

UNIVERSITÉ CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

FACULTÉ DE MÉDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTOLOGIE

ANNÉE 2020



N° 204

**EXPERIENCE DU LABORATOIRE D'ANATOMIE ET CYTOLOGIE
PATHOLOGIQUES DE L'HOPITAL PRINCIPAL DE DAKAR SUR
LA PRATIQUE DE L'IMMUNOHISTOCHEMIE SUR UNE PERIODE
DE 07 ANS**

MÉMOIRE

**Pour l'obtention du Diplôme d'Etudes Spécialisées en Anatomie et Cytologie
Pathologiques**

Présenté et soutenu :

Le 01 10 2020

Par Docteur Moussa NDIAYE

Né le 06/06/1981 à Dakar (Sénégal)

MEMBRES DU JURY

<u>Président :</u>	M. Ahmadou	DEM	Professeur Titulaire
<u>Membres</u>	M. Chérif Mouhamed M.	DIAL	Professeur assimilé
	M. Ibou	THIAM	Professeur assimilé
<u>Directeur de mémoire :</u>	M. Ibou	THIAM	Professeur assimilé

*Par la grâce d'ALLAH, le Tout Puissant, le Miséricordieux et son prophète
MOUHAMED (PSL)*

*A mon défunt père (dont la lumière continue de me guider dans les méandres
de la vie, paix à son âme)*

A ma mère, à mes frères et sœurs

A mon épouse, mon fils et ma fille

A toute ma famille

Vous avez été nos soutiens permanents.

Recevez notre gratitude et notre amour éternel.

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY

MONSIEUR LE PROFESSEUR AHMADOU DEM

*Vous avez accepté de juger ce travail malgré vos multiples occupations. Nous
sommes honorés de votre disponibilité permanente et sans faille pour tout ce qui
a trait à la formation et à l'encadrement des étudiants.*

*Veillez recevoir l'expression de notre respectueuse reconnaissance pour le
jugement que vous voudrez bien porter sur ce travail.*

A NOTRE MAITRE ET JUGE

MONSIEUR LE MAITRE DE CONFERENCES AGREGE CHERIF

MOUHAMED MOUSTAPHA DIAL

Votre abord facile, la disponibilité dont vous faites toujours preuve, votre rigueur scientifique, votre humilité et votre simplicité forcent notre admiration.

Sous votre égide, l'anatomie et cytologie pathologiques s'avère être une spécialité passionnante, tellement la qualité de vos enseignements se montre claire et limpide. Nos hommages respectueux pour les connaissances scientifiques que vous nous avez inculqué.

Recevez toute notre gratitude et notre reconnaissance infinie

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE MEMOIRE

MONSIEUR LE MAITRE DE CONFERENCES AGREGE IBOU THIAM

Votre personnalité se démarque très vite par votre simplicité et la rigueur scientifique dont vous faites preuve. Cela force naturellement notre admiration et notre profond respect. Votre esprit scientifique, la clarté de vos enseignements et vos qualités humaines font de vous un grand Maître.

Soyez assuré, cher Maître, de notre profonde reconnaissance.

A tout le personnel des laboratoires d'anatomie et cytologie pathologiques de Dakar :

-Hôpital Aristide Le Dantec

-Hôpital Général de Grand Yoff

- Hôpital Principal de Dakar

-Hôpital de Fann

-Université Cheikh Anta Diop

Pour leur sympathie, leur aide et pour l'ambiance amicale.

NOS REMERCIEMENTS

***A TOUS CEUX QUI DE LOIN OU DE PRÉS, ONT CONTRIBUÉ A
L'ECLOSION DE CE TRAVAIL.***

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations	7
Liste des tableaux.....	10
Liste des images.....	11
Liste des figures.....	12

PREMIERE PARTIE :

1. Généralités.....	16
2. Dépistage des lésions précancéreuses.....	17
3. Diagnostic des cancers.....	18
3.1. Clinique.....	18
3.2. Examens complémentaires.....	22
3.2.1. Imagerie Médicale.....	22
3.2.2. Biologie.....	24
3.2.2.1. Dosages des marqueurs sériques tumoraux.....	24
3.2.2.2. Dosages biochimiques.....	25
3.2.2.3. Anomalies génétiques.....	25
3.2.3. Anatomie Pathologique.....	26
3.2.3.1. Diagnostic morphologique.....	27
3.2.3.2. Grade de la tumeur.....	27
3.2.3.3. Classification par stade.....	28
3.2.4. Tests moléculaires.....	28
4. Immunohistochimie.....	28
4.1. Principe.....	29
4.2. Phase pré-analytique.....	30
4.3. Technique.....	31
4.4. Applications.....	35
4.5. Quelques exemples de marqueurs.....	37
4.5.1. Pour les cancers du sein	37
4.5.2. Pour les lymphomes.....	43
4.6. Limitations.....	48
5. Classifications	50
5.1. Classification histologique des cancers.....	50

5.2. Classification des lymphomes.....	53
5.3. Classification moléculaire des cancers du sein.....	55

DEUXIEME PARTIE :

1. Cadre de notre étude.....	62
2. Matériels et méthode.....	62
2.1. Matériels.....	62
2.2. Méthode.....	64
2.2.1. Mode opératoire.....	64
2.2.2. Période et type d'étude.....	68
2.2.3. Population d'étude.....	68
2.2.3.1. Critères d'inclusion.....	68
2.2.3.2. Taille de l'échantillon.....	68
2.2.4. Variables étudiées.....	68
3. Résultats.....	69
3.1. Cancer du sein.....	69
3.1.1. Etude descriptive de l'échantillon.....	69
3.1.2. Etude analytique de l'échantillon.....	75
3.2. Lymphomes.....	78
3.2.1. Résultats épidémiologiques.....	78
3.2.2. Localisation des tumeurs.....	81
3.2.3. Répartition histologique et immunohistochimique des tumeurs.....	82
3.3. Autres entités pathologiques.....	86
4. Commentaires et discussion.....	87
Conclusion.....	104
Recommandations.....	106
Références bibliographiques.....	107

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN: Acide DésoxyriboNucléique

Ag: Antigène

ALAT: alanine-aminotransférase

AML : Anti-Muscle Lisse

BRCA : Breast Cancer susceptibility gene

CA: Cancer Antigen

CCI : Carcinome Canalaire Infiltrant

CCIS : Carcinome Canalaire In Situ

CD: Cluster de Differentiation

CINS : Carcinome Infiltrant de type Non Spécifique

CK : Cytokératine

CL : Carcinome Lobulaire

CLI : Carcinome Lobulaire Infiltrant

CT : Carcinome Tubuleux

DAB : 3,3 – Diaminobenzidine

DLBCL: Diffuse Large B cell lymphoma

EBV: Epstein Barr Virus

l'EGF: Epidermal Growth Factor

EMA: Epithelial Membrane Antigen

EORTC : European Organization for Research and Treatment of **Cancer**

FCU: Frottis Cervico-Utérin

FISH: Fluorescence In Situ Hybridization

GATA3: GATA binding protein 3

HCG: Human Chorionic Gonadotropin hormone

HER2: Human Epidermal growth factor Receptor 2

HES: Hématoxyline Eosine Safran

HHV8: Human Herpes Virus 8.

HPD : Hôpital Principal de Dakar

HTLV1: Human T-cell Lymphotropic Virus 1.

IHC : Immunohistochimie

IRM: Imagerie par Resonance Magnétique

L : Lymphome

LDH: Lactate Deshydrogénase

LH: lymphome Hodgkin

LLC: Leucémie Lymphoide Chronique

LMNH: Lymphome Malin Non Hodgkinien

LNH: Lymphome Non Hodgkinien

LNHB: Lymphome Non Hodgkinien B

LNHT: Lymphome Non Hodgkinien T

MALT: Mucosa-Associated Lymphoid Tissue

MN: minute

NC: Non Classé

NK: Natural Killer

NOS : Non Spécifique

P53 : Protéine 53

PCR: Polymerase Chaine Reaction

PET: Positron Emission Tomography

PSA: Prostate Specific Antigen

PTCL : Peripheral T-Cell Lymphoma

RE: Récepteur oestrogénique

RO: Récepteur oestrogénique

RP: Récepteur Progestatif

SAI : Sans Autre Indication

SBR : Scarff Bloom et Richardson

SNC: Système Nerveux Central

TDM: Tomodensitométrie

TFH: T Helper Folliculaire

XBP1: X-box Binding Protein 1

LISTE DES TABLEAUX

<u>Tableau N°1</u> : Classification des tumeurs épithéliales malignes.....	50
<u>Tableau N°2</u> : Classification des tumeurs conjonctives malignes.....	51
<u>Tableau N°3</u> : tumeurs des tissus hématopoïétiques	51
<u>Tableau N°4</u> : les tumeurs dérivées d'autres tissus.....	52
<u>Tableau N°5</u> : tumeurs du tissu germinale et des annexes embryonnaires.....	52
<u>Tableau N°6</u> : tumeurs du blastème embryonnaire.....	53
<u>Tableau N°7</u> : Classification des lymphomes.....	54
<u>Tableau N°8</u> : caractéristiques des sous types moléculaires de cancer du sein.....	59

LISTE DES IMAGES

<u>Image N°1</u> : technique de l'immunohistochimie.....	33
<u>Image N°2</u> : les résultats de l'immunomarquage.....	34
<u>Image N°3</u> : immunomarquage RO.....	38
<u>Image N°4</u> : Immunomarquage RP.....	39
<u>Image N°5</u> : Immunomarquage HER2	40
<u>Image N°6</u> : immunomarquage Ki-67.....	42
<u>Image N°7</u> : Coupe d'une pièce de gastrectomie (GX40) avec une coloration positive à l'AC CD20	43
<u>Image N°8</u> : Biopsie ostéo-médullaire réalisée après traitement par rituximab dans le cadre d'un lymphome à cellule du manteau avec atteinte médullaire massive CD20- et CD79a+ après traitement par anti-CD20.....	44
<u>Image N°9</u> : Biopsie de végétations adénoïdes : répartition normale des populations lymphoïdes B (CD20+) et T (CD5+ et CD3+).....	46
<u>Image N°10</u> : profil immuno-histochimique du sous-type luminal A.....	56
<u>Image N°11</u> : profil immuno-histochimique du sous-type luminal B.....	57
<u>Image N°12</u> : Automate d'immunohistochimie.....	63

LISTE DES FIGURES

<u>Figure N°1</u> : Répartition des prélèvements selon l'année.....	69
<u>Figure N°2</u> : distribution de la population en fonction de l'âge.....	70
<u>Figure N°3</u> : répartition des tumeurs en fonction de la latéralité.....	71
<u>Figure N° 4</u> : Répartition selon le type de prélèvements.....	71
<u>Figure 5</u> : répartition selon le type histologique.....	72
<u>Figure N°6</u> : Répartition selon le grade SBR	73
<u>Figure N°7</u> : Répartition selon le profil immunohistochimique.....	74
<u>Figure N° 8</u> : Répartition des tumeurs selon la classification moléculaire. ...	75
<u>Figure N° 9</u> : Répartition des tumeurs selon la classification moléculaire (bis).....	76
<u>Figure N° 10</u> : Répartition des tumeurs selon l'âge en fonction du groupe moléculaire.....	76
<u>Figure N°11</u> : Répartition des types moléculaires selon le grade histologique.....	77
<u>Figure N° 12</u> : Répartition des prélèvements selon l'année.....	78
<u>Figure N°13</u> : répartition des cas selon l'âge.....	79
<u>Figure N°14</u> : répartition selon l'âge pour les LMNH.....	80
<u>Figure N°15</u> : répartition selon l'âge pour le lymphome de Hodgkin.....	81
<u>Figure N°16</u> : répartition des lymphomes selon la localisation	82
<u>Figure N°17</u> : répartition des lymphomes selon le type histologique.....	82

<u>Figure N°18</u> : sous types histologiques des lymphomes de Hodgkin.....	83
<u>Figure N°19</u> : Répartition des lymphomes après immunohistochimie.....	84
<u>Figure N°20</u> : répartition des LMNH B après immunohistochimie.	85
<u>Figure N°21</u> : répartition des LMNH T après immunohistochimie.	87
<u>Figure N°22</u> : Etude comparative sex-ratio.....	88
<u>Figure N°23</u> : Etude comparative selon la latéralité.....	89
<u>Figure N°24</u> : Etude comparative selon le type histologique.....	90
<u>Figure N°25</u> : Etude comparative selon le grade SBR.....	91
<u>Figure N°26</u> : Etude comparative selon la positivité des récepteurs hormonaux et HER2.....	92
<u>Figure N°27</u> : Etude comparative selon le groupe moléculaire.....	93
<u>Figure N°28</u> : Etude comparative selon l'âge et le groupe moléculaire.....	93
<u>Figure N°29</u> : Carcinome canalaire infiltrant de type NOS et groupe moléculaire.....	95
<u>Figure 30</u> : âge moyen et médian dans les lymphomes.....	96
<u>Figure 31</u> : âge moyen et médian dans les LMNH.....	97
<u>Figure 32</u> : âge moyen et médian dans les LH.....	98
<u>Figure N°33</u> : comparaison sous-types histologiques lymphomes.....	100
<u>Figure N°34</u> : comparaison immuno-histochimique des lymphomes.....	101



**PREMIERE PARTIE :
REVUE DE LA
LITTERATURE**

1. GENERALITES

L'immunohistochimie, technique utilisée en histo- et cytopathologie depuis plus de vingt ans, a permis de faire des progrès considérables dans le diagnostic morphologique, en particulier dans celui des maladies cancéreuses. Son but et son principe: mettre en évidence certaines protéines cellulaires, qu'elles soient cytoplasmiques, membranaires ou nucléaires, spécifiques pour un type ou une fonction cellulaire, à l'aide d'une réaction antigène – anticorps, le complexe formé étant rendu visible, donc localisable, par un marqueur coloré. Ses applications sont innombrables. Parmi les plus importantes, citons le diagnostic différentiel des tumeurs indifférenciées (carcinome, sarcome, mélanome, ou lymphome malin), la catégorisation des leucémies et des lymphomes, l'identification de l'origine d'une métastase ainsi que la détection de molécules ayant une importance pronostique et/ou thérapeutique (récepteurs hormonaux d'un cancer mammaire par exemple). [1]

Les cancers sont des proliférations cellulaires anormales, échappant aux mécanismes de régulation, envahissant et détruisant le tissu dans lequel elles se développent, capables de dissémination dans tout l'organisme, et susceptibles de récurrences après traitement.

La classification des tumeurs est fondée sur leur organe ou tissu d'origine, leur type histologique, et leur degré de malignité. Le diagnostic est fondé sur l'histologie, mais fait de plus en plus souvent appel à des techniques complémentaires telles que l'immunohistochimie, la cytogénétique et la biologie moléculaire.

L'examen anatomopathologique a pour objectif d'établir le type, le grade histologique et le stade (c'est à dire l'extension) ; ce qui contribue à évaluer le pronostic et à déterminer le traitement le plus approprié pour le patient. La mise en évidence de marqueurs moléculaires au sein des tumeurs, avec des techniques

morphologiques ou non, peut permettre une évaluation plus précise de leur pronostic et/ou de leur potentiel de réponse aux traitements.

Pour cette raison, l'Hôpital Principal de Dakar s'est très tôt doté d'un plateau d'immunohistochimie pour faire face aux exigences diagnostiques et thérapeutiques. Il est un des premiers hôpitaux dans la sous région à disposer de ces moyens. Ainsi il serait intéressant de procéder à une étude sur l'expérience de HPD sur l'immunohistochimie.

L'étude aura pour objectif d'évaluer l'expertise du laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologiques de l'Hôpital Principal de Dakar (HPD) sur le diagnostic et le profil immunohistochimiques des cancers du sein et des lymphomes.

En effet la majorité des prélèvements adressés pour étude immunohistochimique concernait les lymphomes et le profil des cancers du sein.

2. DEPISTAGE DES LÉSIONS PRÉCANCÉREUSES [2]

Le cancer peut parfois être détecté chez des patients asymptomatiques par l'examen clinique classique ou des tests de dépistage. Les tests de dépistage sont effectués chez des patients asymptomatiques à risque. En effet, un diagnostic précoce peut diminuer la mortalité du cancer. Il permet des traitements moins radicaux et diminue les coûts. Les risques comprennent des résultats faussement positifs qui nécessitent des tests de confirmation qui sont inquiétants pour le patient et ont une morbidité importante et un coût élevé; et des résultats faussement négatifs peuvent être trop rassurants et faire méconnaître par le patient l'importance d'une symptomatologie ultérieure.

Les tests de dépistage sont en pleine évolution et sont recommandés en fonction des études scientifiques. L'exemple le plus typique est celui du frottis cervico-utérin (FCU) qui est une méthode simple, sensible et spécifique. C'est également

une méthode rentable en terme de santé publique car le dépistage systématique du cancer du col par le frottis cervico-vaginal permet la détection de cancers cervicaux.

Ce dépistage doit être effectué régulièrement chez les femmes aussi bien avant qu'après la ménopause. Deux ou trois frottis sont réalisés au niveau du cul de sac vaginal postérieur, de l'exocol et de l'endocol. On peut aussi réaliser un frottis en phase liquide. Seule la biopsie pratiquée après un résultat cytologique signalant ces cellules tumorales malignes permettra de préciser le degré d'extension du cancer (intra épithélial ou invasif) et sa variété.

3. DIAGNOSTIC DES CANCERS

3.1. CLINIQUE

3.1.1. SIGNES GENERAUX

Ils sont souvent marqués par une altération importante de l'état général avec :

- Une asthénie, une anorexie
- Une perte de poids (signe très révélateur)
- Une fièvre...

3.1.2. SIGNES FONCTIONNELS

Ils sont variables et sont fonction de l'organe atteint :

- Un des problèmes avec les lymphomes est que les symptômes révélateurs ne sont pas spécifiques et peuvent être confondus avec des maladies moins graves, comme une simple grippe par exemple, ce qui joue en défaveur d'un diagnostic précoce, si essentiel pour en améliorer le pronostic [3]

- Dans les cancers du sein les symptômes amenant une patiente à consulter sont variables. Il peut s'agir d'une douleur, d'une masse, d'une modification de la peau ou des contours du sein, d'un écoulement mamelonnaire, d'une anomalie du mamelon ou de l'aréole, d'une adénopathie axillaire isolée, d'un gros bras, d'un hématome ou d'une ecchymose spontanée. Tous ces signes peuvent être isolés ou associés. Il est important de préciser la date d'apparition du symptôme, ses modifications depuis le début, son évolution au cours du cycle menstruel, et son ancienneté, pour apprécier sans culpabiliser la patiente, la durée et la cause d'un éventuel retard à consulter. [4]

3.1.3. SIGNES PHYSIQUES

Ils varient selon l'organe concerné. L'examen précisera les caractères de la tumeur : le siège, les mensurations, la consistance (souvent pierreuse mais parfois fluctuante à cause des remaniements nécrotiques ou kystiques...), la description macroscopique (coloration, l'aspect, le caractère hémorragique...).

