélioïde périvasculaire bénigne.                  Angiomyolipome.</p>
<p><b>Intermédiaires (Localement agressives)</b></p>	<p>Tumeur fibrolipomateuse hémosidérotique.                  Angiomyolipome épithélioïde.</p>
<p><b>Intermédiaires (Rarement métastatiques)</b></p>	<p>Fibroxsanthome atypique.                  Histiocytome fibreux angiomatoïde.                  Tumeur fibromyxoïde ossifiante.                  Myoépithéliome.</p>
<p><b>Malignes</b></p>	<p>Tumeur mésoenchymale phosphaturique maligne.                  Tumeur à cellules fusiformes avec réarrangement NTRK.                  Synoviosarcome.                  Sarcome épithélioïde proximal et classique.                  Sarcome alvéolaire des parties molles.                  Sarcome à cellules claires.                  Chondrosarcome myxoïde extra-squelettique.                  Tumeur desmoplastique à cellules rondes.                  Tumeur rhabdoïde extrarénale.                  Tumeur épithélioïde périvasculaire maligne.                  Sarcome intimal.                  Tumeur fibromyxoïde ossifiante maligne.                  Carcinome myoépithélial.                  Sarcome indifférencié.                  Sarcome indifférencié à cellules fusiformes.                  Sarcome indifférencié à cellules pléomorphes.                  Sarcome indifférencié à cellules rondes.</p>
<p><b>Les sarcomes indifférenciés à cellules rondes de l'os et des parties molles</b></p>	<p>Sarcome d'Ewing.                  Sarcome à cellules rondes avec la fusion EWSR1- non ETS.                  Sarcome avec réarrangement du gène CIC.                  Sarcome avec des altérations génétiques du gène BCOR.</p>

## Annexe 2 : La fiche d'exploitation :

**Le thème : L'apport de la FISH dans le diagnostic des sarcomes des tissus mous des extrémités**

**(À propos de 134 cas)**

### **Les paramètres démographiques :**

L'IP :

Le numéro anatomopathologique :

Le sexe : F  M

L'âge :

### **Les paramètres cliniques :**

#### **Le siège de la tumeur :**

##### **Le membre supérieur :**

L'épaule  Le bras  L'avant-bras  La main

##### **Le membre inférieur :**

La fesse  La cuisse  Le creux poplité

La jambe  La cheville  Le pied

#### **La profondeur de la tumeur :**

La tumeur est profonde

La tumeur est superficielle

#### **La taille de la tumeur :**

La taille > ou égale à 10 cm

La taille < 10 cm

### **Les paramètres anatomopathologiques :**

#### **Le type du prélèvement :**

Une biopsie préalable : Oui  Non

Biopsie : Chirurgicale  Radioguidée

Chirurgie : Conservatrice  Amputation

La morphologie cellulaire :

Cellules rondes  Cellules fusiformes  Cellules pléomorphes

Cellules adipeuses  Cellules fusiformes et épithéliales

Cellules adipeuses et rondes

L'étude d'IHC :

Etude faite

Etude non faite

Le grade histopronostique de la FNLCC :

Grade 1

Grade 2

Grade 3

Le type et le sous-type histologique :

Le sarcome d'Ewing  Le liposarcome bien différencié  le liposarcome dédifférencié

Le liposarcome myxoïde

Le synoviosarcome

La certitude diagnostique sur morphologie standard :

Le diagnostic est probable

Le diagnostic est possible

L'examen de la FISH :

La réalisation de la FISH ou non :

La FISH est faite :

La FISH n'est pas faite :

Le type du fixateur : Formol

Le type de sonde utilisé :

EWS

SS18

MDM2

EWS ET SS18

MDM2 ET SS18

Le résultat :

Positif

Négatif

Le sous type moléculaire (à préciser) :