- **Dans les lymphomes** le signe le plus fréquent est la détection d'adénopathies ; parfois douloureuses, au niveau du cou, des aisselles, de l'aîne [5]
 - Adénopathies superficielles sont celles accessibles à l'examen clinique, unique ou multiples (volontiers asymétriques, en règle indolores, chroniques (>1 mois), non satellites d'une porte d'entrée infectieuse (les adénopathies sus-claviculaires sont particulièrement suspectes) : sans multiplier bilans échographiques, biologiques et sérologiques, il faut en effectuer la cyto-ponction (élimine une adénite purulente) et surtout la biopsie (en évitant si possible les

territoires inguinaux et axillaires en raison du risque de lymphorrhée et lymphoedème)

- Adénopathies médiastinales révélées par une toux, une dyspnée, parfois associées à des épanchements pleuro-péricardiques, des nodules pulmonaires, pouvant réaliser un tableau de syndrome cave supérieur : le diagnostic peut nécessiter une thoracotomie, plus souvent une biopsie dirigée sous scanner
- Hépatome et/ou splénomégalie, adénopathies abdominales rétro-péritonéales ou mésentériques, ou pelviennes, souvent accompagnées ou révélées par une fièvre au long cours, parfois compliquées de compression urétérale ou digestive : le diagnostic repose aussi sur la biopsie radio-guidée plus souvent que sur la chirurgie
- Dysphonie, obstruction nasale ou tubaire des lymphomes ORL
- Epigastralgies, troubles du transit, hémorragies des lymphomes digestifs
- HTIC, compression médullaire
- Erythrodermie, nodules cutanés violacés...etc [6]

- **Dans les cancers du sein :**

○ **A l'inspection :**

Les signes inflammatoires

- La rougeur : Peut-être localisée à une partie du sein ou s'étendre sur l'ensemble du sein.
- L'œdème : Il est dû à un engorgement des lymphatiques du derme, Il se traduit cliniquement par une peau d'orange.
- Les modifications du mamelon et de l'aréole : La présence d'une nappe érythémateuse et prurigineuse bien limitée, infiltrée, centrée par le mamelon doit faire suspecter la maladie de Paget et nécessite une biopsie diagnostique.

L'ombilication du mamelon : Doit évoquer en premier lieu un cancer lorsqu'elle est récente.

- Les ulcérations : Correspondent le plus souvent à un cancer évolué. On peut toutefois en observer en cas de papillomes solitaires, de tuberculose mammaire

Les autres signes : L'inspection peut mettre en évidence d'autres signes comme des ecchymoses, une modification de la circulation veineuse superficielle avec apparition d'une circulation veineuse collatérale, la saillie de volumineuses adénopathies axillaires ou sus-claviculaires.

- **A la palpation** : Il faut toujours palper les seins et les aires ganglionnaires.

- Les seins :

La palpation doit être douce, précise, méthodique et comparative. Elle doit éventuellement être guidée par les données recueillies lors de l'interrogatoire ou de l'inspection.

La palpation doit se faire sur la patiente assise, puis couchée ; une bonne palpation doit se faire, la main bien à plat, avec l'extrémité de l'index et du médus, en se plaçant toujours du côté à examiner.

- La tumeur :

Le diagnostic de tumeur n'est pas toujours aisé, en particulier si le sein est nodulaire.

Une tumeur étant reconnue, il faut préciser son siège, sa taille, ses limites, sa consistance, sa forme, sa mobilité, sa focalité, et l'existence d'une poussée inflammatoire.

- Les aires ganglionnaires :

L'examen des aires ganglionnaires axillaires et sus-claviculaires doit être systématique, quels que soient les résultats de l'exploration du sein.

Les creux axillaires : Ils doivent être palpés en position relâchée, les mains de la patiente reposant sur les épaules de l'examineur. La main droite explore le creux axillaire gauche et la main gauche explore le creux axillaire droit. La palpation peut être difficile si les ganglions sont haut situés ou si le creux est adipeux. Il faut apprécier le nombre, la consistance, la taille, la mobilité et la situation des adénopathies perçues. Les ganglions palpables ne sont pas forcément néoplasiques. L'étude du creux axillaire doit être comparative par rapport au creux controlatéral. En cas d'adénopathies bilatérales, il faut explorer les autres aires ganglionnaires.

Les creux sus et sous claviculaires : Ils doivent être examinés cou tendu et relâché, tête penchée du côté palpé, la femme étant en position assise. L'examineur se place en général derrière la patiente [4]

3.2.EXAMENS COMPLEMENTAIRES

3.2.1. IMAGERIE MEDICALE

L'**imagerie médicale** comprend souvent des radiographies sans préparation, des échographies, la TDM, la PET et l'IRM. Ces examens aident à identifier les anomalies, à déterminer la nature de la masse (solide ou kystique), à la mesurer et à établir les relations avec les structures voisines, ce qui peut être important si une chirurgie ou une biopsie est envisagée. L'imagerie, notamment la TDM, PET et l'IRM, peut détecter des métastases au niveau du cerveau, du poumon, de

la moelle épinière ou de l'abdomen, y compris les surrénales, les adénopathies rétro péritonéales, le foie et la rate.

- L'IRM (avec injection de gadolinium) est la technique de choix pour la détection et le bilan des tumeurs cérébrales, qu'elles soient primitives ou secondaires.
- La PET est de plus en plus utilisée pour déterminer l'activité métabolique d'une masse ou d'un ganglion suspects, d'un nodule pulmonaire ou d'une autre masse.
- La PET–TDM peut être utile dans le bilan des cancers du poumon, de la tête et du cou, du sein et des lymphomes.
- L'échographie peut être utilisée pour l'étude du sein, de la cavité orbitaire, de la thyroïde, du cœur, du péricarde, du foie, du pancréas, des reins, des testicules et des masses rétropéritonéales. Cela peut permettre de guider les biopsies percutanées et permettre de différencier kystes remplis de liquide et masses solides.
- La scintigraphie peut identifier plusieurs types de métastases (par exemple, cancer de la thyroïde). La scintigraphie osseuse permet d'identifier une *activité* osseuse anormale (c'est-à-dire, ostéoblastique) avant qu'elle ne soit visible sur les clichés des radiographies simples. Ainsi, les scintigraphies osseuses sont donc inutiles en cas de lésions purement lytiques (p. ex., myélome multiple); et les clichés radiographies standards restent dans ces cas la technique de choix [2]
- La mammographie (spécifique au cancer du sein) est un examen essentiel dans le dépistage du cancer du sein. Elle doit être réalisée dans les 10 premiers jours du cycle, afin de limiter les risques liés à une grossesse débutante, la douleur possible lors de la compression mammaire, et l'irradiation sur des seins plus radio-opaques en période

d'imprégnation progestative plus forte. Elle est bilatérale et comparative.

Deux types d'image mammographique sont pathognomoniques du cancer quand ils sont associés et très évocateurs lorsqu'ils sont isolés.

Ce sont :

- **Opacités stellaires** : C'est la traduction mammographique la plus classique du cancer du sein. Elle est constituée d'un centre dense associé à une collerette de spicules plus ou moins longs.
- **Microcalcifications** : Elles peuvent être associées à une opacité tumorale ou, à l'inverse, être isolées. Elles sont alors le seul marqueur radiologique d'un cancer infra clinique [4]

3.2.2. BIOLOGIE

3.2.2.1. DOSAGE MARQUEURS SÉRIQUES TUMORAUX [2]

Les **marqueurs sériques tumoraux** peuvent apporter des éléments de preuve concordants en cas de signes évocateurs d'un cancer spécifique. Ci-dessous certains exemples

- Alpha-Fœtoprotéine (carcinome hépatocellulaire, cancer du testicule)
- Ag carcino-embryonnaire (cancer du côlon)
- HCG (human chorionic gonadotropin) (choriocarcinome, carcinome testiculaire)
- Immunoglobulines sériques (myélome multiple)
- Des tests moléculaires tels que *BCR-ABL1* (leucémie myéloïde chronique)
- CA125 (cancer de l'ovaire)
- CA27-29 (cancer du sein)
- PSA (Prostate specific antigen) (cancer de la prostate)

Certains de ces marqueurs tumoraux sériques peuvent être plus utiles pour surveiller la réponse au traitement que pour la détection des tumeurs.

3.2.2.2. DOSAGES BIOCHIMIQUES [2]

Les dosages biochimiques sériques et les dosages enzymatiques peuvent aider à établir la classification par stades. L'augmentation du niveau des enzymes hépatiques (phosphatases alcalines, LDH, ALAT) et une bilirubine élevée évoquent des métastases hépatiques. Un taux élevé des phosphatases alcalines et une hypercalcémie peuvent révéler une métastase osseuse. Une urée ou une créatinine sériques élevées peuvent résulter d'une compression des voies urinaires secondaire à une masse pelvienne, à une tubulopathie par précipitation au niveau des tubules des protéines d'un myélome ou d'une néphropathie uratique au cours d'un lymphome ou d'un autre cancer. Une hyperuricémie est souvent observée en cas de tumeurs proliférant rapidement et de maladies myélo- et lymphoprolifératives.

3.2.2.3. ANOMALIES GENETIQUES [7]

Les techniques de biologie moléculaire ont une valeur diagnostique et pronostique dans certaines tumeurs malignes, et peuvent également aider à dépister la maladie résiduelle après traitement ou à diagnostiquer une prédisposition héréditaire à développer un cancer. La clonalité d'une tumeur peut être établie par la mise en évidence du réarrangement clonal des gènes codant pour les immunoglobulines ou pour le récepteur de cellules T (pour les lymphomes) ou par la mise en évidence d'une inactivation clonale du chromosome X (chez les femmes). Les anomalies génétiques apparaissent successivement au cours de la croissance d'une tumeur. Certaines de ces anomalies sont récurrentes, c'est à dire que le même type d'anomalie survient

avec une fréquence élevée dans un type de tumeur donné. La détection de ces anomalies peut présenter un intérêt diagnostique ou pronostique.

- Les réarrangements chromosomiques peuvent aider au typage des lymphomes (exemple : t(14 ;18) des lymphomes folliculaires, t(8 ;14) des lymphomes de Burkitt, t(2 ;5) des lymphomes anaplasiques), des sarcomes (ex : t(X ;18) des synoviosarcomes) ou des tumeurs pédiatriques.
- Les instabilités chromosomiques : exemple la recherche de l'isochromosome 17q dans les médulloblastomes.
- L'instabilité génétique est liée à une anomalie de gènes de réparation de l'ADN. Elle peut être associée à des formes familiales d'adénocarcinomes coliques, et est associée à un meilleur pronostic par rapport à une tumeur sporadique de même stade.
- Les amplifications géniques peuvent avoir une valeur pronostique (exemple : mauvais pronostic des neuroblastomes ayant une amplification de c-myc).
- Les mutations d'un gène peuvent être assez spécifiques d'une tumeur (ex : gène KIT pour les tumeurs stromales digestives).

3.2.3. ANATOMIE PATHOLOGIE [7]

L'étude anatomo-pathologique a pour but de préciser :

- la nature histologique de la tumeur
- son agressivité potentielle
- son pronostic
- sa capacité à répondre à des traitements de plus en plus spécifiques

3.2.3.1. DIAGNOSCTIC MORPHOLOGIQUE

Le diagnostic cyto- ou histologique nécessite de disposer d'échantillons de bonne qualité, représentatifs de la tumeur et n'ayant pas subi d'altérations pendant leur prélèvement ou leur transport.

- **L'examen des coupes histologiques colorées à l'HES** constitue la base du diagnostic anatomopathologique (typage histologique, grade, stade, limites). De nombreuses techniques complémentaires, morphologiques ou non, peuvent être utilisées pour confirmer ou préciser le diagnostic. D'autres colorations permettant la mise en évidence de particularités des cellules tumorales (ex : mucosécrétion avec le bleu alcian) ou du stroma (ex : trame réticulinique avec le Gordon-Sweet) sont souvent utiles au diagnostic.
- **L'immunohistochimie** pour qui nous allons consacrer un chapitre (chapitre 4).

3.2.3.2. GRADE DE LA TUMEUR

Le **grade de la tumeur** est une mesure de l'agressivité tumorale histologique et fournit d'importantes informations pronostiques. Il est déterminé par l'examen morphologique d'échantillon de tissu. Le grade est basé sur l'aspect morphologique des cellules tumorales, notamment l'aspect des noyaux, du cytoplasme, et des nucléoles; la fréquence des mitoses; et la quantité de nécrose. Pour de nombreux cancers, des classifications ont été développées.

3.2.3.3. CLASSIFICATION PAR STADES

Une fois le diagnostic histologique établi avec certitude, la définition du stade (c'est-à-dire, la détermination de l'étendue de la maladie) permet de prendre une décision thérapeutique et influence le diagnostic. La classification clinique par stades utilise les données de l'interrogatoire, l'examen clinique, l'imagerie, les examens de laboratoire, la biopsie ostéoméduillaire, les biopsies ganglionnaires ou des biopsies d'autres sites.

3.2.4. TESTS MOLECULAIRES

Les **tests moléculaires** tels que les analyses chromosomiques, la fluorescence par hybridation *in situ* (FISH), la PCR et les Ag de surface cellulaire (par exemple, dans les lymphomes, les leucémies, les cancers du poumon et digestifs) permettent de déterminer l'origine des cancers métastatiques, en particulier dans le cas des cancers dont l'origine du primitif est inconnue, ce qui peut être utile pour choisir le traitement

4. IMMUNHISTOCHIMIE

Il serait absurde de nier aujourd'hui le fait que l'avènement de l'immunohistochimie et ses applications dans les domaines du diagnostic histo et cytopathologique durant les années 80 ont représenté une véritable révolution pour tous les pathologistes. Il est vrai que les colorations traditionnelles telles que l'hématoxyline-éosine(HE) en histologie et celles de Papanicolaou et/ou de Giemsa en cytologie continuent à jouer un rôle fondamental dans la pratique quotidienne du diagnostic morphologique. Néanmoins, il est de plus en plus évident que l'utilisation de l'immunohistochimie permet de faire des progrès considérables, en particulier dans le diagnostic des maladies cancéreuses en général. En effet, elle permet non seulement de préciser le diagnostic, mais encore de mettre en évidence certaines caractéristiques, aussi importantes pour

le pronostic que pour le choix d'un traitement optimal, voire une thérapie ciblée. Bref, cette technique, même si elle n'est pas miraculeuse (elle ne permet qu'exceptionnellement de différencier entre tumeurs bénignes et malignes), elle est devenue un instrument indispensable si l'on veut pouvoir assurer un diagnostic morphologique de qualité dans le domaine de l'oncologie.

4.1.PRINCIPE

Le principe de base de l'immunohistochimie est très simple. Son but est de mettre en évidence certaines protéines cellulaires, qu'elles soient cytoplasmiques (par exemple, filaments intermédiaires), nucléaires (par exemple, récepteurs hormonaux) ou membranaires (par exemple cerbB2), spécifiques à un type ou à une fonction cellulaire, à l'aide d'anticorps dirigés contre cette protéine aux propriétés antigéniques. Les anticorps spécifiques utilisés en immunohistochimie sont obtenus de deux façons différentes :

- Immuniser un animal (souris, lapin, cobaye) en lui injectant l'antigène donné et recueillir ensuite son sérum pour le purifier et isoler ensuite un anticorps polyclonal,
- Immuniser un animal (souris), recueillir ses lymphocytes, mettre ceux-ci en culture, et après purification du surnageant de la culture, obtenir un anticorps monoclonal.

L'anticorps spécifique ainsi produit est ensuite soit isolé et marqué par un «révélateur» optique généralement la fluorescéine pour l'immunofluorescence, soit détecté par un second anticorps dirigé contre la partie constante du premier (antisouris ou anti-lapin) marqué par un enzyme dont l'activité se manifeste par la formation d'un produit coloré (par exemple à partir de la diaminobenzidine et H₂O₂ pour la peroxydase (complexe peroxydase–antiperoxydase: PAP) ou à l'aide du complexe avitine-biotine (ABC).

L'anticorps marqué est incubé avec une coupe de tissu après démasquage de l'antigène au moyen du four à micro-ondes ou à l'aide d'enzymes.

Durant cette incubation, l'anticorps marqué se fixe sur l'antigène spécifique le rendant ainsi visible et localisable, que ce soit dans le cytoplasme, les noyaux ou la membrane cellulaire.

Actuellement, la très grande majorité des anticorps utilisés dans la pratique quotidienne sont des anticorps pouvant être utilisés sur des coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine.

Toutefois, certains immunomarquages exigent encore d'être réalisés sur du matériel tissulaire frais et immédiatement congelé, mais ces cas restent exceptionnels. A noter encore que le nombre des anticorps disponibles sur le marché, pour la plupart monoclonaux, ne fait que croître de jour en jour.

Si d'une façon générale un examen immunohistochimique exige au moins 24h (démasquage de l'antigène, incubation avec l'anticorps etc), il existe actuellement des méthodes rapides, utilisables même lors d'examens extemporanés. [1]

4.2.PHASE PRÉ-ANALYTIQUE

Cette phase est primordiale. La fiabilité des résultats obtenus y dépendra. Elle est conditionnée par les éléments suivants : le fixateur, le délai de fixation, la température de la paraffine et la décalcification.

- Le temps d'ischémie froide doit être inférieur à une heure.
- Le fixateur doit être du formol neutre tamponné : c'est le fixateur de référence. Pour la cytologie le fixateur recommandé doit être à base d'alcool

- Le délai de fixation : la durée minimum de fixation est de 6 à 8 heures avec un temps de fixation optimal se situant entre 24 et 48 heures. Pour les lames blanches la conservation doit se faire au sec dans une boîte porte lame pendant moins de deux semaines (pas de conservation au frigo car y a risque d'oxydation de l'ADN).
- La température de la paraffine : la paraffine ne doit pas être trop chaude
- La décalcification : il faudra rincer les pièces après décalcification car les produits utilisés sont très acides.

4.3.TECHNIQUE [8]

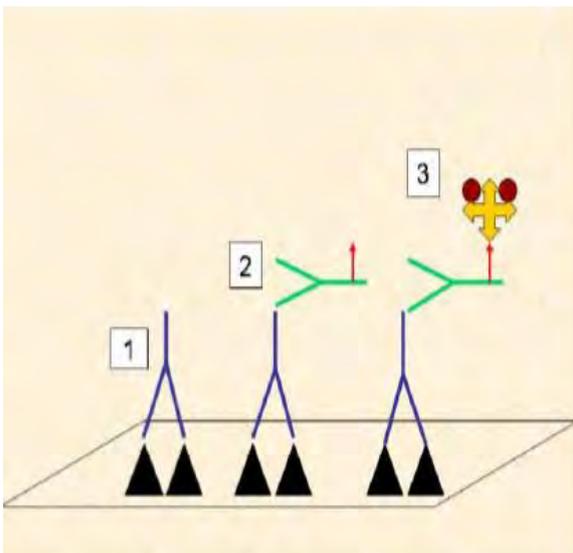
Il s'agit de la technique classique immunohistochimique en trois couches faisant appel au couple streptavidine-biotine/ anticorps secondaire.

En pratique courante comme en recherche, la technique immunohistochimique la plus pratiquée sur les coupes de tissus fixés au formol et inclus dans de la paraffine est une technique en trois couches dont la première étape est constituée par une incubation dans une solution de l'anticorps d'intérêt, appelé anticorps primaire. Après un lavage ayant pour but d'éliminer les anticorps adhérents à la coupe du fait d'interactions non spécifiques, sont déposées successivement les différentes couches d'un système de révélation constitué le plus souvent d'un antiserum biotinylé dirigé contre les immunoglobulines de l'espèce ayant fourni l'anticorps primaire puis une streptavidine (ou une avidine) conjuguée à une enzyme telle que la peroxydase ou la phosphatase alcaline. La liaison entre l'anticorps secondaire et la streptavidine résulte de la très grande affinité de cette dernière pour la biotine. Les activités peroxydasique ou phosphatasique sont ensuite mises en évidence par incubation dans une solution de révélation donnant lieu à un produit coloré insoluble (image N°1)

En immunohistochimie, les signaux colorés peuvent correspondre à un marquage spécifique mais aussi résulter de réactions parasites de mécanismes variés :

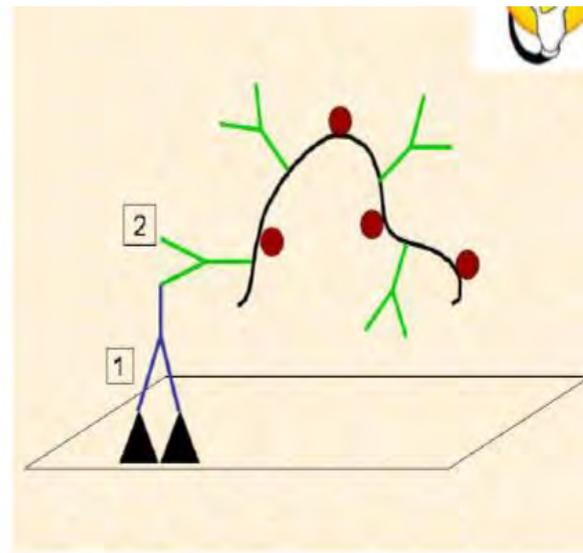
- réactions immunologiques spécifiques développées entre les anticorps primaire ou secondaire et un déterminant antigénique n'appartenant pas à la molécule cible (réactions croisées),
- interactions non spécifiques développées entre l'une des protéines du montage (anticorps primaire, secondaire, streptavidine, peroxydase ou phosphatase) et des constituants de la coupe,
- activité enzymatique endogène identique à celle utilisée comme traceur (peroxydases granulocytaires par exemple). L'oxydation du substrat de la peroxydase peut également être catalysé par des ions métalliques, notamment par le couple redox Fe^{3+}/Fe^{2+} présent dans les globules rouges et l'hémossidérine. Il est classique, en anatomie pathologique, d'appeler cette catalyse non enzymatique « pseudoactivité peroxydasique)). La biotine est liée de façon covalente à différentes protéines, principalement mitochondriales, ce qui explique l'aspect granulaire ou en bâtonnets des artéfacts qui résultent de son interaction avec la streptavidine et l'intensité des colorations artéfactuelles secondaires à l'interaction de la streptavidine avec la biotine endogène au niveau des cellules riches en mitochondries telles que l'hépatocyte, le sébocyte ou la cellule du tube contourné proximal rénal. La covalence de la liaison biotine protéine, quant à elle, rend compte du fait que la biotine, une vitamine hydrosoluble de petite taille, n'est pas perdue lors de la fixation et de l'inclusion et résiste au démasquage thermique. Un moyen pour ne pas détecter la biotine

endogène, utilisé dans notre travail, consiste à utiliser un anticorps secondaire lié à un micropolymère de peroxydase (Image N°1).



Streptavidine biotine peroxydase

- 1 Fixation anticorps primaire antigène
- 2 Fixation anticorps secondaire porteur d'une molécule de biotine
- 3 Fixation au complexe streptavidine peroxydase



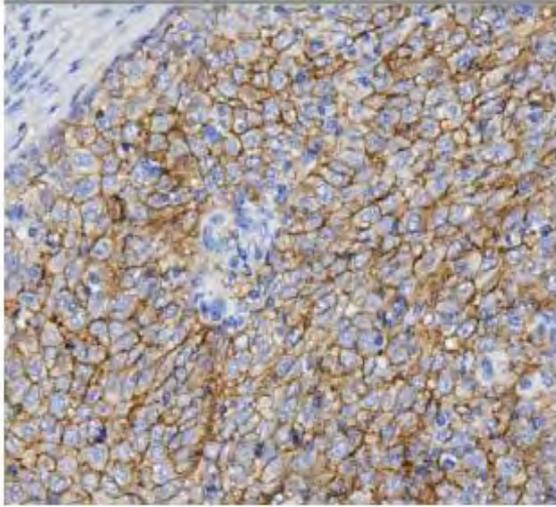
Amplification du signal par polymère

- 1 Fixation anticorps primaire antigène
- 2 Fixation anticorps secondaire fixé à un polymère inerte porteur d'anticorps secondaires et de peroxydase (multiplication du nombre de molécules réactives)

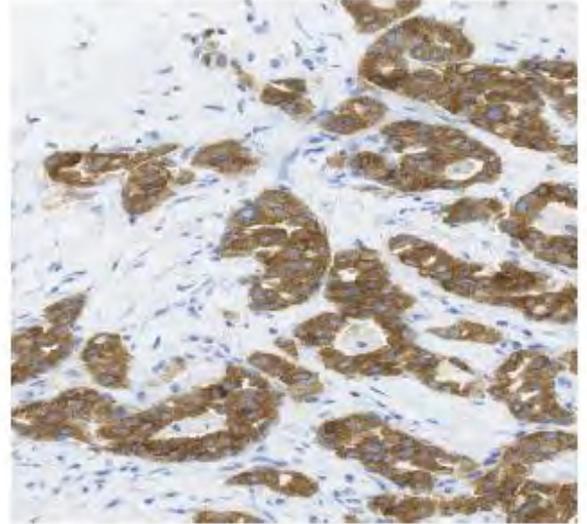
« kit Envision »

Image N°1 : technique de l'immunohistochimie

R
E
S
U
L
T
A
T



Marquage membranaire



Marquage cytoplasmique

Marquage nucléaire

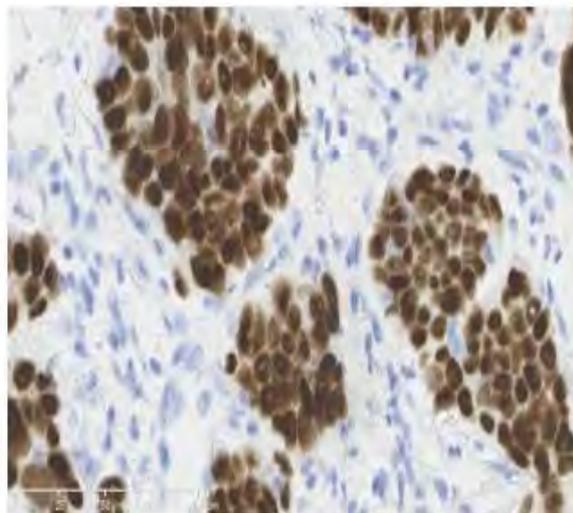


Image N°2 : les résultats de l'immunomarquage

4.4. APPLICATIONS [1]

Il est indiscutable qu'un diagnostic histo- et/ou cytopathologique précis et fiable de toute tumeur maligne représente la condition « sine qua non » pour que le choix thérapeutique soit optimal et offre les meilleures chances de survie, si ce n'est de guérison, au patient. Or grâce à l'immunohistochimie, aussi bien le diagnostic différentiel de certaines tumeurs que la mise en évidence de certaines de leurs propriétés ayant des conséquences thérapeutiques et pronostiques importantes, ont fait des progrès considérables, et cela au bénéfice de tout patient cancéreux.

Une des indications des plus fondamentales et universelles de l'immunohistochimie dans le diagnostic histopathologique est représentée par la situation dans laquelle on se trouve en présence d'une tumeur indifférenciée. En effet, il se pose alors le problème de savoir s'il s'agit d'un carcinome indifférencié, d'un sarcome, d'un mélanome ou d'un lymphome malin. Autre situation embarrassante en morphologie pure : comment faire le diagnostic différentiel entre un adénocarcinome primaire (ou secondaire) du poumon et un mésothéliome de type épithélial ?... Sans immunohistochimie, ces diagnostics différentiels ne sont tout simplement pas possibles, et cela alors qu'une telle distinction est vitale pour le patient, tant le traitement et le pronostic seront différents selon le diagnostic définitif. Le recours à l'immunohistochimie est également très précieux pour la catégorisation des leucémies et des lymphomes. En effet, l'identification et la classification des tumeurs ayant pour cellules d'origine soit des lymphocytes (T ou B) soit des cellules mononucléées de type phagocytaire (histiocytes), requièrent de nos jours de manière impérative la mise en oeuvre de l'immunohistochimie, les schémas thérapeutiques pouvant être très différents selon le type de prolifération néoplasique. Une autre indication est représentée par la nécessité d'identifier l'origine d'une métastase, la tumeur primaire étant jusque-là restée muette.

Pour illustration, le cas d'une femme de 64 ans qui présente une fracture pathologique du col du fémur. Une biopsie osseuse est réalisée et permet de mettre en évidence une métastase d'un carcinome d'origine X. Les examens cliniques et para-cliniques complémentaires ne mettent en évidence aucune tumeur, en particulier pas de tumeur mammaire, pulmonaire ou digestive. Seul un volumineux goitre nodulaire en grande partie calcifié est noté. L'examen de la métastase en immunohistochimie met en évidence une positivité de la majorité des cellules tumorales pour la thyroglobuline. La certitude que cette patiente est porteuse d'un carcinome de la glande thyroïde étant acquise, une thyroïdectomie totale est réalisée et son examen systématique permettra de mettre en évidence un petit carcinome papillaire (diamètre maximal de 0.6 cm avec invasion vasculaire) d'un type particulier. Enfin, la détection de molécules ayant une importance pronostique et/ou thérapeutique représente également une indication largement reconnue pour des examens immunohistochimiques. Le carcinome mammaire est un exemple classique pour illustrer ce fait. D'une part, l'immunohistochimie permet de mettre en évidence la présence ou non de récepteurs hormonaux nucléaires, mais encore de quantifier la proportion de cellules positives. Il est connu de longue date que les tumeurs exprimant les récepteurs aux oestrogènes et à la progestérone ont un meilleur pronostic que celles qui sont négatives.

De plus, ce résultat va déterminer la mise en œuvre ou non d'un traitement aux anti-oestrogènes. Enfin, il a été établi, par exemple, que les tumeurs mammaires qui surexpriment la protéine c-erbB2 (ou HER-2, protéine membranaire) ont un pronostic beaucoup plus sombre, car elles se révèlent généralement résistantes aux traitements oncologiques habituels. Par contre, elles sont susceptibles de répondre positivement à une thérapie ciblée, en deuxième intention, par l'Herceptine®, médicament dont la formule est identique à celle de l'anticorps utilisé en immunohistochimie. L'anticorps

monoclonal MIB-1 (Ki-67) permet de mettre en évidence la fraction des cellules en prolifération, ce qui permet d'évaluer l'activité effective de multiplication cellulaire au sein d'une tumeur, ce qui a un impact certain sur le pronostic.

Dans de très rares situations, l'immunohistochimie permet de distinguer, avec un assez grand degré de fiabilité, entre une prolifération cellulaire bénigne et maligne. C'est le cas par exemple lors d'une prolifération lymphocytaire au sein de laquelle on peut mettre en évidence une monoclonalité des cellules grâce à un antigène dirigé soit contre les chaînes légères, soit contre les chaînes lourdes des IgG.

A noter enfin que l'immunohistochimie est une technique qui se révèle aussi utile en cytopathologie, méthode diagnostique moins invasive et moins coûteuse que l'histopathologie.

4.5. QUELQUES EXEMPLES DE MARQUEURS

Nous allons parler des marqueurs pour les lymphomes et pour les cancers du sein car représentant l'essentiel de notre cohorte.

4.3.1. Cancers du sein [9]

- Récepteurs aux œstrogènes (RO)

Dans les années 1970, **Mc Guire et al.** ont montré l'importance clinique de la quantification des RE comme facteur pronostique et prédictif du bénéfice de l'hormonothérapie dans le cancer du sein. De nombreuses publications ont confirmé que le pourcentage de cellules tumorales exprimant les RE a une valeur pronostique et prédictive importante : la survie globale, la survie sans récurrence et la réponse à l'hormonothérapie sont positivement corrélées au taux de RE. [10, 11]

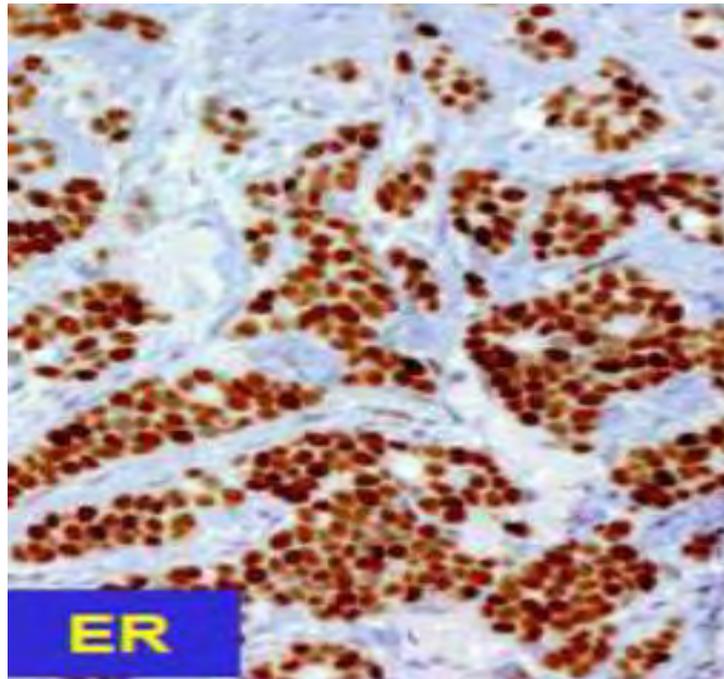


Image N°3 : immunomarquage RO (marquage nucléaire en couleur marron)

- Récepteurs à la progestérone (RP)

L'expression des RP est également un élément important dans l'évaluation du cancer du sein. En effet, plusieurs études ont confirmé une corrélation positive entre le niveau d'expression des RP et la survie globale, la survie sans récurrence et la réponse à l'hormonothérapie et ceci, indépendamment de l'expression des RE.

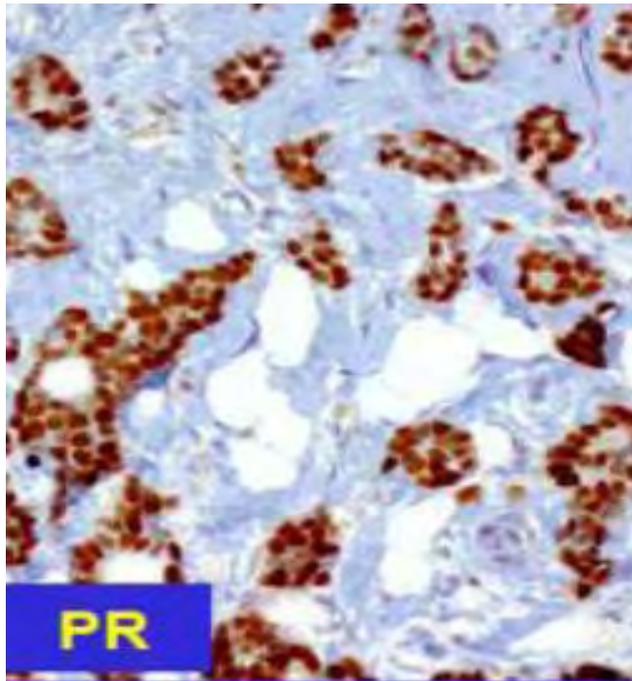


Image N°4 : immunomarquage RP (marquage nucléaire en couleur marron)

- Statut HER2

Le HER2 appartient à la famille des récepteurs aux facteurs de croissance épidermiques. Il existe un score semi-quantitatif permettant de classer le statut HER2 en quatre catégories : 0, 1+, 2+ ou 3+. Une recherche d'amplification par hybridation in situ est nécessaire lorsque le score est 2+.

La surexpression d'HER2, retrouvée dans 10 à 30% des cas, est associée à un mauvais pronostic en termes de survie sans récidence et de survie globale, indépendamment des autres facteurs pronostiques connus.

Le trastuzumab, anticorps monoclonal murin humanisé, a démontré en 2001 son efficacité en situation métastatique avec un bénéfice

important en survie globale puis, en situation adjuvante, pour les cancers du sein surexprimant l'HER2.

L'HER2 est de ce fait prédictif d'une réponse à un traitement ciblé anti-HER2, de même que d'autres molécules anti-HER2, apparues depuis.

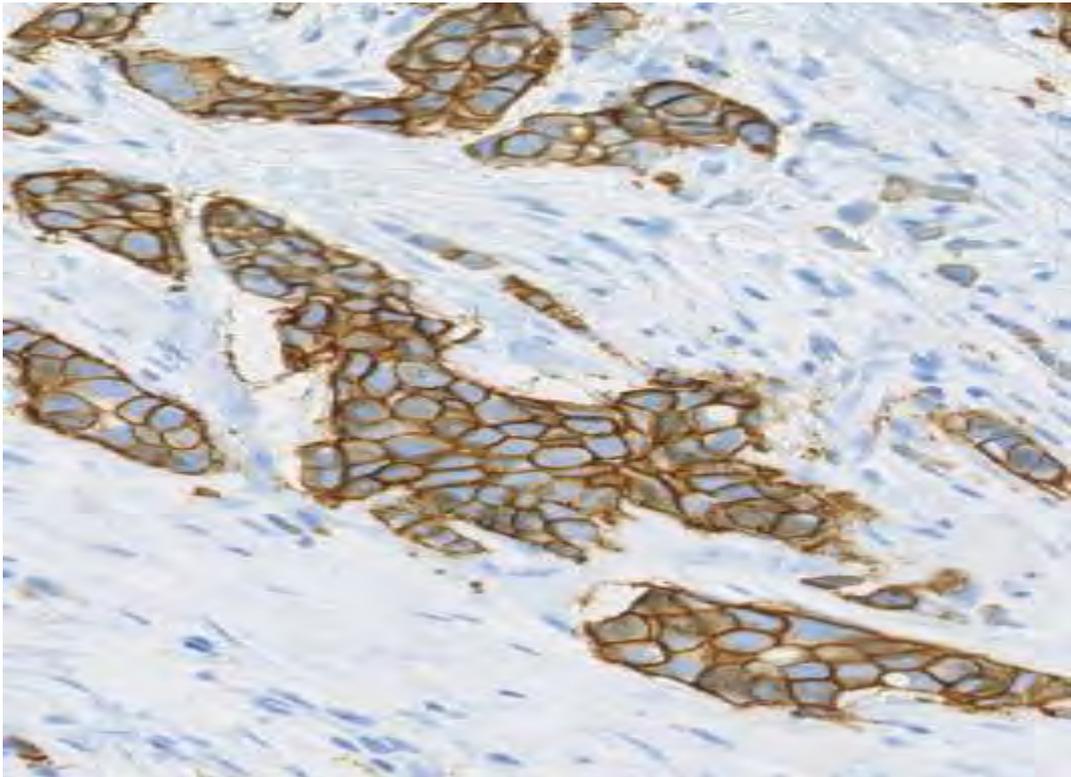


Image N°5 : immunomarquage HER2 / marquage membranaire (score 3+)

- Ki67

Le Ki67 est une protéine nucléaire exprimée durant les phases G1, S, G2 et M du cycle cellulaire mais pas durant la phase de quiescence G0. Son niveau d'expression peut être évalué par le pourcentage de cellules tumorales marquées par un anticorps anti-Ki67 en IHC. En effet, son niveau d'expression est directement corrélé à l'index mitotique et la prolifération tumorale dans un cancer du sein.