**Les paramètres évolutifs :**

**La survie :**

La date du diagnostic  La date de la dernière vue

Le patient est vivant  Le patient est décédé

**La récurrence locale :**

Présence de la récurrence locale  Absence de la récurrence locale

Intervalle en mois entre diagnostic et récurrence locale

**La métastase :**

Présence de la métastase  Absence de la métastase

Intervalle en mois entre diagnostic et métastase

# REFERENCES

- [1].Burningham Z, Hashibe M, Spector L, Schiffman JD. The epidemiology of sarcoma. Clin Sarcoma Res. 4 oct 2012;2(1):14.
- [2].NcA, Agence technique de l'information sur l'Hospitalisation (ATIH), Francim, Institut de veille sanitaire (InVS), l'Association pour la recherche sur le cancer (ARC), la Ligne nationale contre le cancer, et al. La situation du cancer en France en 2010 collection rapports et synthèses. Boulogne-Billancourt : Ouvrage collectif édité par l'INCa ;2010 : 193-5.
- [3].Sbaraglia M, Bellan E, Dei Tos AP. The 2020 WHO Classification of Soft Tissue Tumours: news and perspectives. Pathologica. avr 2021;113(2):70-84.
- [4].Guseva NV, Tanas MR, Stence AA, Sompallae R, Schade JC, Bossler AD, et al. The NAB2-STAT6 gene fusion in solitary fibrous tumor can be reliably detected by anchored multiplexed PCR for targeted next-generation sequencing. Cancer Genet. août 2016;209(7-8):303-12.
- [5].Mertens F, Antonescu CR, Hohenberger P, Ladanyi M, Modena P, D'Incalci M, et al. Translocation-Related Sarcomas. Seminars in Oncology. 1 août 2009;36(4):312-23.
- [6].Aurias A, Rimbaut C, Buffe D, Dubousset J, Mazabraud A. [Translocation of chromosome 22 in Ewing's sarcoma]. C R Seances Acad Sci III. 1983;296(23):1105-7.
- [7].Turc-Carel C, Philip I, Berger MP, Philip T, Lenoir G. [Chromosomal translocation (11; 22) in cell lines of Ewing's sarcoma]. C R Seances Acad Sci III. 1983;296(23):1101-3.
- [8].Mazti A. Intérêt de l'hybridation in situ par fluorescence et de la réunion de concertation pluridisciplinaire dans la prise en charge des sarcomes des parties molles des extrémités. Thèse de médecine. Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès ;2020;123p.

- [9].Riggi N, Cironi L, Suvà M-L, Stamenkovic I. Sarcomas: genetics, signalling, and cellular origins. Part 1: The fellowship of TET. *J Pathol.* sept 2007;213(1):4-20.
- [10].Suvà M-L, Cironi L, Riggi N, Stamenkovic I. Sarcomas: genetics, signalling, and cellular origins. Part 2: TET-independent fusion proteins and receptor tyrosine kinase mutations. *J Pathol.* oct 2007;213(2):117-30.
- [11].Coindre J-M. [Molecular biology of soft-tissue sarcomas]. *Bull Cancer.* nov 2010;97(11):1337-45.
- [12].Coindre J-M, Pédeutour F, Aurias A. Well-differentiated and dedifferentiated liposarcomas. *Virchows Arch.* févr 2010;456(2):167-79.
- [13].Mariani O, Brennetot C, Coindre J-M, Gruel N, Ganem C, Delattre O, et al. JUN oncogene amplification and overexpression block adipocytic differentiation in highly aggressive sarcomas. *Cancer Cell.* avr 2007;11(4):361-74.
- [14].Nakayama R, Miura Y, Ogino J, Susa M, Watanabe I, Horiuchi K, et al. Detection of HEY1-NCOA2 fusion by fluorescence in-situ hybridization in formalin-fixed paraffin-embedded tissues as a possible diagnostic tool for mesenchymal chondrosarcoma. *Pathol Int.* déc 2012;62(12):823-6.
- [15].Dufresne A, Cassier P, Heudel P, Pissaloux D, Wang Q, Blay J-Y, et al. Biologie moléculaire des sarcomes et choix thérapeutiques. *Bulletin du Cancer.* 1 janv 2015;102(1):6-16.
- [16].Guillou L, Aurias A. Soft tissue sarcomas with complex genomic profiles. *Virchows Arch.* févr 2010;456(2):201-17.
- [17].D. Huber, L. Voith von Voithenberg, G.V. Kaigala. Fluorescence in situ hybridization (FISH): History, limitations and what to expect from micro-scale FISH?. *Micro and Nano Engineering.* 2018 ; 1:15-24.
- [18].Oliveira AM, French CA. Applications of fluorescence in situ hybridization in cytopathology: a review. *Acta Cytol.* déc 2005;49(6):587-94.
- [19].Feinberg AP, Vogelstein B. A technique for radiolabeling DNA restriction endonuclease fragments to high specific activity. *Anal Biochem.* 1 juill 1983;132(1):6-13.

- [20]. Lichter P, Ward DC. Is non-isotopic in situ hybridization finally coming of age? *Nature*. 3 mai 1990;345(6270):93-4.
- [21]. Abati A, Sanford JS, Fetsch P, Marincola FM, Wolman SR. Fluorescence in situ hybridization (FISH): a user's guide to optimal preparation of cytologic specimens. *Diagn Cytopathol*. déc 1995;13(5):486-92.
- [22]. Bull JH, Harnden P. Efficient nuclear FISH on paraffin-embedded tissue sections using microwave pretreatment. *Biotechniques*. mars 1999;26(3):416-8, 422.
- [23]. Bayani J, Squire JA. Fluorescence in situ Hybridization (FISH). *Curr Protoc Cell Biol*. sept 2004;Chapter 22:Unit 22.4.
- [24]. Alamri A, Nam JY, Blancato JK. Fluorescence In Situ Hybridization of Cells, Chromosomes, and Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissues. *Methods Mol Biol*. 2017;1606:265-79.
- [25]. Sugita S, Hasegawa T. Practical use and utility of fluorescence in situ hybridization in the pathological diagnosis of soft tissue and bone tumors. *J Orthop Sci*. juill 2017;22(4):601-12.
- [26]. Miura Y, Keira Y, Ogino J, Nakanishi K, Noguchi H, Inoue T, et al. Detection of specific genetic abnormalities by fluorescence in situ hybridization in soft tissue tumors. *Pathol Int*. janv 2012;62(1):16-27.
- [27]. Noguchi H, Mitsuhashi T, Seki K, Tochigi N, Tsuji M, Shimoda T, et al. Fluorescence in situ hybridization analysis of extraskeletal myxoid chondrosarcomas using EWSR1 and NR4A3 probes. *Hum Pathol*. mars 2010;41(3):336-42.
- [28]. Machado I, Noguera R, Pellin A, Lopez-Guerrero JA, Piqueras M, Navarro S, et al. Molecular diagnosis of Ewing sarcoma family of tumors: a comparative analysis of 560 cases with FISH and RT-PCR. *Diagn Mol Pathol*. déc 2009;18(4):189-99.
- [29]. Demicco EG. Molecular updates in adipocytic neoplasms☆. *Semin Diagn Pathol*. mars 2019;36(2):85-94.