Plusieurs études ont validé la valeur pronostique du Ki67 dans le cancer du sein avec un pronostic d'autant plus favorable que sa valeur est basse. Par ailleurs, le Ki67, en association avec l'analyse de l'expression des RE, des RP et de HER2, permet de proposer une classification moléculaire des cancers du sein en pratique clinique. En effet, **Cheang et al. [12]** ont montré que le taux de Ki67 était corrélé avec la signature PAM50 et le sous-type moléculaire luminal A (Ki67 bas) ou B (Ki67 élevé) avec un seuil discriminant de 13,25 %.

Toutefois, sa valeur prédictive de la réponse à la chimiothérapie (CT) n'est pour autant pas établie. En effet, si en situation néoadjuvante, le Ki67 est positivement corrélé à un taux de réponse clinique ou histologique complète, en situation adjuvante, sa valeur prédictive est plus floue.

Il persiste toutefois des difficultés concernant la standardisation des techniques d'IHC, ainsi que la définition d'un seuil de Ki67 du fait de sa variabilité avec une hétérogénéité intra-tumorale spatiale et temporelle et une variabilité de son analyse IHC intra- et inter-observateur et inter-laboratoire. Dans ce contexte, des recommandations internationales ont été formulées en 2015 recommandant d'adapter le seuil de 20 % au niveau médian de Ki67.

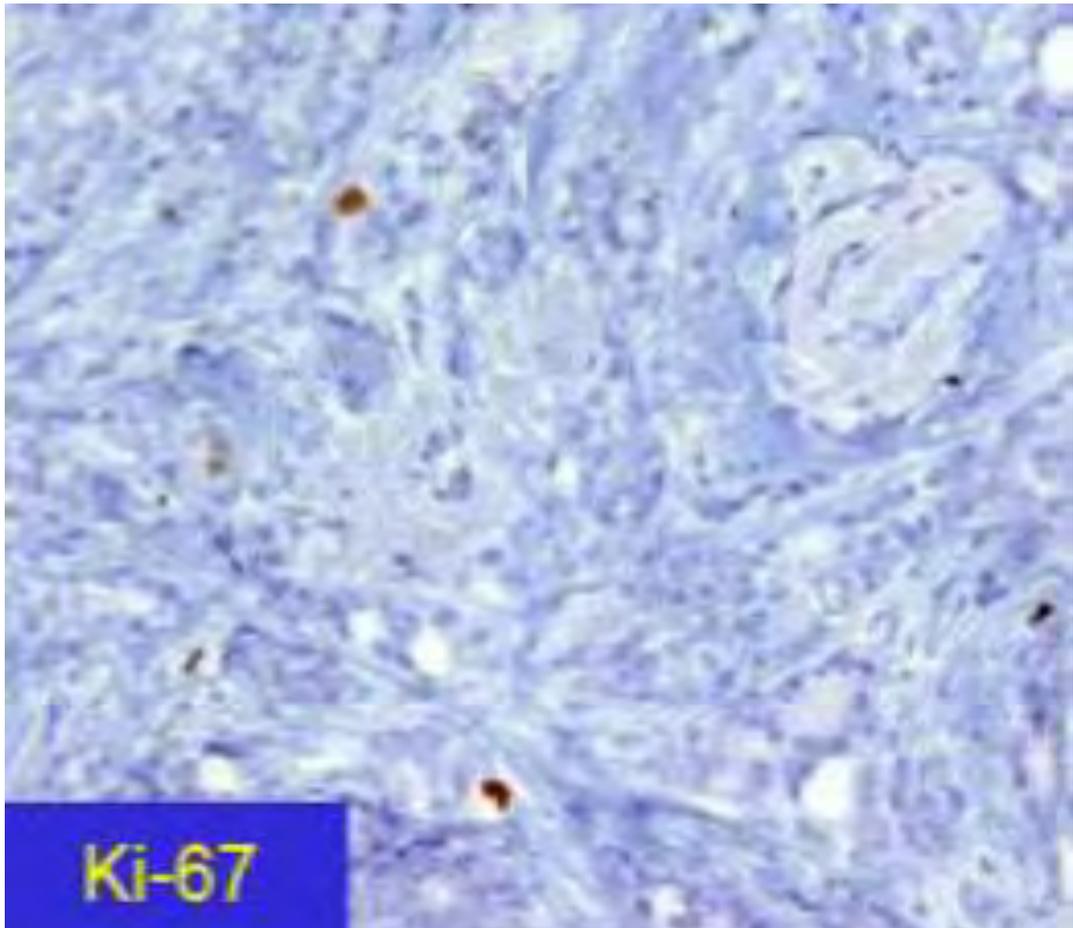


Image N°6 : immunomarquage Ki-67 montrant en coloration brunâtre des noyaux en mitose.

4.3.2. Les lymphomes [5]

- Les marqueurs lymphoïdes B
- le CD20 : Il marque toute la différenciation lymphoïde B à l'exception du plasmocyte.

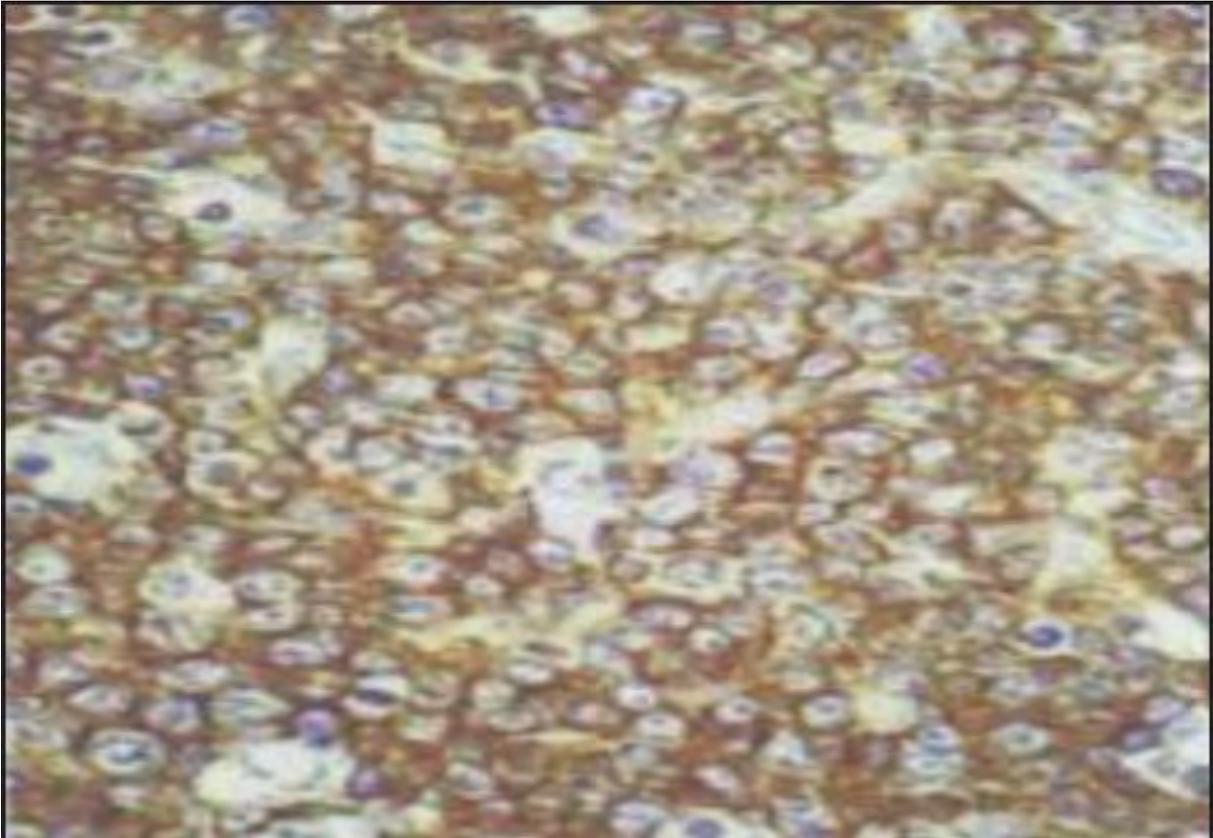


Image N°7 : Coupe d'une pièce de gastrectomie (GX40) avec une coloration positive avec l'AC CD20 se traduisant par une coloration marron ce qui signifie l'existence d'un lymphome B à grande cellule [13]

- le CD79a : Il reconnaît les lymphocytes B depuis les stades les plus immatures (contrairement au CD20 qui est négatif sur les lymphoblastes B) et certains plasmocytes. Il est très utile pour reconnaître les lymphocytes B lorsqu'il y a eu un traitement par

anticorps monoclonal anti-CD20 qui ne permet plus de visualiser les cellules B par un anticorps anti-CD20.

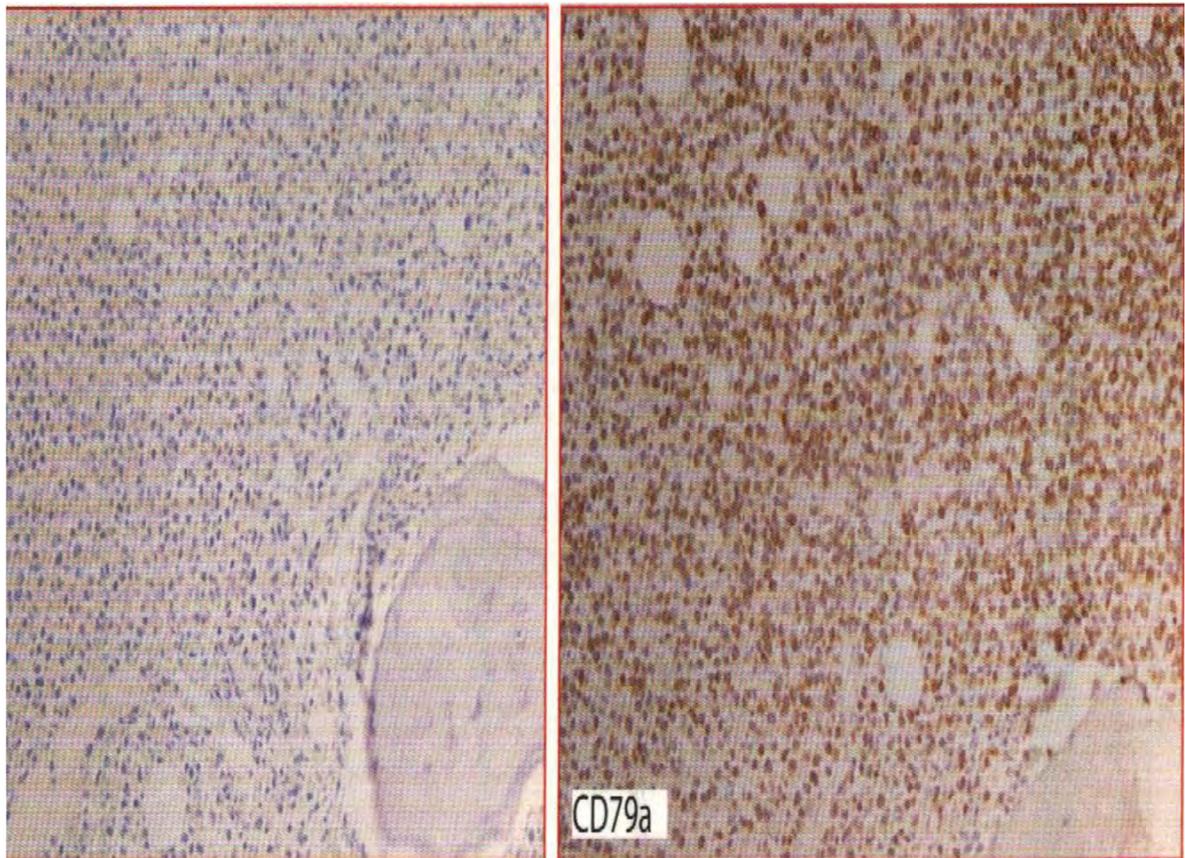


Image N°8 : Biopsie ostéo-médullaire réalisée après traitement par rituximab dans le cadre d'un lymphome à cellule du manteau avec atteinte médullaire massive CD20- et CD79a+ après traitement par anti-CD20 [14]

- le pax 5 : Le Pax-5 est un facteur de transcription des lymphocytes B, exprimé jusqu'au plasmocyte, exclu. Le signal positif est de localisation nucléaire. Il existe une bonne corrélation entre l'expression de CD20 et de Pax-5. L'avantage de Pax-5 est d'être exprimé dès les stades précoces de la différenciation lymphoïde et

dans les cellules tumorales lymphoïdes B ayant perdu le CD20, par exemple après traitement par anti-CD20

- le CD138 : Il marque les plasmocytes mais aussi les cellules épithéliales, dont les hépatocytes. Attention, sur une biopsie médullaire, ne pas confondre métastase et myélome ! Au moindre doute, faire un anticorps anti-cytokératine.
- le CD23 : Il détecte l'antigène CD23 présent à la surface d'une sous-population de lymphocytes B dans les centres germinatifs. Il reconnaît également une sous-population de cellules folliculaires dendritiques.

- Les marqueurs lymphoïdes T

- CD5 : Il est exprimé dans certains types de lymphomes B à petites cellules, le lymphome lymphocytaire / LLC et le lymphome à cellules du manteau. Si ces diagnostics sont suspectés, compléter alors par des anticorps anti-CD23 et anti-Cycline D1.

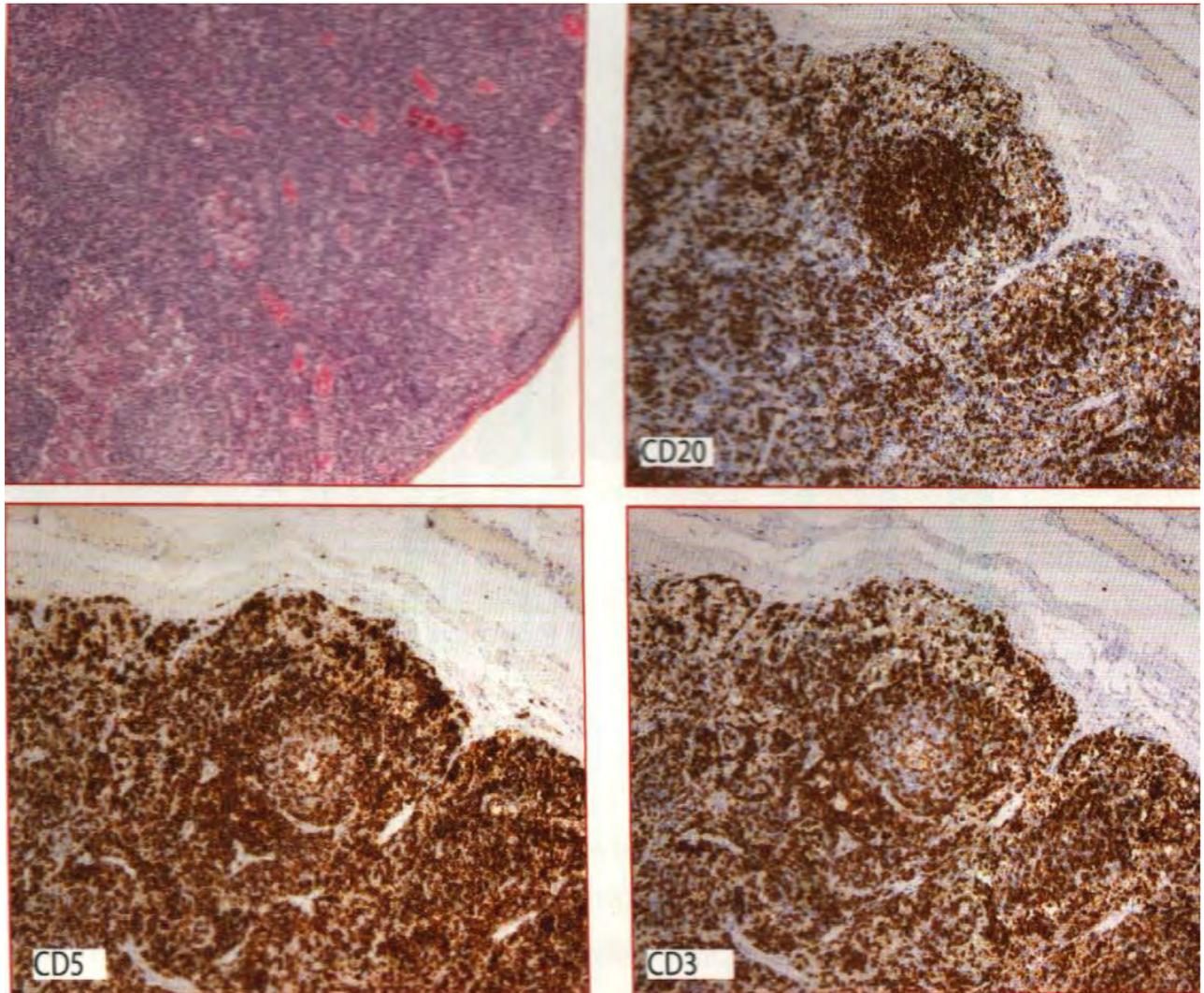


Image N°9 : Biopsie de végétations adénoïdes : répartition normale des populations lymphoïdes B (CD20+) et T (CD5+ et CD3+) [14]

- Le trou phénotypique : par ailleurs, certains lymphomes T présentent un trou phénotypique pour le CD3, le CD5, le CD2 ou le CD7, il est donc intéressant de prescrire ces anticorps d'emblée en cas de suspicion de lymphome T.
- Les protéines du cycle cellulaire et du contrôle de l'apoptose.

- Bcl 2 : La translocation t (14 ; 18) dans les lymphomes folliculaires induit la surexpression de Bcl-2. C'est un marqueur cytoplasmique à prédominance granuleuse. Des hétérogénéités dans le marquage sont souvent présentes. Dans la majorité des cas, l'expression est très forte, un marquage faible ne doit pas être accepté, car il s'associe souvent à des résultats faussement positifs. A savoir aussi que l'expression de Bcl-2 est indépendante de la translocation t(14 ; 18), car les cellules lymphoïdes normales T et B, sauf celles des centres germinatifs expriment Bcl-2. Ainsi les cellules B des follicules lymphoïdes primaires, non stimulés et ne contenant pas de centres germinatifs expriment Bcl-2. Il ne faut donc pas confondre un follicule lymphoïde primaire Bcl-2 positif mais CD10 et Bcl-6 négatif avec un follicule de lymphome folliculaire Bcl-2+, également CD10+ et Bcl-6+.
 - Bcl 6 : Le gène Bcl-6 est localisé sur le chromosome 3 (3q27). C'est un facteur de transcription impliqué dans la différenciation lymphoïde B dans le centre germinatif : expression physiologique par les cellules B du centre germinatif et les lymphocytes T helper folliculaires (TFH). Il est exprimé par les cellules B du centre germinatif, normales et tumorales. C'est un marqueur nucléaire
- Autres marqueurs :
- CD30 : C'est un antigène d'activation des cellules T et B. Il est exprimé sur les lymphocytes B et T activés au cours de la mononucléose infectieuse et des autres pathologies lymphoïdes

associées à l'EBV, sur les plasmocytes, en particulier dans les pathologies dysimmunitaires.

- CD15 : Initialement décrit comme un marqueur des cellules myélo-monocytaires et plus particulièrement de la lignée granuleuse. Il est également présent sur les cellules de Hodgkin et de Reed-Sternberg. Certains DLBCL primitifs du médiastin peuvent exprimer le CD15. Il est positif dans la majorité des cas de LH classique. Il est une aide au diagnostic.
- EMA : L'EMA est exprimé par les cellules épithéliales et par les plasmocytes
- Ki67 : C'est un antigène nucléaire, associé à la prolifération cellulaire.
- Autres CD 10 (CALLA), cycline D1...

4.6. LIMITATIONS [1]

Comme toutes les méthodes, l'immunohistochimie a ses exigences et ses limites. Pour satisfaire aux exigences requises et éviter les pièges, il est bon de rappeler les faits suivants:

- ***Exigences techniques***
 - Tous les anticorps ont une «durée de vie» limitée. Il faut donc pouvoir les stocker dans des conditions adéquates et les utiliser avant la date limite de conservation (risque de faux négatif).
 - Il ne faut soumettre à un tel examen que du tissu bien conservé, l'autolyse ainsi que la conservation prolongée du tissu dans le formol

causant non seulement une dénaturation de l'antigène (à faux négatif) mais encore une diffusion de celui-ci dans les tissus avoisinants pouvant mener à une image ininterprétable (à imprégnation non spécifique).

- La procédure de démasquage des antigènes est cruciale. Que celui-ci se fasse par voie enzymatique ou au moyen d'un four à micro-ondes, il doit être dosé de façon optimale. Un démasquage insuffisant mène à des résultats faux négatifs, un démasquage excessif peut avoir pour conséquence une fausse positivité plus ou moins diffuse.
- La réalisation d'examen immunohistochimiques exige une excellente formation ainsi qu'une discipline rigoureuse de la part des techniciennes et techniciens chargés de leur exécution. Une période d'apprentissage est donc indispensable.

- *Pièges lors de l'interprétation*

- On peut parfois constater une réaction croisée avec d'autres antigènes. De tels résultats faussement positifs doivent être corrigés sur la base des données cliniques et histologiques conventionnelles. Il en va de même pour une fixation non spécifique de l'anticorps aux tissus. La présence dans le tissu examiné d'une activité peroxydase endogène ou d'une affinité particulière pour le complexe avidine-biotine peut être à l'origine de faux positifs.
- La présence de cellules normales au sein d'un tissu tumoral peut amener à de fausses conclusions. Ceci est particulièrement vrai pour les tumeurs des tissus mous. La présence de rares cellules positives pour la desmine (anticorps marquant les cellules musculaires squelettiques) au sein d'un sarcome ne doit pas impérativement mener au diagnostic d'un rhabdomyosarcome.

- *Le prix*

Enfin, comme tout examen, l'immunohistochimie a un prix. Toutefois le prix des anticorps les plus utiles, donc les plus utilisés, a nettement baissé depuis leur introduction. De plus, pour être à même d'effectuer cette technique, il n'est pas nécessaire de disposer d'un nombre considérable d'anticorps

5. CLASSIFICATIONS

5.1. CLASSIFICATION HISTOLOGIQUE DES CANCERS [7]

Depuis le XIXème siècle, les tumeurs sont classées selon leur localisation initiale et leur aspect morphologique et microscopique. Le typage des tumeurs est fondé sur le tissu normal dont elles semblent dériver, et leur caractère bénin ou malin. Cette classification s'aide maintenant des techniques d'immunohistochimie, de cytogénétique et de biologie moléculaire (détection d'anomalies génétiques spécifiques d'un type tumoral).

5.1.1. LES TUMEURS EPITHELIALES

Cellule ou tissu d'origine	Tumeur maligne
Epithélium malpighien	Carcinome epidermoide
Epithélium transitionnel	Carcinome transitionnel
Epithélium glandulaire	adénocarcinome

Tableau N°1 : Classification des tumeurs épithéliales malignes

5.1.2. LES TUMEURS CONJONCTIVES

Cellule ou tissu d'origine	Tumeur maligne
Fibroblastes	fibrosarcome
Cellules musculaires lisses	Léiomyosarcome
Cellules musculaires striées	Rhabdomyosarcome
Adipocytes	liposarcome
Cellules endothéliales	angiosarcome
Cellules cartilagineuses	chondrosarcome
Cellules osseuses	ostéosarcome

Tableau N°2 : Classification des tumeurs conjonctives malignes

5.1.3. TUMEURS TISSUS HEMATOPOIETIQUES

Cellule ou tissu d'origine	Tumeur maligne
Lymphocytes	Syndromes lympho-prolifératifs Lymphomes non Hodgkiniens
Myéloïdes	Syndromes myéloprolifératifs

Tableau N°3 : tumeurs des tissus hématopoïétiques

5.1.4. QUELQUES TUMEURS DERIVEES D'AUTRES TISSUS

Cellule ou tissu d'origine	Tumeur maligne
Mélanocyte	Mélanome
Mésothélium	Mesotheliome malin
Tissu méningé	
Nerf périphérique	Tumeur maligne des gaines nerveuses périphériques
Cellule gliale	

Tableau N°4 : les tumeurs dérivées d'autres tissus

5.1.5. TUMEURS DU TISSU GERMINAL ET DES ANNEXES EMBRYONNAIRES

Cellule ou tissu d'origine	Tumeur maligne
Gonies	séminome
Sac vitellin	Tumeur du sac vitellin
Placenta	choriocarcinome
Disque embryonnaire	Carcinome embryonnaire
Complexes (pluritissulaires)	Tératome immature (malin)

Tableau N°5 : tumeurs du tissu germinale et des annexes embryonnaires

5.1.6. TUMEURS DU BLASTÈME EMBRYONNAIRE

Cellule ou tissu d'origine	Tumeur maligne
Nerveux	Neuroblastome
Rénal	Néphroblastome
Hépatique	Hépatoblastome

Tableau N°6 : tumeurs du blastème embryonnaire

5.2 CLASSIFICATION DES LYMPHOMES [5]

Classification OMS 2008 des lymphomes

Cette classification est reproductible, consensuelle et universellement utilisée. Elle a été validée par de multiples études internationales et est aujourd'hui la seule référence, le « gold standard » de la nomenclature : tout lymphome doit aujourd'hui être dénommé selon cette classification.

La classification OMS est en perpétuelle évolution afin de prendre en compte les plus récentes découvertes. Dans sa version 2008, elle a intégré par exemple la classification de l'EORTC des lymphomes cutanés.

LYMPHOMES B	LYMPHOMES T et NK
<p>Prolifération de Cellules B « précurseurs » Lymphome /leucémie lymphoblastique B Proliférations B matures (périphériques) Leucémie lymphoïde chronique (LLC) B / Lymphome lymphocytaire Leucémie prolymphocytaire B Lymphome splénique de la zone marginale Leucémie à tricholeucocytes <i>Lymphome B splénique/leucémie inclassable</i> Lymphome lymphoplasmocytaire Maladies des chaînes lourdes Tumeurs plasmocytaires Lymphome de la zone marginale extra-ganglionnaire du MALT (lymphome du MALT) Lymphome de la zone marginale ganglionnaire Lymphome folliculaire Lymphome primitif cutané centro-folliculaire Lymphome à cellules du manteau Lymphome diffus à grandes cellules B Lymphome B à grandes cellules riche en cell T/histiocytes Lymphome B à grandes cellules du SNC Lymphome B à grandes cellules primitif cutané de type jambe <i>Lymphome B à grandes cellules EBV+ du sujet âgé</i> Lymphome B à grandes cellules associé à une inflammation chronique Granulomatose lymphomatoïde Lymphome B à grandes cellules du médiastin (thymique) Lymphome B à grandes cellules intravasculaire Lymphome B à grandes cellules ALK+ Lymphome plasmoblastique Lymphome B à grandes cellules associé à une maladie de Castelman multicentrique HHV8+ Lymphome primitif des séreuses Lymphome de Burkitt / leucémie de Burkitt Lymphome B, inclassable, avec aspects intermédiaires entre un lymphome diffus à grandes cellules B et un lymphome de Burkitt Lymphome B, inclassable, avec aspects intermédiaires entre un lymphome diffus à grandes cellules B et un lymphome de Hodgkin</p>	<p>Prolifération de cellules T « précurseurs » Lymphome /leucémie lymphoblastique T Proliférations T matures (périphériques) Leucémie prolymphocytaire T Leucémie lymphocytaire T à gros grains <i>Syndromes lymphoprolifératifs chroniques à cellules NK</i> Leucémie agressive à cellules NK Syndromes lymphoprolifératifs T EBV+ de l'enfant Leucémie/lymphome T de l'adulte (HTLV1+) Lymphome NK/T extra-ganglionnaire, de type nasal Lymphome associé à une entéropathie Lymphome T hépatosplénique Lymphome T sous-cutané de type panniculite Mycosis fongoïde Syndrome de Sézary Syndromes lymphoprolifératifs T CD30+ primitifs cutanés Lymphomes T primitifs cutanés, de sous-type rare Lymphomes T primitifs cutané gamma-delta <i>Lymphomes primitifs cutanés agressifs epidermotropes CD8+ cytotoxiques</i> <i>Lymphomes primitifs cutanés CD4+</i> Lymphomes T périphériques sans autre précision Lymphome T angio-immunoblastique Lymphome à grandes cellules anaplasiques ALK+ Lymphome à grandes cellules anaplasiques ALK-</p>

Tableau N°7 : Classification des lymphomes

5.3 CLASSIFICATION MOLECULAIRE DES CANCERS DU SEIN

5.3.1 Les tumeurs lumineales [9]

- **Le sous-type luminal A** : représente 50 à 60 % des cancers du sein. Il s'agit de tumeurs de bas grade, avec un faible degré de polymorphisme nucléaire et une faible prolifération. Ce sous-type comprend des types histologiques spécifiques (tubuleux, cribriforme, mucineux. . .) de bon pronostic. Ces tumeurs sont également caractérisées par des taux de récepteurs hormonaux élevés et homogènes, la négativité de p53 et d'HER2. On retrouve également dans ce sous-groupe de faible niveau d'expression des gènes liés à la prolifération. Ces tumeurs expriment les CK 8, 18 et d'autres marqueurs lumineux (RE et gènes associés: LIV1, FOXA1, XBP1, GATA3, BCL2, Her3 et Her4). En immunohistochimie, le sous-type luminal A est défini par des récepteurs aux estrogènes et/ou à la progestérone positifs, un statut Her2 négatif et un index de prolifération Ki67 bas. Les tumeurs lumineales A sont de meilleur pronostic que les autres sous-types. Les patients présentant ce sous-type sont ceux qui bénéficient le plus d'une hormonothérapie.

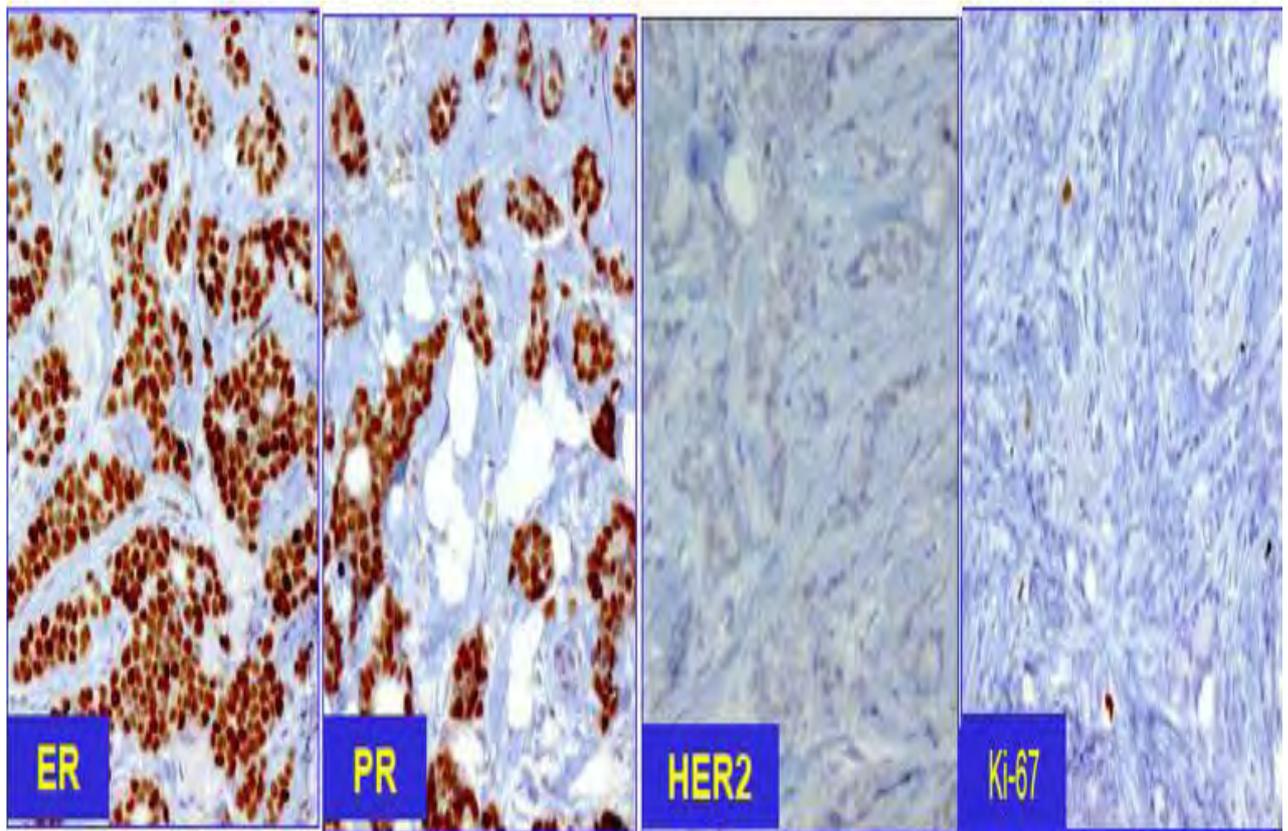


Image N°10 : profil immuno-histochimique du sous-type luminal A

- **Le sous-type luminal B** : représente 15 à 20 % des cancers du sein et présente un phénotype plus agressif. Ces tumeurs sont souvent de plus haut grade histologique avec un index de prolifération plus élevé et un pronostic plus péjoratif. Ce sous-type présente un risque de récurrence plus élevé et un taux de survie après récurrence plus bas que pour le sous-type luminal A. Ces tumeurs présentent un certain degré d'instabilité génomique. Elles sont hormonosensibles mais bénéficient également de la chimiothérapie, voire d'une thérapie anti-Her2 quand elles surexpriment Her2. En immunohistochimie, le sous-type luminal B est défini comme RE positif, Her2 négatif et Ki67 élevé ou RE et Her2 positifs. En effet, 30 % des tumeurs Her2 positives appartiennent au sous-type luminal B. Cependant, 6 % des sous-

types luminaux B sont RE négatifs et Her2 négatifs, et c'est là une des failles de cette classification.

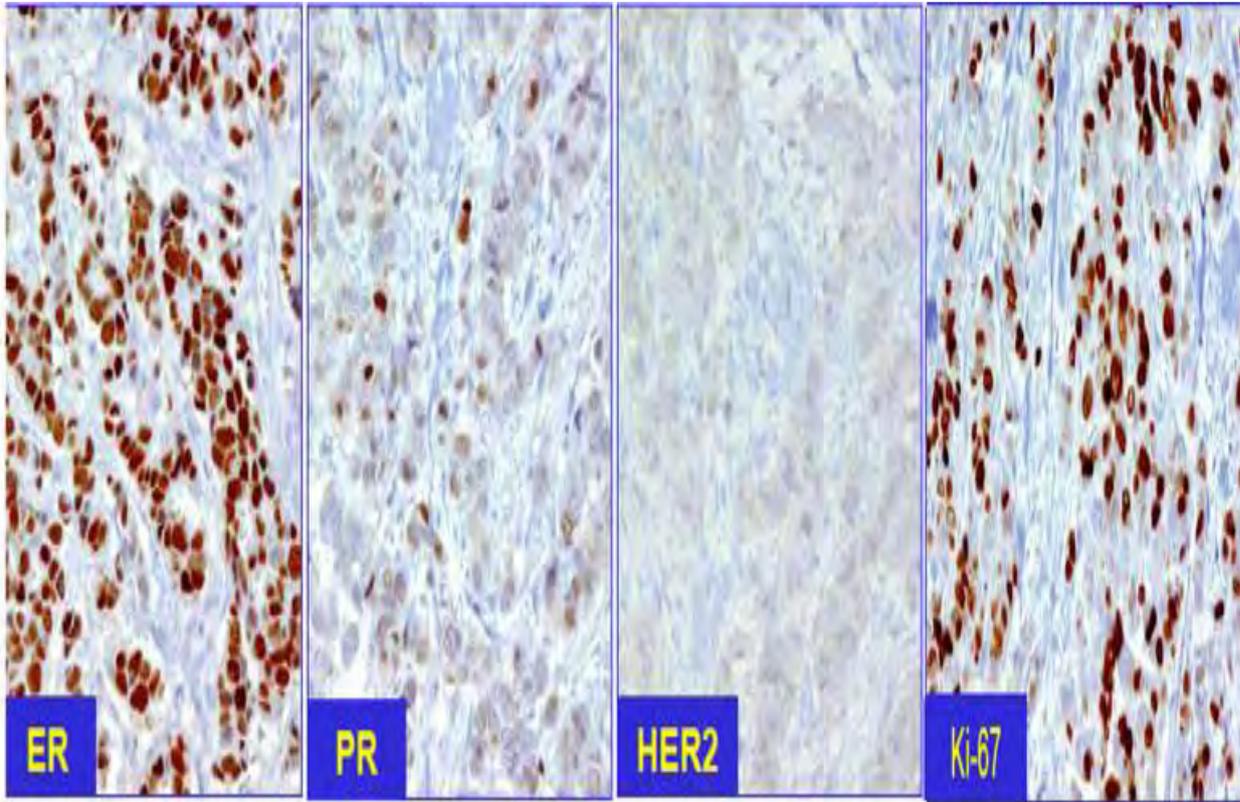


Image N°11 : profil immuno-histochimique du sous-type luminal B

- **Les tumeurs Her2 like ou Her « enrichies »** : représentent 15 à 20 % des cancers du sein. Le statut Her2 positif confère une agressivité biologique et clinique. Ces tumeurs sont caractérisées par une forte surexpression de plusieurs gènes de l'amplification Her2 et une négativité des récepteurs hormonaux. Le récepteur Her2 est codé par le gène Her2 qui est un pro-oncogène situé sur le chromosome 17. Ce sont des tumeurs hautement proliférantes avec un grade histopronostique élevé et fréquemment des mutations p53. Le profil immunohistochimique Her2 positif et RE négatif ne correspondent pas tout à fait au sous-type moléculaire puisque seuls 70 % des tumeurs Her2 enrichies par puces à ADN surexpriment la protéine en immunohistochimie. À l'inverse, toutes les tumeurs avec amplification ou surexpression d'Her2 ne sont pas incluses dans le cluster Her2 par puces à ADN.
- **Les tumeurs basal-like** : représentent 10 à 20 % des cancers du sein. Elles sont définies par l'absence d'expression des récepteurs hormonaux et d'Her2 et le raccourci « triple-négatif » résume souvent ce sous-groupe. La dénomination triple négatif correspond à une définition immunohistochimique (RE, RP et Her2 négatifs) tandis que le sous-type basal-like est défini par un profil d'expression génique, il est souvent associé à un grade histopronostique élevé et à un mauvais pronostic.