- [30]. Athale UH, Shurtleff SA, Jenkins JJ, Poquette CA, Tan M, Downing JR, et al. Use of reverse transcriptase polymerase chain reaction for diagnosis and staging of alveolar rhabdomyosarcoma, Ewing sarcoma family of tumors, and desmoplastic small round cell tumor. *J Pediatr Hematol Oncol.* févr 2001;23(2):99-104. 15\_suppl):11014-11014.
- [31]. Coindre JM, Terrier P, Bui NB, Bonichon F, Collin F, Le Doussal V, et al. Prognostic factors in adult patients with locally controlled soft tissue sarcoma. A study of 546 patients from the French Federation of Cancer Centers Sarcoma Group. *J Clin Oncol.* mars 1996;14(3):869-77.
- [32]. P W Pisters, D H Leung, J Woodruff, W Shi, M F Brennan. Analysis of prognostic factors in 1,041 patients with localized soft tissue sarcomas of the extremities. *J Clin Oncol.* 1996;14(5):1679-1689
- [33]. Guillou L, Coindre JM, Bonichon F, Nguyen BB, Terrier P, Collin F, et al. Comparative study of the National Cancer Institute and French Federation of Cancer Centers Sarcoma Group grading systems in a population of 410 adult patients with soft tissue sarcoma. *J Clin Oncol.* janv 1997;15(1):350-62.
- [34]. Trojani M, Contesso G, Coindre JM, Rouesse J, Bui NB, de Mascarel A, et al. Soft-tissue sarcomas of adults; study of pathological prognostic variables and definition of a histopathological grading system. *Int J Cancer.* 15 janv 1984;33(1):37-42.
- [35]. Coindre J-M, Terrier P, Guillou L, Le Doussal V, Collin F, Ranchère D, et al. Predictive value of grade for metastasis development in the main histologic types of adult soft tissue sarcomas. *Cancer.* 2001;91(10):1914-26
- [36]. Tanaka K, Ozaki T. New TNM classification (AJCC eighth edition) of bone and soft tissue sarcomas: JCOG Bone and Soft Tissue Tumor Study Group. *Jpn J Clin Oncol.* 1 févr 2019;49(2):103-7.

- [37]. Stoeckle E, Gardet H, Coindre J-M, Kantor G, Bonichon F, Milbéo Y, et al. Prospective evaluation of quality of surgery in soft tissue sarcoma. *Eur J Surg Oncol.* déc 2006;32(10):1242-8.
- [38]. Gimeno M, San Julián M, Cambeiro M, Arbea L, Jablonska P, Moreno-Jiménez M, et al. Long-term results of Perioperative High Dose Rate Brachytherapy (PHDRB) and external beam radiation in adult patients with soft tissue sarcomas of the extremities and the superficial trunk: Final results of a prospective controlled study. *Radiother Oncol.* juin 2019;135:91-9.
- [39]. Gronchi A, Casali PG, Mariani L, Miceli R, Fiore M, Lo Vullo S, et al. Status of surgical margins and prognosis in adult soft tissue sarcomas of the extremities: a series of patients treated at a single institution. *J Clin Oncol.* 1 janv 2005;23(1):96-104.
- [40]. Kelly KM, Womer RB, Sorensen PH, Xiong QB, Barr FG. Common and variant gene fusions predict distinct clinical phenotypes in rhabdomyosarcoma. *J Clin Oncol.* mai 1997;15(5):1831-6.
- [41]. Le Loarer F, Pissaloux D, Watson S, Godfraind C, Galmiche-Rolland L, Silva K, et al. Clinicopathologic Features of CIC-NUTM1 Sarcomas, a New Molecular Variant of the Family of CIC-Fused Sarcomas. *Am J Surg Pathol.* févr 2019;43(2):268-76.
- [42]. Huang H-Y, Illei PB, Zhao Z, Mazumdar M, Huvos AG, Healey JH, et al. Ewing sarcomas with p53 mutation or p16/p14ARF homozygous deletion: a highly lethal subset associated with poor chemoresponse. *J Clin Oncol.* 20 janv 2005;23(3):548-58.
- [43]. Schaefer I-M, Hornick JL, Barysaukas CM, Raut CP, Patel SA, Royce TJ, et al. Histologic Appearance After Preoperative Radiation Therapy for Soft Tissue Sarcoma: Assessment of the European Organization for Research and Treatment of Cancer-Soft Tissue and Bone Sarcoma Group Response Score. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1 juin 2017;98(2):375-83.

- [44]. Cousin S, Crombe A, Stoeckle E, Brouste V, Le Loarer F, Lucchesi C, et al. Clinical, radiological and genetic features, associated with the histopathologic response to neoadjuvant chemotherapy (NAC) and outcomes in locally advanced soft tissue sarcoma (STS) patients (pts). *JCO*. 20 mai 2017;35.
- [45]. Neuville A, Ranchère-Vince D, Dei Tos AP, Montesco MC, Hostein I, Toffolatti L, et al. Impact of molecular analysis on the final sarcoma diagnosis: a study on 763 cases collected during a European epidemiological study. *Am J Surg Pathol*. août 2013;37(8):1259-68.
- [46]. Outil statistique pour l'évaluation d'une valeur prédictive d'un test de diagnostic [Internet]. [cité 26 janv 2022]. Disponible sur: [https://www.aly-abbara.com/utilitaires/statistiques/sensibilite\\_specificite\\_vpp\\_vpn.html](https://www.aly-abbara.com/utilitaires/statistiques/sensibilite_specificite_vpp_vpn.html)
- [47]. Mocellin S. *Soft Tissue Tumors: A Practical and Comprehensive Guide to Sarcomas and Benign Neoplasms*. Springer Nature; 2020. 718 p.
- [48]. Fisher C. Immunohistochemistry in diagnosis of soft tissue tumours. *Histopathology*. juin 2011;58(7):1001-12.
- [49]. Folpe AL, Hill CE, Parham DM, O'Shea PA, Weiss SW. Immunohistochemical detection of FLI-1 protein expression: a study of 132 round cell tumors with emphasis on CD99-positive mimics of Ewing's sarcoma/primitive neuroectodermal tumor. *Am J Surg Pathol*. déc 2000;24(12):1657-62.
- [50]. Vural C, Uluoğlu O, Akyürek N, Oğuz A, Karadeniz C. The evaluation of CD99 immunoreactivity and EWS/FLI1 translocation by fluorescence in situ hybridization in central PNETs and Ewing's sarcoma family of tumors. *Pathol Oncol Res*. sept 2011;17(3):619-25.
- [51]. Granter SR, Renshaw AA, Fletcher CD, Bhan AK, Rosenberg AE. CD99 reactivity in mesenchymal chondrosarcoma. *Hum Pathol*. déc 1996;27(12):1273-6.
- [52]. Thway K, Fisher C. Synovial sarcoma: defining features and diagnostic evolution. *Ann Diagn Pathol*. déc 2014;18(6):369-80.

- [53]. Clay MR, Martinez AP, Weiss SW, Edgar MA. MDM2 and CDK4 Immunohistochemistry: Should It Be Used in Problematic Differentiated Lipomatous Tumors?: A New Perspective. *Am J Surg Pathol.* déc 2016;40(12):1647-52.
- [54]. Dei Tos AP. Liposarcomas: diagnostic pitfalls and new insights. *Histopathology.* janv 2014;64(1):38-52.
- [55]. Aleixo PB, Hartmann AA, Menezes IC, Meurer RT, Oliveira AM. Can MDM2 and CDK4 make the diagnosis of well differentiated/dedifferentiated liposarcoma? An immunohistochemical study on 129 soft tissue tumours. *J Clin Pathol.* déc 2009;62(12):1127-35.
- [56]. Neuville A, Coindre J-M, Chibon F. [Molecular biology for sarcoma: useful or necessary?]. *Ann Pathol.* janv 2015;35(1):107-13.
- [57]. Schaefer I-M, Cote GM, Hornick JL. Contemporary Sarcoma Diagnosis, Genetics, and Genomics. *J Clin Oncol.* 10 janv 2018;36(2):101-10.
- [58]. Turc-Carel C, Philip I, Berger MP, Philip T, Lenoir G. [Chromosomal translocation (11; 22) in cell lines of Ewing's sarcoma]. *C R Seances Acad Sci III.* 1983;296(23):1101-3.
- [59]. Chmielecki J, Crago AM, Rosenberg M, O'Connor R, Walker SR, Ambrogio L, et al. Whole-exome sequencing identifies a recurrent NAB2-STAT6 fusion in solitary fibrous tumors. *Nat Genet.* févr 2013;45(2):131-2.
- [60]. Pierron G, Tirode F, Lucchesi C, Reynaud S, Ballet S, Cohen-Gogo S, et al. A new subtype of bone sarcoma defined by BCOR-CCNB3 gene fusion. *Nat Genet.* 4 mars 2012;44(4):461-6.
- [61]. Sugita S, Arai Y, Tonooka A, Hama N, Totoki Y, Fujii T, et al. A novel CIC-FOXO4 gene fusion in undifferentiated small round cell sarcoma: a genetically distinct variant of Ewing-like sarcoma. *Am J Surg Pathol.* nov 2014;38(11):1571-6.