Ces tumeurs expriment fortement les marqueurs myoépithéliaux (CK de haut poids moléculaire) et/ou le récepteur à l'EGF (Epidermal Growth Factor) et/ou cKit). Elles présentent une importante instabilité génétique. Elles semblent être plus sensibles à des molécules provoquant des cassures dans l'ADN (sels de platine, agents alkylants...) et à celles empêchant la réparation de l'ADN par recombinaison homologe (inhibiteurs de PARP). Soixante-dix

pour cent des cancers du sein chez les porteuses de mutations BRCA1 sont triple négatifs, souvent de sous-type basal-like. Parmi ces tumeurs basales, on retrouve donc les tumeurs avec mutation BRCA1 mais aussi les tumeurs métaplasiques (très agressives), les carcinomes médullaires et les carcinomes adénoïdes kystiques (de bon pronostic).

- **Claudin-low** : Ces tumeurs sont caractérisées par l'absence d'expression des marqueurs luminaux, la faible ou absence d'expression des protéines de jonction et d'adhésion cellulaire (E Cadherine, Claudins 3, 4, 7) et par la surexpression des gènes de la réponse immune. Elles sont typiquement triples négatives, ce en quoi elles se rapprochent du sous-groupe basal-like. L'identification du sous-type claudin-low permet de générer des hypothèses sur le développement tumoral. Ce sous-type serait le type tumoral dérivé des cellules-souches mammaires, alors que les autres tumeurs basales dériveraient de progéniteurs luminaux aberrants.

Sous-types	Incidences	IHC	Pronostic
Luminal A	50-60%	RE+ et/ou RP+ HER2 - , Ki67 bas	Bon
Luminal B	15%	RE+ et/ou RP+ HER2 - , Ki67 élevé	Intermédiaire
Basal like	10 – 20%	RE négatif, RP négatif, HER2 négatif	Péjoratif
HER2 positif	15-20 %	RE négatif, RP négatif, HER2 surexprimé ou amplifié	Péjoratif
Claudin low	12 - 14%	RE négatif, RP négatif, HER2 négatif	Péjoratif

Tableau N°8 : caractéristiques des sous types moléculaires de cancer du sein



**DEUXIEME PARTIE :
NOTRE ETUDE**

1. CADRE DE NOTRE ETUDE

Il s'agit du laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologiques de l'Hôpital Principal de Dakar. Les locaux sont répartis comme suit :

- Les locaux pour la technique de macroscopie, d'histologie et de cytologie. Ces locaux se trouvent mitoyens à ceux du centre de prélèvement et de dons de sang.
- Le bureau du chef de service se trouvant au sein de la Fédération des Laboratoires
- Deux bureaux pour les spécialistes et assistant dans les locaux de la « Résidence » (médecine du personnel).

Le personnel est formé de :

- Du chef de Service
- De 2 médecins spécialistes du Service de Santé des Armées
- Un médecin assistant du Service de Santé des Armées
- 4 techniciens
- Une secrétaire
- Un technicien de surface

2. MATERIELS ET METHODES

2.1. Matériels

L'essentiel du matériel de laboratoire se résume comme suit :

- Une station de macroscopie
- Deux deshydratateurs
- Une station d'enrobage
- Deux microtomes manuels
- Un bain Marie

- Un automate de coloration
- Un automate de frottis en milieu liquide
- Quatre microscope avec camera
- Quatre ordinateurs de travail
- Un automate d'immunohistochimie



Image N°12 : Automate d'immunohistochimie

Le matériel spécifique à l'immunohistochimie manuelle s'établit comme suit :

- Réactifs :
 - Des anticorps primaires spécifiques aux molécules d'intérêt
 - Un kit de révélation
 - Un chromogène
- Tampons :
 - Xylène
 - Bains d'alcool à 70, 80 et 95%
 - Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

- Tris EDTA, tris HCL
- Tween-20
- Autres :
 - Des pipettes et un pipet-aid
 - Bain-marie

2.2. Méthode

2.2.1. Mode opératoire

L'immunohistochimie est réalisée en première intention de manière automatisée et en seconde intention de manière manuelle.

Dans les détails il faudra :

2.2.1.1 Pour la méthode manuelle

○ Le déparaffinage

Après avoir effectué des coupes de 3µm (sur les étapes obtenues selon de technique d'histologie), le ruban issu est mis sur des lames sialinisées puis on effectue l'étalonnage de la même façon que celle de la technique d'histologie.

- Les lames sont mises dans l'étuve à 37C° durant 24heures pour le séchage.
- Mettre les lames sur un portoir.
- Transférer les dans le xylène pendant 20min puis dans l'éthanol pour 20min selon la concentration décroissante et enfin dans l'eau distillée pendant 5min.

○ Le démasquage

Le démasquage se fait par la chaleur, au bain marie, mais avant tout, la préparation d'une solution de démasquage est nécessaire pour faire démasquer l'antigène. Dans de nombreux cas les Ag tissulaire sont peu ou pas accessibles :

soit ils sont entourés ou masqués par d'autres molécules, soit ils sont dans une configuration, non reconnue par l'anticorps. Le traitement par la chaleur entraîne une amélioration du marquage et permet une meilleure révélation.

Le démasquage se fait par plusieurs étapes :

- Chauffer le bain marie à 93C°.
- Remplir deux bacs par la solution de démasquage l'une à pH=6, l'autre pH=9.
- Mettre les bacs dans le bain marie.
- Transférer le portoir des lames dans la solution de démasquage.
- laisser agir pendant 40min.
- Retirer le bac du bain marie.
- laisser refroidir sur la paillasse pendant 20min.
- Mettre les lames salinisées sur dans l'eau distillée pendant 10min, puis dans le TBS pendant 5min.

○ **L'immunomarquage**

Cette étape est précédée par une préparation d'une chambre humide, afin d'éviter le séchage de nos fragments .L'immunomarquage comporte, plusieurs étapes ; on entame le blocage des peroxydases endogènes :

- entourer le prélèvement par Dako Pen (un stylo de paraffine qui permet de cercler l'échantillon sur la lame).
- Additionner un inhibiteur des peroxydases comme le H₂O₂ (peroxyde d'hydrogène) pendant 10mn, puis le rinçage avec l'eau distillé pendant 5min, et 5min pour le rinçage au TBS.

- Additionner de l'anticorps primaires (100ul) qui dépend de la nature de l'Ag, incuber en chambre noire pendant 30min ou plus selon le temps de pause de chaque anticorps, on rince les lames avec l'eau pour 5min, puis avec le TBS pendant 5min.
- additionner l'anticorps secondaire et incuber en chambre noire pendant 30min, puis 2 rinçages (eau, TBS), pendant 10min.

Après lavage on va établir un système de révélation qui se déroule selon les composants, et les étapes suivantes :

- Ajouter le DAB (50ul) dilué dans un 1ml et laissé agir pendant 10min en chambre noire, puis le rinçage avec (l'eau, TBS) pendant 15min.

Après on réalise une contre coloration à l'hématoxyline pendant 5min, on fait le lavage pendant 10 min.

○ **Montage**

Cette étape représente la dernière phase de préparation des lames. Elle consiste à poser des lamelles sur des lames pour les protéger et faciliter leur observation au microscope.

- Récupérer les lames puis les sécher.
- déposer une goutte de kit de montage sur les lamelles, ensuite on met les lamelles sur les lames délicatement pour éviter les bulles d'air.
- laisser les lames par la suite dans l'étuve pour le séchage.

○ **Lecture au microscope**

La lecture se fait au microscope optique de préférence au grossissement 40.

2.2.1.2. La méthode automatisée

Elle se fait selon le même principe que la méthode manuelle. Dans celle-ci après confection des lames blanches sur lames de type Superfrost, elles sont étiquetées avec des code bar imprimées après sélection sur l'ordinateur relié à l'automate d'immunohistochimie. Sur cette dernière au préalable, les bacs Ez Prep, LCS, 2X SSC, Buffer, CC1, CC2 et Option sont remplis. Les lames sont

placées sur le plateau de l'automate et les différents réactifs (primaires et secondaires) à leurs emplacements. L'automate est lancé à partir de l'ordinateur configuré à cet effet. Et ainsi les phases de démasquage et d'immunomarquage sont effectuées automatiquement. A la fin de cette opération automatisée qui dure environ deux heures 30 min, les lames sont retirées du plateau et vont ainsi passer manuellement par les différents bacs :

- Buffer pendant 10 mn
- Eau savonneuse pendant 30 mn
- Les trois bacs d'alcool pendant 5 mn chacun
- Les deux bacs de toluène pendant 2 mn chacun.

Après ces étapes le montage des lamelles peut se faire. La dernière étape consistera à la lecture au microscope.

2.2.1.3. Immunomarquage cancers du sein et les lymphomes

Que ce soit pour les cancers du sein et le lymphome la technique reste la même en méthode manuelle comme automatisée (décrite en sus). La seule différence est la sélection des anticorps primaires. Les anticorps secondaires sont les mêmes.

Les anticorps primaires disponibles pour le cancer du sein :

- Confirm anti-ER (SP1)
- Confirm anti-PR (1 E2)
- Ventana anti-HER2/NEU (4B5) rabbit mono
- Confirm anti-KI-67 (30-9) rabbit mono

Les anticorps primaires disponibles pour les lymphomes :

- Cell marque bcl-6
- Confirm anti CD-15 (MMA)
- Confirm anti CD-20 (L26) PAB
- Confirm anti CD-23 (SP23) rabbit monoclon
- Confirm anti CD-3 (2GV6) rabbit monoclon

- Confirm anti CD-5 (SP19) rabbit mono
- Confirm bcl-2 (5124) Mab
- Confirm anti CD-45 (LCA) (RP2/18) PAB
- Confirm anti-KI-67 (30-9) rabbit mono
- Confirm anti-CD30 (Ber-H2)
- Confirm anti-CD34 (QBend/10) Primary Ant
- Ventana anti-CD10 (SP67)
- Confirm EMA (E29) Mouse mAb

2.2.2. Période et type d'étude

C'est une étude rétrospective sur 7 ans s'étalant entre janvier 2013 et décembre 2019.

2.2.3. Population d'étude

2.2.3.1. Critères d'inclusion

Etaient inclus dans notre étude tous les prélèvements ayant bénéficié d'un examen immunohistochimique.

2.2.3.2. Taille de l'échantillon

L'étude porte sur 187 prélèvements.

2.2.4. Variables étudiées

Les variables étudiées sont tous les paramètres contenus dans le compte rendu immuno-histochimique:

- Âge
- Sexe
- Latéralité
- Type de prélèvement
- Type et grade histologiques
- Profil immunohistochimique

3. RESULTATS

3.1. Cancer du sein

L'échantillon porte sur un nombre de 136 prélèvements de cancer du sein.

3.1.1. Etude descriptive de l'échantillon

3.1.1.1. Répartition des prélèvements selon l'année

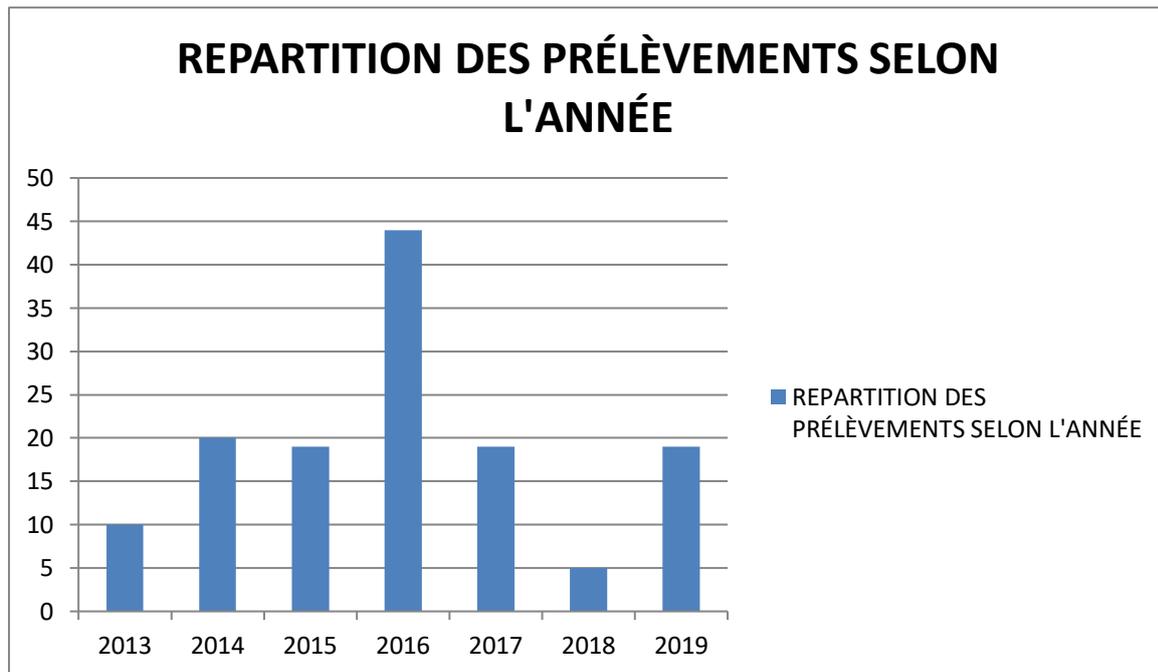


Figure N°1 : Répartition des prélèvements selon l'année

3.1.1.2. Répartition selon l'âge

L'âge moyen était de 55,5 ans avec des extrêmes allant de 26 à 75 ans. L'étude de la distribution de la population en fonction de l'âge montre une prédominance des patients âgés entre 40 et 49 ans (Figure N°2).

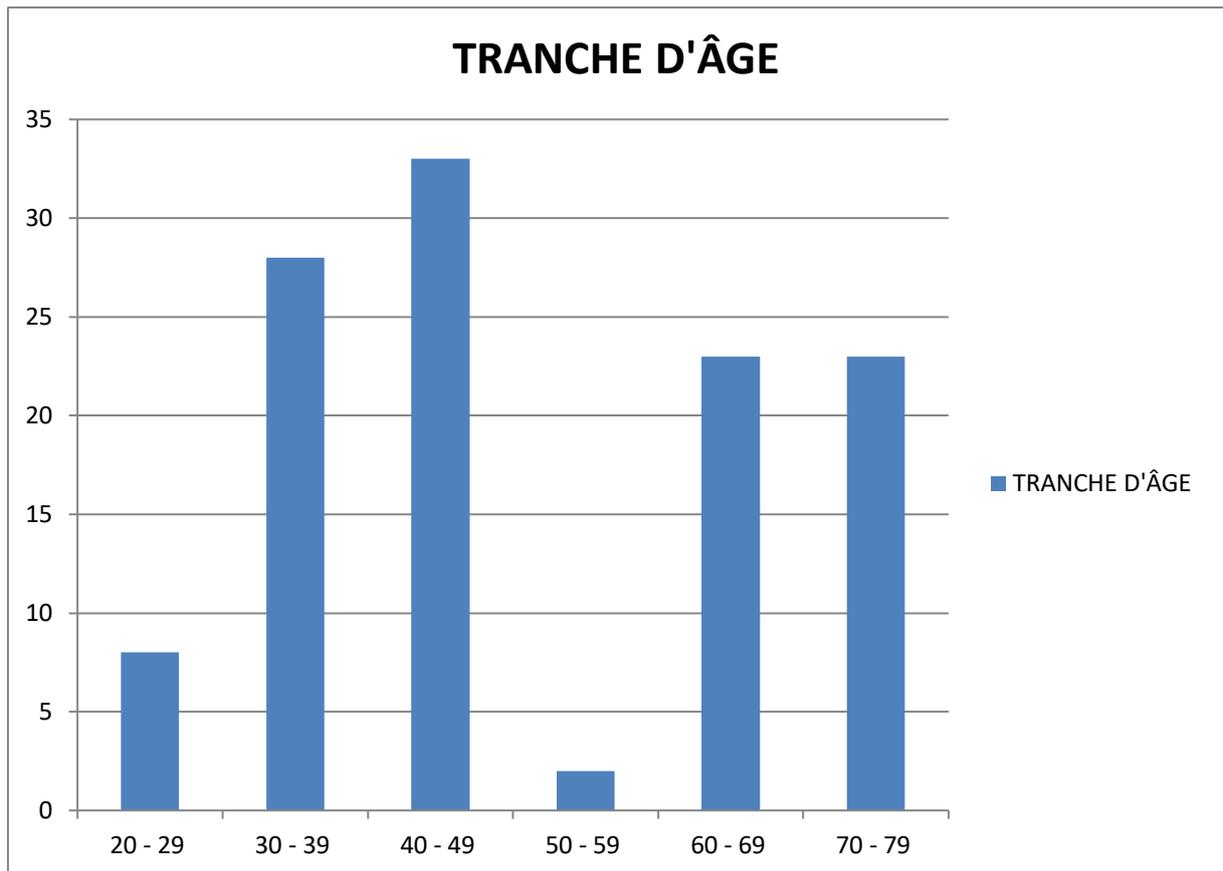


Figure N°2 : distribution de la population en fonction de l'âge.

3.1.1.3. Répartition selon le sexe

Le sexe féminin était largement prédominant dans la répartition des tumeurs du sein. Il est dénombré 3 hommes pour 106 femmes soit un sex ratio de 0,028.

3.1.1.4. Selon la latéralité

L'étude n'a pas montré de prédilection pour un coté ou un autre (figure N°3).

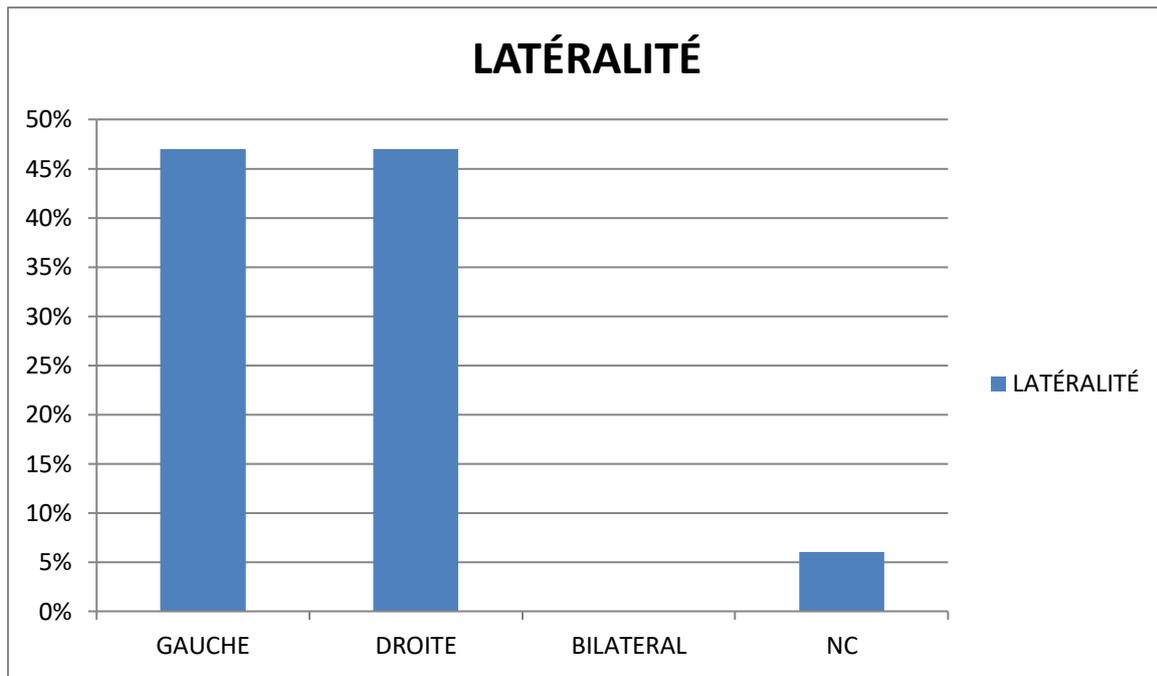


Figure N°3 : répartition des tumeurs en fonction de la latéralité

3.1.1.5. Selon le type de prélèvement

Les biopsies étaient largement majoritaires représentant plus de 78% des prélèvements suivies des mastectomies avec 12,6% (figure N°4).

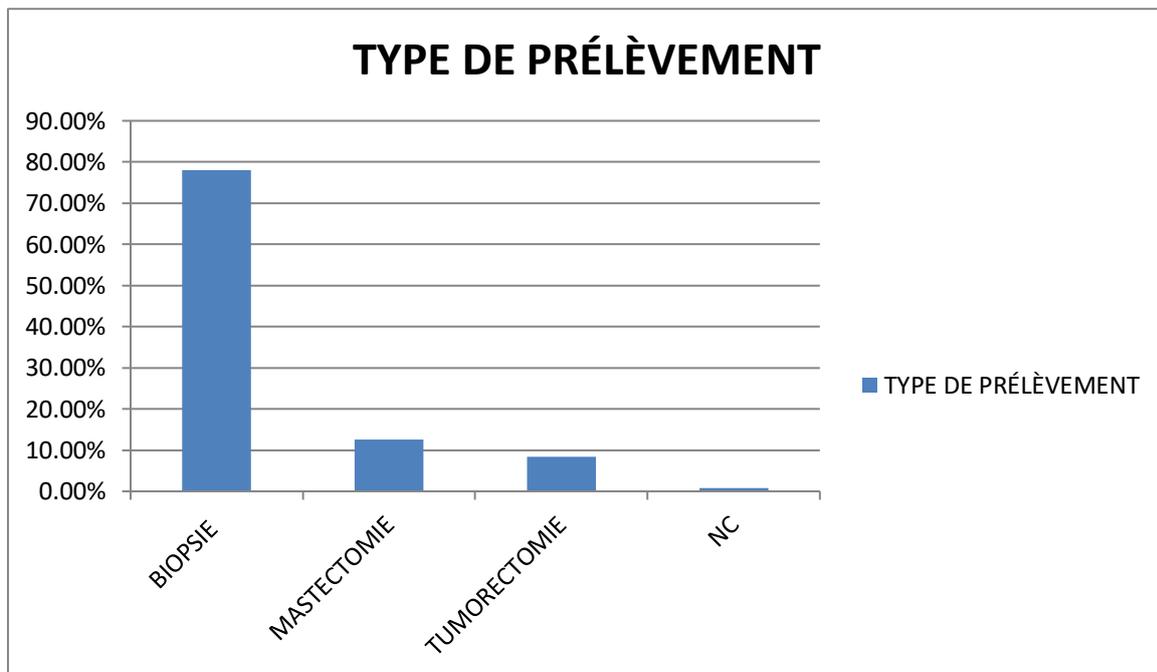


Figure N° 4 : Répartition selon le type de prélèvements

3.1.1.6. Selon le type histologique

Le CCI était de loin le type histologique prédominant (figure N°5).

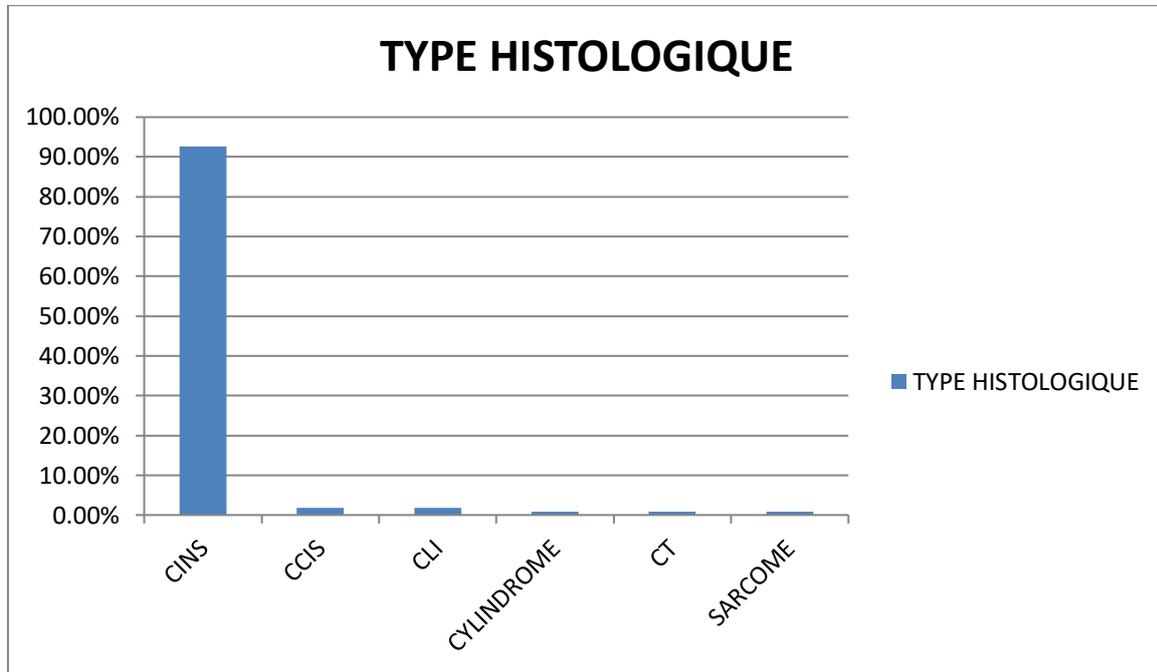


Figure 5 : répartition selon le type histologique

3.1.1.7. Le grade SBR

Les tumeurs de grade II SBR se placent en première position avec un pourcentage de 51% des cas, suivies par les tumeurs de grade I à 44%, viennent ensuite les tumeurs de grade III à 5% (Figure N°6).

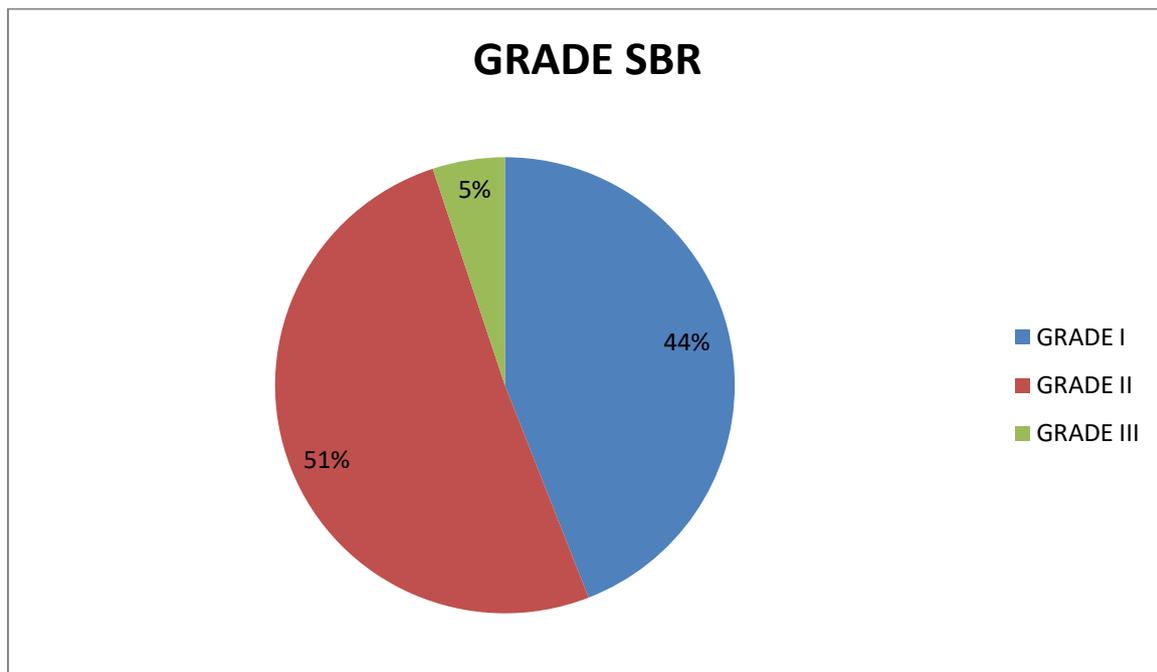


Figure N°6 : Répartition selon le grade SBR

3.1.1.8. Profil d'expression des récepteurs hormonaux et HER2

A l'étude immunohistochimique, les cellules tumorales étaient positives dans 58% pour les récepteurs aux œstrogènes (RE), dans 61% pour les récepteurs à la progestérone (RP), dans 33% pour l'HER-2 et 48,52% pour le Ki-67 (Figure N°7)

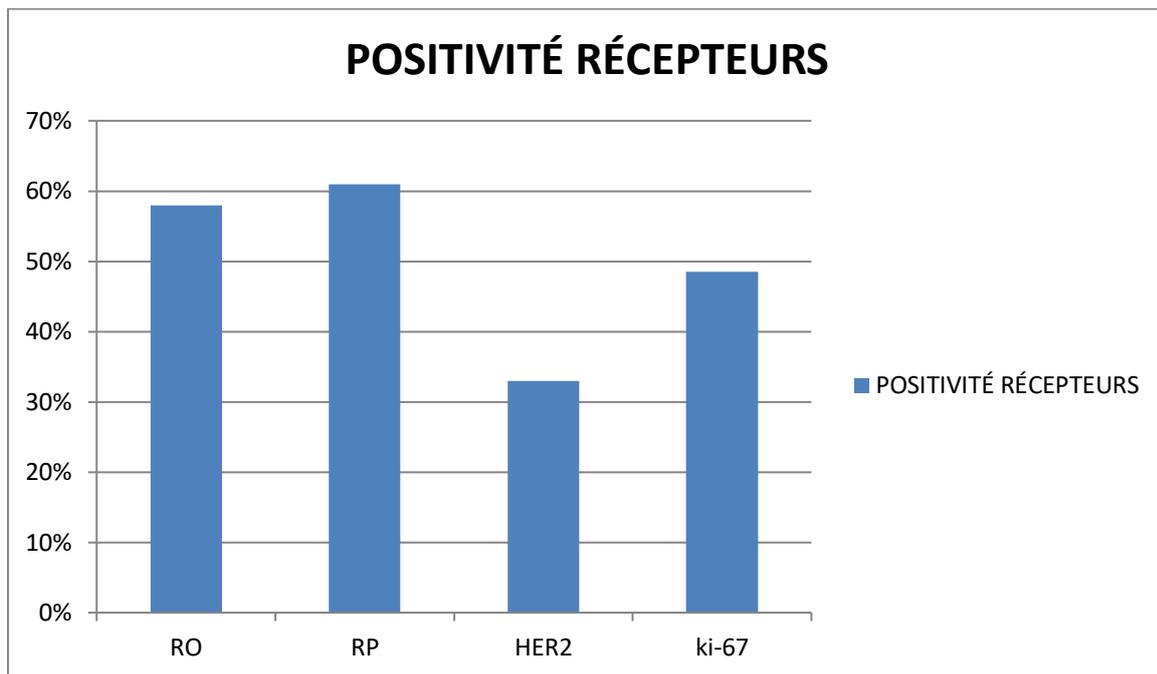


Figure N°7 : Répartition selon le profil immunohistochimique

3.1.2. Etude analytique de l'échantillon

La classification moléculaire du cancer du sein a permis de répartir les cas étudiés selon 4 groupes distincts : 16,91% des tumeurs appartiennent au groupe luminal A, 16,17% au groupe luminal B, 6,61 % au groupe HER-2, 17,64% au groupe Basal et 42,64% au groupe NC (Figure N°8).

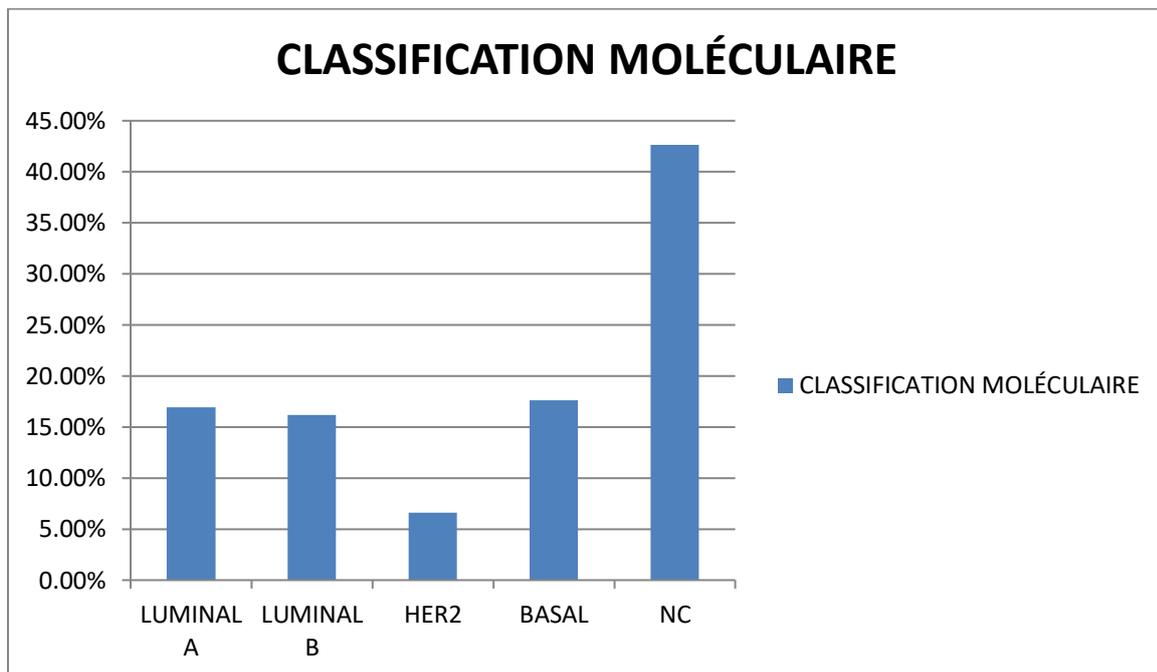


Figure N° 8 : Répartition des tumeurs selon la classification moléculaire : classées et non classées

En ne tenant en compte que des « cas classés », nous aurons 29,48% des tumeurs dans le groupe luminal A, 28,20% au groupe luminal B, 11,53 % au groupe HER-2, 30,76% au groupe Basal (Figure N°9).

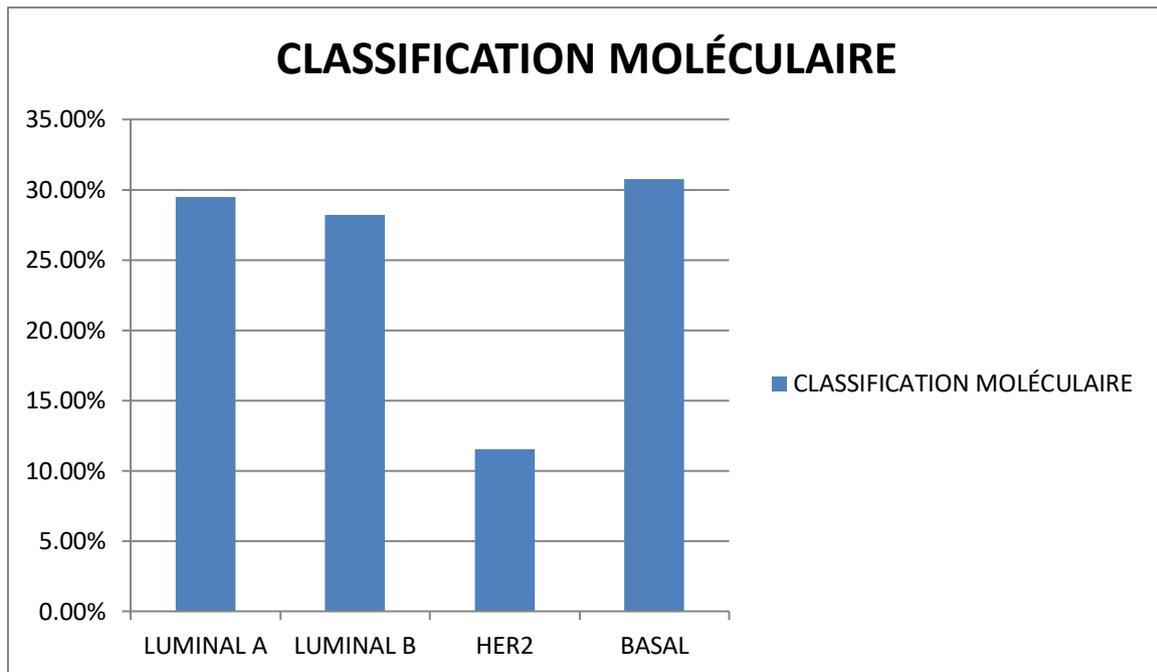


Figure N° 9 : Répartition des tumeurs selon la classification moléculaire : classées uniquement

3.1.2.1. Selon l'âge

La répartition des tumeurs en fonction du type tumoral et en fonction de l'âge moyen était relativement homogène.