- [62]. Walther C, Tayebwa J, Lilljebjörn H, Magnusson L, Nilsson J, von Steyern FV, et al. A novel SERPINE1–FOSB fusion gene results in transcriptional up–regulation of FOSB in pseudomyogenic haemangioendothelioma. *J Pathol.* avr 2014;232(5):534-40.
- [63]. Bode–Lesniewska B, Frigerio S, Exner U, Abdou MT, Moch H, Zimmermann DR. Relevance of translocation type in myxoid liposarcoma and identification of a novel EWSR1–DDIT3 fusion. *Genes Chromosomes Cancer.* nov 2007;46(11):961-71.
- [64]. Somaiah N, Beird HC, Barbo A, Song J, Mills Shaw KR, Wang W–L, et al. Targeted next generation sequencing of well–differentiated/dedifferentiated liposarcoma reveals novel gene amplifications and mutations. *Oncotarget.* 13 avr 2018;9(28):19891-9.
- [65]. Collignon C, Brisse HJ, Lemelle L, Cardoen L, Gauthier A, Pierron G, et al. Stratégie diagnostique des sarcomes des tissus mous de l'enfant et adolescent. *Bulletin du Cancer.* 1 oct 2020;107(10):963-71.
- [66]. Italiano A, Di Mauro I, Rapp J, Pierron G, Auger N, Alberti L, et al. Clinical effect of molecular methods in sarcoma diagnosis (GENSARC): a prospective, multicentre, observational study. *Lancet Oncol.* avr 2016;17(4):532-8.
- [67]. Organization WH, Cancer IA for R on. Pathology and Genetics of Tumours of Soft Tissue and Bone. IARC; 2002. 416 p.
- [68]. Fletcher CDM. The evolving classification of soft tissue tumours – an update based on the new 2013 WHO classification. *Histopathology.* janv 2014;64(1):2-11.
- [69]. Narendra S, Valente A, Tull J, Zhang S. DDIT3 gene break–apart as a molecular marker for diagnosis of myxoid liposarcoma--assay validation and clinical experience. *Diagn Mol Pathol.* déc 2011;20(4):218-24.

- [70]. Downs–Kelly E, Shehata BM, López–Terrada D, Weaver J, Patel RM, Hartke M, et al. The utility of FOXO1 fluorescence in situ hybridization (FISH) in formalin–fixed paraffin–embedded specimens in the diagnosis of alveolar rhabdomyosarcoma. *Diagn Mol Pathol.* sept 2009;18(3):138-43.
- [71]. Murthy SS, Gundimeda SD, Challa S, Manjula V, Fonseca D, Rao VB, et al. FISH for EWSR1 in Ewing’s sarcoma family of tumors: Experience from a tertiary care cancer center. *Indian J Pathol Microbiol.* mars 2021;64(1):96-101.
- [72]. Yang P, Hirose T, Hasegawa T, Hizawa K, Sano T. Dual–colour fluorescence in situ hybridization analysis of synovial sarcoma. *J Pathol.* janv 1998;184(1):7-13.
- [73]. Horn H, Allmanritter J, Doglioni C, Marx A, Müller J, Gattenlöhner S, et al. Fluorescence in situ analysis of soft tissue tumor associated genetic alterations in formalin–fixed paraffin–embedded tissue. *Pathol Res Pract.* déc 2014;210(12):804-11.
- [74]. Downs–Kelly E, Goldblum JR, Patel RM, Weiss SW, Folpe AL, Mertens F, et al. The utility of fluorescence in situ hybridization (FISH) in the diagnosis of myxoid soft tissue neoplasms. *Am J Surg Pathol.* janv 2008;32(1):8-13.
- [75]. Tanas MR, Goldblum JR. Fluorescence in situ hybridization in the diagnosis of soft tissue neoplasms: a review. *Adv Anat Pathol.* nov 2009;16(6):383-91.
- [76]. Vargas AC, Selinger C, Satgunaseelan L, Cooper WA, Gupta R, Stalley P, et al. FISH analysis of selected soft tissue tumors: Diagnostic experience in a tertiary center. *Asia Pac J Clin Oncol.* févr 2019;15(1):38-47.
- [77]. Vroobel K, Gonzalez D, Wren D, Thompson L, Swansbury J, Fisher C, et al. Ancillary molecular analysis in the diagnosis of soft tissue tumours: reassessment of its utility at a specialist centre. *J Clin Pathol.* juin 2016;69(6):505-10.
- [78]. Strauss DC, Qureshi YA, Hayes AJ, Thway K, Fisher C, Thomas JM. The role of core needle biopsy in the diagnosis of suspected soft tissue tumours. *J Surg Oncol.* 1 oct 2010;102(5):523-9.

- [79]. Bui MM, Pantanowitz L. *Modern Techniques in Cytopathology*. Karger Medical and Scientific Publishers; 2020. 120 p.
- [80]. Machado I, Noguera R, Pellin A, Lopez-Guerrero JA, Piqueras M, Navarro S, et al. Molecular diagnosis of Ewing sarcoma family of tumors: a comparative analysis of 560 cases with FISH and RT-PCR. *Diagn Mol Pathol*. déc 2009;18(4):189-99.
- [81]. Rekhi B, Vogel U, Basak R, Desai SB, Jambhekar NA. Clinicopathological and molecular spectrum of ewing sarcomas/PNETs, including validation of EWSR1 rearrangement by conventional and array FISH technique in certain cases. *Pathol Oncol Res*. juill 2014;20(3):503-16.
- [82]. Asif A, Mushtaq S, Hassan U, Akhtar N, Hussain M, Azam M, et al. Fluorescence in Situ Hybridization (FISH) for Differential Diagnosis of Soft Tissue Sarcomas. *Asian Pac J Cancer Prev*. 27 mars 2018;19(3):655-60.
- [83]. Bridge RS, Rajaram V, Dehner LP, Pfeifer JD, Perry A. Molecular diagnosis of Ewing sarcoma/primitive neuroectodermal tumor in routinely processed tissue: a comparison of two FISH strategies and RT-PCR in malignant round cell tumors. *Mod Pathol*. janv 2006;19(1):1-8.
- [84]. Liu B, Yang Y, Du J, Zhang Y, Wang H, Zheng J. [Application of the in situ hybridization with EWS dual-color break-apart fluorescence probe and anti-CD99 and anti-FLI-1 antibodies in the diagnosis of Ewing's sarcoma/primitive neuroectodermal tumor]. *Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 18 août 2008;40(4):358-62.
- [85]. Machado I, Navarro L, Pellin A, Navarro S, Agaimy A, Tardío JC, et al. Defining Ewing and Ewing-like small round cell tumors (SRCT): The need for molecular techniques in their categorization and differential diagnosis. A study of 200 cases. *Ann Diagn Pathol*. juin 2016;22:25-32.

- [86]. Machado I, Yoshida A, Morales MGN, Abrahão-Machado LF, Navarro S, Cruz J, et al. Review with novel markers facilitates precise categorization of 41 cases of diagnostically challenging, « undifferentiated small round cell tumors ». A clinicopathologic, immunophenotypic and molecular analysis. *Ann Diagn Pathol.* juin 2018;34:1-12.
- [87]. Le Loarer F, Pissaloux D, Coindre JM, Tirode F, Vince DR. Update on Families of Round Cell Sarcomas Other than Classical Ewing Sarcomas. *Surg Pathol Clin.* sept 2017;10(3):587-620.
- [88]. Thway K, Fisher C. Mesenchymal Tumors with EWSR1 Gene Rearrangements. *Surg Pathol Clin.* mars 2019;12(1):165-90.
- [89]. Yamaguchi U, Hasegawa T, Morimoto Y, Tateishi U, Endo M, Nakatani F, et al. A practical approach to the clinical diagnosis of Ewing's sarcoma/primitive neuroectodermal tumour and other small round cell tumours sharing EWS rearrangement using new fluorescence in situ hybridisation probes for EWSR1 on formalin fixed, paraffin wax embedded tissue. *J Clin Pathol.* oct 2005;58(10):1051-6.
- [90]. Kumar S, Pack S, Kumar D, Walker R, Quezado M, Zhuang Z, et al. Detection of EWS-FLI-1 fusion in Ewing's sarcoma/peripheral primitive neuroectodermal tumor by fluorescence in situ hybridization using formalin-fixed paraffin-embedded tissue. *Hum Pathol.* mars 1999;30(3):324-30.
- [91]. Yang Y, Wang H, Wei Y, Zhang Y, Ma X, Yang X, et al. [Application of fluorescence in-situ hybridization and reverse transcription-polymerase chain reaction in molecular diagnosis of Ewing's sarcoma and primitive neuroectodermal tumor]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.* juin 2006;35(6):328-32.
- [92]. Qian X, Jin L, Shearer BM, Ketterling RP, Jalal SM, Lloyd RV. Molecular diagnosis of Ewing's sarcoma/primitive neuroectodermal tumor in formalin-fixed paraffin-embedded tissues by RT-PCR and fluorescence in situ hybridization. *Diagn Mol Pathol.* mars 2005;14(1):23-8.

- [93]. Sugita S, Hasegawa T. Practical use and utility of fluorescence in situ hybridization in the pathological diagnosis of soft tissue and bone tumors. *J Orthop Sci.* juill 2017;22(4):601-12.
- [94]. Vargas AC, Selinger CI, Satgunaseelan L, Cooper WA, Gupta R, Stalley P, et al. Atypical Ewing sarcoma breakpoint region 1 fluorescence in-situ hybridization signal patterns in bone and soft tissue tumours: diagnostic experience with 135 cases. *Histopathology.* déc 2016;69(6):1000-11.
- [95]. Sun B, Sun Y, Wang J, Zhao X, Zhang S, Liu Y, et al. The diagnostic value of SYT-SSX detected by reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) and fluorescence in situ hybridization (FISH) for synovial sarcoma: A review and prospective study of 255 cases. *Cancer Science.* 2008;99(7):1355-61.
- [96]. Terry J, Barry TS, Horsman DE, Hsu FD, Gown AM, Huntsman DG, et al. Fluorescence in situ hybridization for the detection of t(X;18)(p11.2;q11.2) in a synovial sarcoma tissue microarray using a breakapart-style probe. *Diagn Mol Pathol.* juin 2005;14(2):77-82.
- [97]. Ten Heuvel SE, Hoekstra HJ, Suurmeijer AJH. Diagnostic accuracy of FISH and RT-PCR in 50 routinely processed synovial sarcomas. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* mai 2008;16(3):246-50.
- [98]. Safaei A, Jansar E, Monabati A, Mokhtari M, Montazer M. SS18-SSX Rearrangement in Synovial Sarcoma Using Fluorescent in Situ Hybridization: A Report from an Iranian Population and Literature Review. *Middle East Journal of Cancer.* 1 oct 2020;11(4):476-82.
- [99]. Thway K, Fisher C. Synovial sarcoma: defining features and diagnostic evolution. *Ann Diagn Pathol.* déc 2014;18(6):369-80.
- [100]. El Beaino M, Araujo DM, Lazar AJ, Lin PP. Synovial Sarcoma: Advances in Diagnosis and Treatment Identification of New Biologic Targets to Improve Multimodal Therapy. *Ann Surg Oncol.* août 2017;24(8):2145-54.

- [101].van de Rijn M, Barr FG, Collins MH, Xiong QB, Fisher C. Absence of SYT-SSX fusion products in soft tissue tumors other than synovial sarcoma. *Am J Clin Pathol.* juill 1999;112(1):43-9.
- [102].Coindre J-M, Pelmus M, Hostein I, Lussan C, Bui BN, Guillou L. Should molecular testing be required for diagnosing synovial sarcoma? A prospective study of 204 cases. *Cancer.* 15 déc 2003;98(12):2700-7.
- [103].Neuville A, Ranchère-Vince D, Dei Tos AP, Montesco MC, Hostein I, Toffolatti L, et al. Impact of molecular analysis on the final sarcoma diagnosis: a study on 763 cases collected during a European epidemiological study. *Am J Surg Pathol.* août 2013;37(8):1259-68.
- [104].Zhang H, Erickson-Johnson M, Wang X, Oliveira JL, Nascimento AG, Sim FH, et al. Molecular testing for lipomatous tumors: critical analysis and test recommendations based on the analysis of 405 extremity-based tumors. *Am J Surg Pathol.* sept 2010;34(9):1304-11.
- [105].Kashima T, Halai D, Ye H, Hing SN, Delaney D, Pollock R, et al. Sensitivity of MDM2 amplification and unexpected multiple faint alphoid 12 (alpha 12 satellite sequences) signals in atypical lipomatous tumor. *Mod Pathol.* oct 2012;25(10):1384-96.
- [106].Sirvent N, Coindre J-M, Maire G, Hostein I, Keslair F, Guillou L, et al. Detection of MDM2-CDK4 amplification by fluorescence in situ hybridization in 200 paraffin-embedded tumor samples: utility in diagnosing adipocytic lesions and comparison with immunohistochemistry and real-time PCR. *Am J Surg Pathol.* oct 2007;31(10):1476-89.
- [107].Kimura H, Dobashi Y, Nojima T, Nakamura H, Yamamoto N, Tsuchiya H, et al. Utility of fluorescence in situ hybridization to detect MDM2 amplification in liposarcomas and their morphological mimics. *Int J Clin Exp Pathol.*

- [108].Thway K, Wang J, Swansbury J, Min T, Fisher C. Fluorescence In Situ Hybridization for MDM2 Amplification as a Routine Ancillary Diagnostic Tool for Suspected Well-Differentiated and Dedifferentiated Liposarcomas: Experience at a Tertiary Center. *Sarcoma*. 2015;2015:812089.
- [109].Cho J, Lee SE, Choi Y-L. Diagnostic Value of MDM2 and DDIT3 Fluorescence In Situ Hybridization in Liposarcoma Classification: A Single-Institution Experience. *Korean J Pathol*. avr 2012;46(2):115-22.
- [110].Chrisinger JSA. Update on Lipomatous Tumors with Emphasis on Emerging Entities, Unusual Anatomic Sites, and Variant Histologic Patterns. *Surg Pathol Clin*. mars 2019;12(1):21-33.
- [111].Choi K-Y, Jost E, Mack L, Bouchard-Fortier A. Surgical management of truncal and extremities atypical lipomatous tumors/well-differentiated liposarcoma: A systematic review of the literature. *Am J Surg*. mai 2020;219(5):823-7.
- [112].Anderson WJ, Jo VY. Pleomorphic liposarcoma: Updates and current differential diagnosis. *Semin Diagn Pathol*. mars 2019;36(2):122-8.
- [113].Bartlett EK, Curtin CE, Seier K, Qin L-X, Hameed M, Yoon SS, et al. Histologic Subtype Defines the Risk and Kinetics of Recurrence and Death for Primary Extremity/Truncal Liposarcoma. *Ann Surg*. 1 juin 2021;273(6):1189-96.
- [114].Lokka S, Scheel AH, Dango S, Schmitz K, Hesterberg R, Rüschoff J, et al. Challenging dedifferentiated liposarcoma identified by MDM2-amplification, a report of two cases. *BMC Clin Pathol*. 2014;14:36.
- [115].Yao X, Ghert M, Dickson BC, Popovic S, Purgina BM, Verma S, et al. An evidence-based guideline on the application of molecular testing in the diagnosis, prediction of prognosis, and selection of therapy in non-GIST soft tissue sarcomas. *Cancer Treat Rev*. avr 2020;85:101987.
- [116].Al-Maghraby HQ, Khalbuss WE, Rao UNM, Cieply K, Dacic S, Monaco SE. Fine needle aspiration biopsy diagnosis of dedifferentiated liposarcoma: Cytomorphology and MDM2 amplification by FISH. *Cytojournal*. 6 avr 2010;7:5.

- [117].de Alava E. Ewing Sarcoma, an Update on Molecular Pathology with Therapeutic Implications. *Surg Pathol Clin.* sept 2017;10(3):575-85.
- [118].Galyfos G, Karantzikos GA, Kavouras N, Sianou A, Palogos K, Filis K. Extraosseous Ewing Sarcoma: Diagnosis, Prognosis and Optimal Management. *Indian J Surg.* févr 2016;78(1):49-53.
- [119].Biswas B, Bakhshi S. Management of Ewing sarcoma family of tumors: Current scenario and unmet need. *World J Orthop.* 18 sept 2016;7(9):527-38.
- [120].Liang Y, Guo T, Hong D, Xiao W, Zhou Z, Zhang X. Time to Local Recurrence as a Predictor of Survival in Patients With Soft Tissue Sarcoma of the Extremity and Abdominothoracic Wall. *Front Oncol.* 2020;10:599097.
- [121].Tsuda Y, Zhang L, Meyers P, Tap WD, Healey JH, Antonescu CR. The clinical heterogeneity of round cell sarcomas with EWSR1/FUS gene fusions: Impact of gene fusion type on clinical features and outcome. *Genes Chromosomes Cancer.* sept 2020;59(9):525-34.
- [122].de Alava E, Kawai A, Healey JH, Fligman I, Meyers PA, Huvos AG, et al. EWS-FLI1 fusion transcript structure is an independent determinant of prognosis in Ewing's sarcoma. *J Clin Oncol.* avr 1998;16(4):1248-55
- [123].Novais EN, Demiralp B, Alderete J, Larson MC, Rose PS, Sim FH. Do surgical margin and local recurrence influence survival in soft tissue sarcomas? *Clin Orthop Relat Res.* nov 2010;468(11):3003-11.
- [124].Novais EN, Demiralp B, Alderete J, Larson MC, Rose PS, Sim FH. Do surgical margin and local recurrence influence survival in soft tissue sarcomas? *Clin Orthop Relat Res.* nov 2010;468(11):3003-11.
- [125].Ezuddin NS, Pretell-Mazzini J, Yechieli RL, Kerr DA, Wilky BA, Subhawong TK. Local recurrence of soft-tissue sarcoma: issues in imaging surveillance strategy. *Skeletal Radiol.* déc 2018;47(12):1595-606.
- [126].Sabolch A, Feng M, Griffith K, Rzasa C, Gadzala L, Feng F, et al. Risk factors for local recurrence and metastasis in soft tissue sarcomas of the extremity. *Am J Clin Oncol.* avr 2012;35(2):151-7.



أطروحة رقم 22/053

سنة 2022

مساهمة التهجين الموضوعي المتألق في تشخيص ساركوما الأنسجة  
الرخوة للأطراف  
( بصدد 134 حالة )  
الأطروحة

قدمت و نوقشت علانية يوم 2022/02/22

من طرف

السيدة فدوى حرموش

المزداة في 1991/03/24 بألميس مرموشة

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية

ساركوما الأنسجة الرخوة - التشخيص - التكهن - التهجين الموضوعي المتألق

اللجنة

الرئيس والمشرّف	..... السيدة ليلي شباني
	أستاذة التعليم العالي في علم التشريح المرضي
الأعضاء	..... السيدة أريفي سامية
	أستاذة مبرزة في بيولوجيا الخلية
	..... السيدة نوال حماس
	أستاذة مبرزة في علم التشريح المرضي
	..... السيد محمد الإدريسي
	أستاذ مبرز في علم الجروح والتجبير