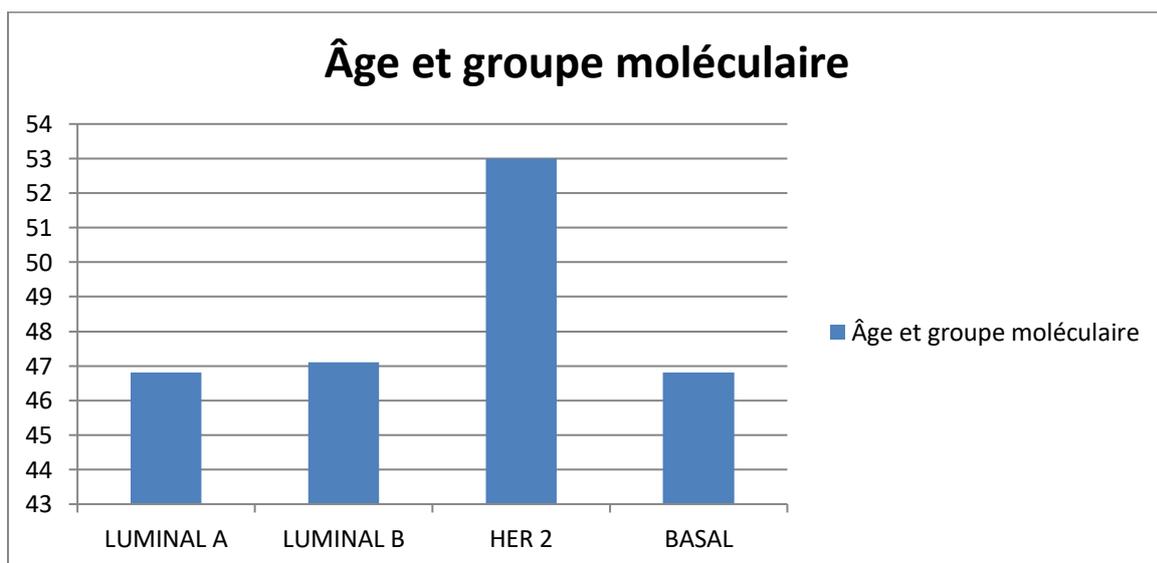


Figure N° 10 : Répartition des tumeurs selon l'âge en fonction du groupe moléculaire

3.1.2.2. Selon le grade histologique SBR

Tous les groupes présentent un grade SBR bas et intermédiaire. Le haut grade n'était présent que dans le type basal (Figure N°11).

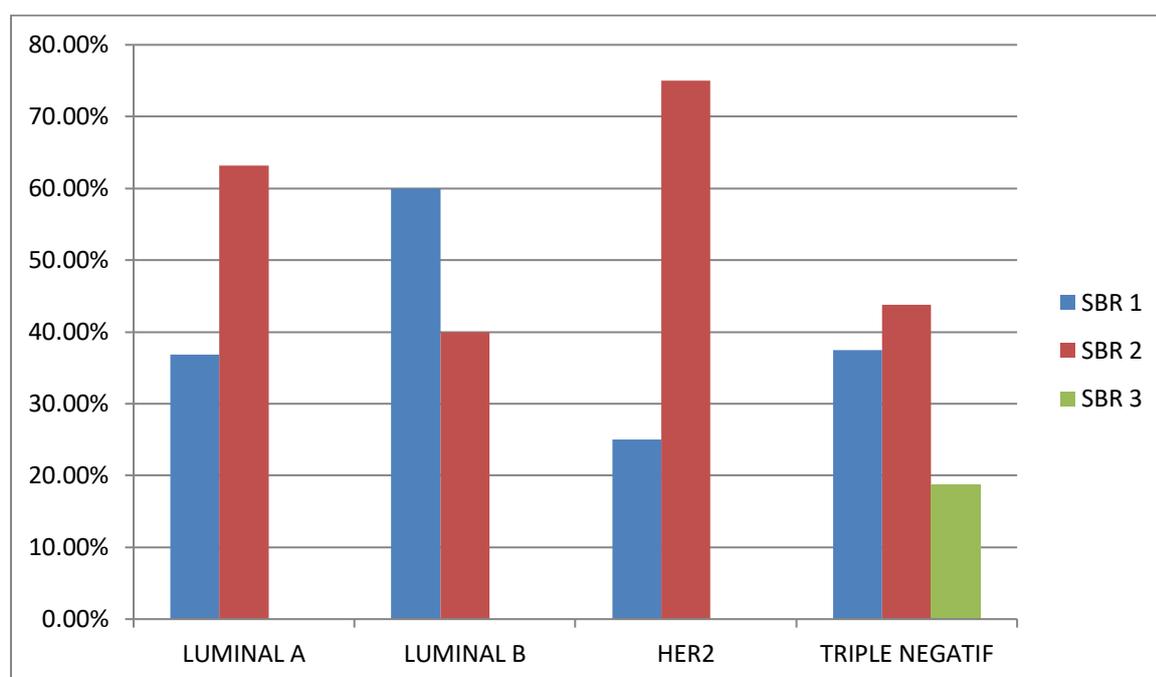


Figure N°11 : Répartition des types moléculaires selon le Grade histologique.

3.1.2.3. Profil d'expression des récepteurs hormonaux / HER2 et aspects histologiques

L'étude de croisement des différents groupes moléculaires avec le type histologique et le grade histologique SBR montre que le type histologique carcinome canalaire infiltrant était observé dans 100% des cas dans le luminal A, 94,11% des cas dans le luminal B, 100% des cas dans le HER2 positif et 86,9% des cas dans le triple négatif.

3.2. Immunohistochimie des lymphomes

Le nombre d'échantillons traités étaient de 51 sous forme de biopsie. Les 33 sont des cancers et les 18 non cancéreux. Nous allons donc porter notre analyse uniquement sur les prélèvements tumoraux.

3.2.1. Résultats épidémiologiques

3.2.1.1. Répartition des prélèvements selon l'année

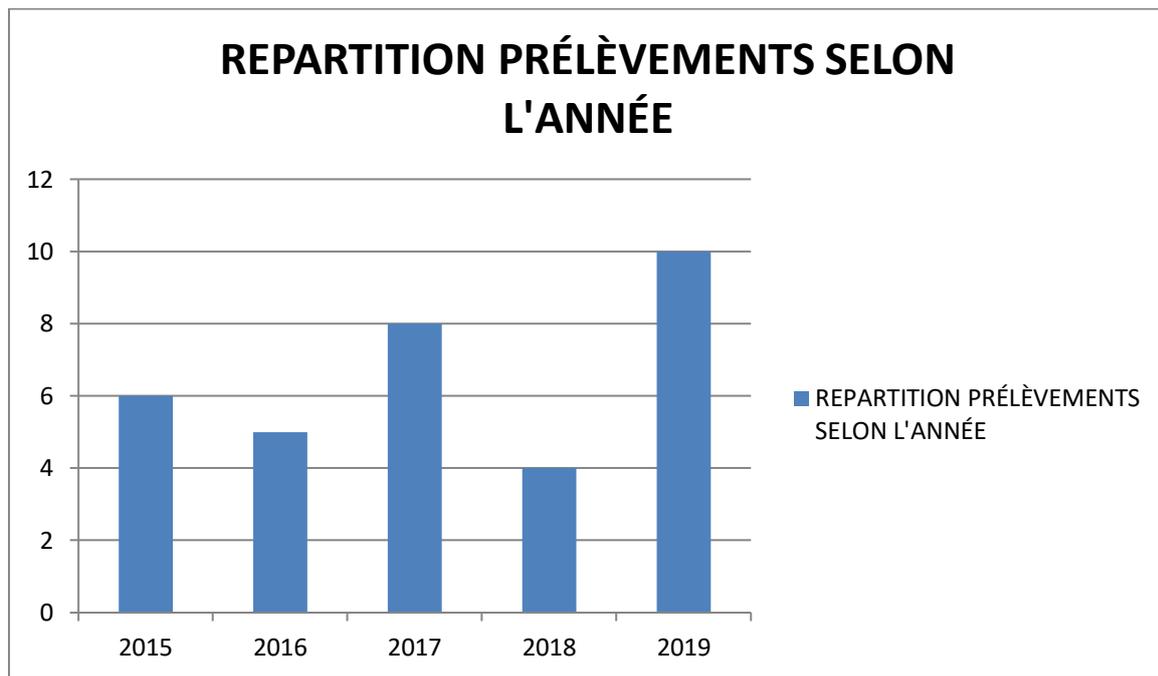


Figure N° 12 : Répartition des prélèvements selon l'année

3.2.1.2. Âge

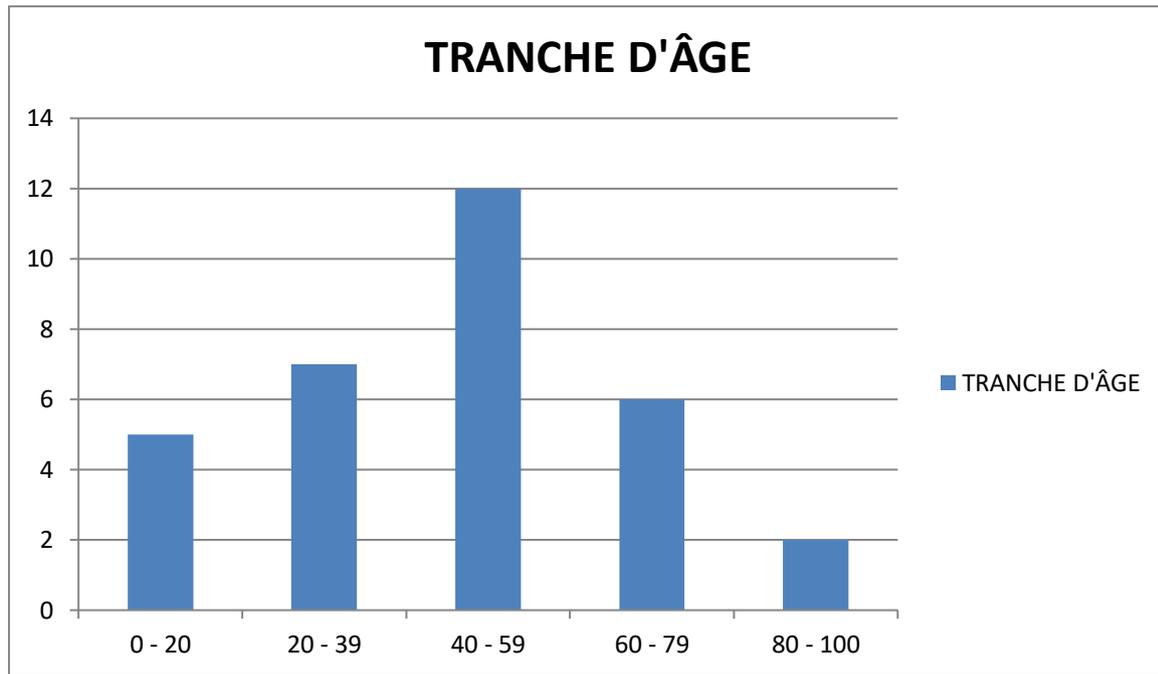


Figure N°13 : répartition des cas selon l'âge

Un patient dont l'âge n'a pas été déterminé.

La tranche d'âge de 40 – 59 ans était prédominante avec 12 cas soit 37,5 %.

L'âge médian de survenue 42 ans avec des extrêmes de 6 et 90 ans.

L'âge moyen est de 40.

- **Pour le LMNH :**

- l'âge moyen de survenue est de 44 ans, l'âge médian de 45 ans avec des extrêmes de 6 ans et 90 ans.
- Les tranches d'âge s'établissent comme suit :

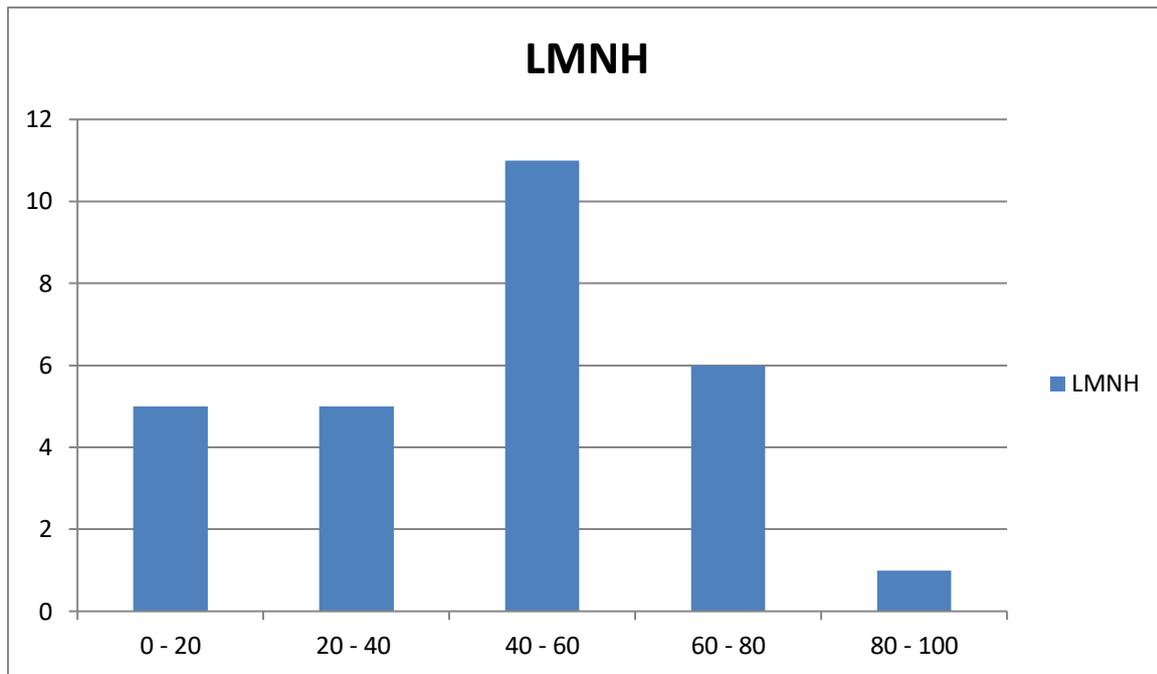


Figure N°14 : répartition selon l'âge pour les LMNH

- **Pour le lymphome de Hodgkin :**

- l'âge moyen de survenue est de 46 ans, l'âge médian 40,5 ans avec des extrêmes de 23 ans et 80 ans.
- Les tranches d'âge s'établissent comme suit :

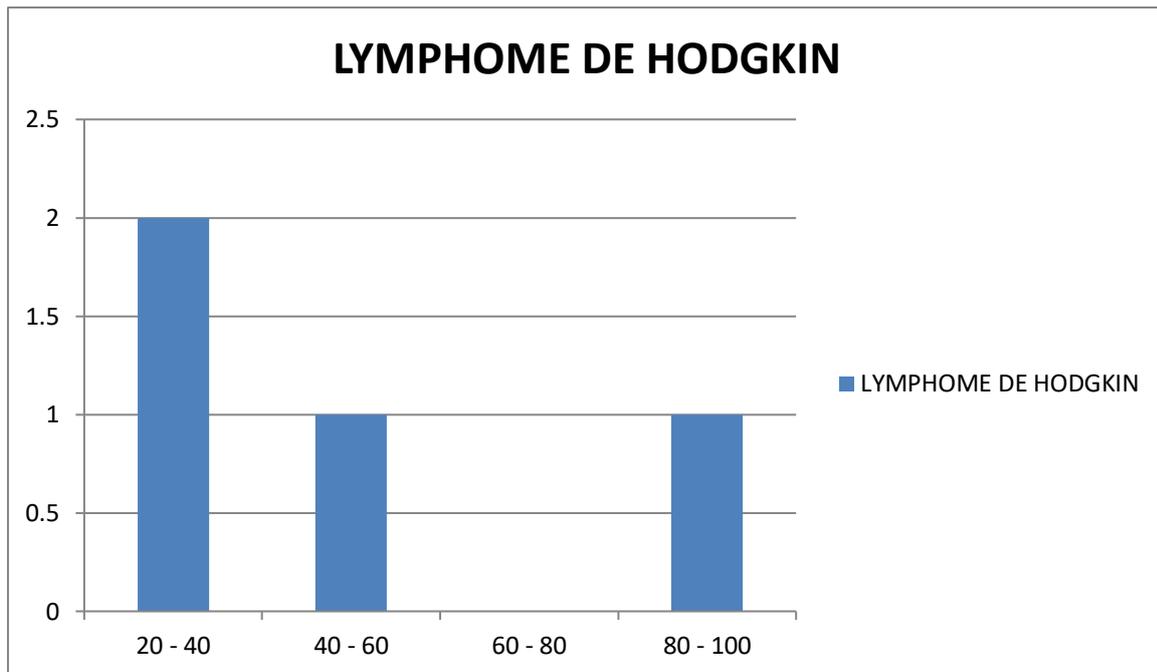


Figure N°15 : répartition selon l'âge pour le lymphome de Hodgkin

3.2.1.3. Le sexe

Le Sexe masculin représente 60,6% soit un sex-ratio de 1,53.

- Pour les LMNH :

Le sex-ratio est de 1,63 soit 62% d'hommes pour 38% de femmes

- Pour le lymphome de Hodgkin :

Le sex-ratio est de 1 (2 femmes pour 2 hommes)

3.2.2. Localisation de la tumeur

Les lymphomes ganglionnaires sont plus fréquents et représentent 72,7%.

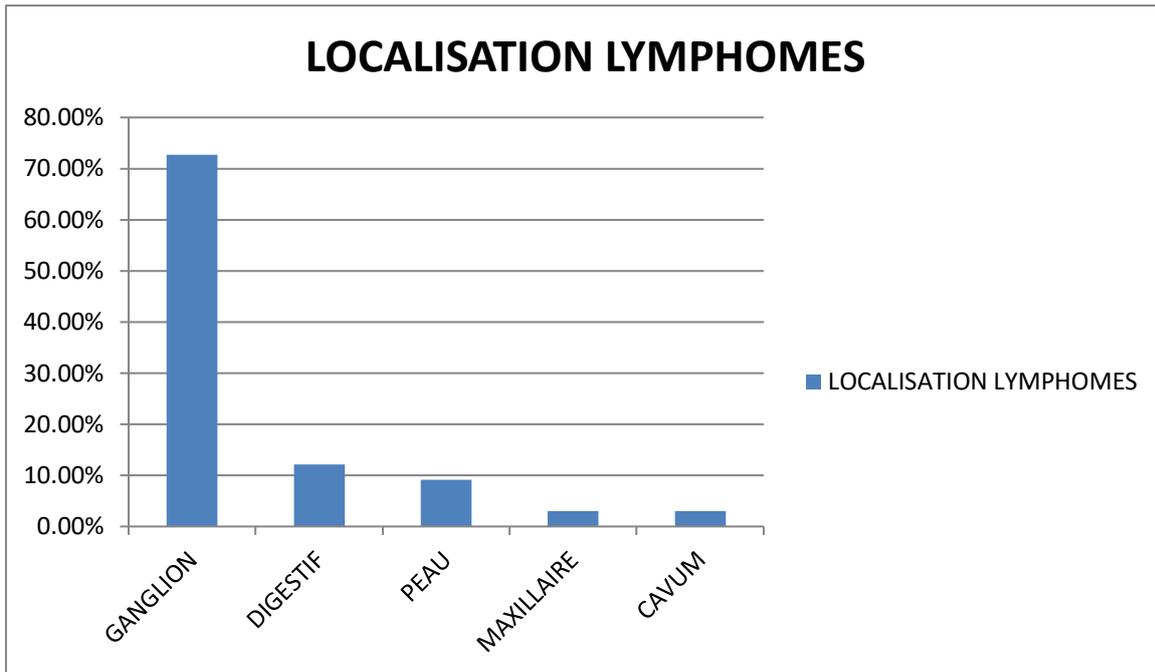


Figure N°16 : répartition des lymphomes selon la localisation

3.2.3. Répartition histologique et immuno-histochimique des tumeurs

Les lymphomes malins non hodgkiniens sont de loin les plus fréquents.

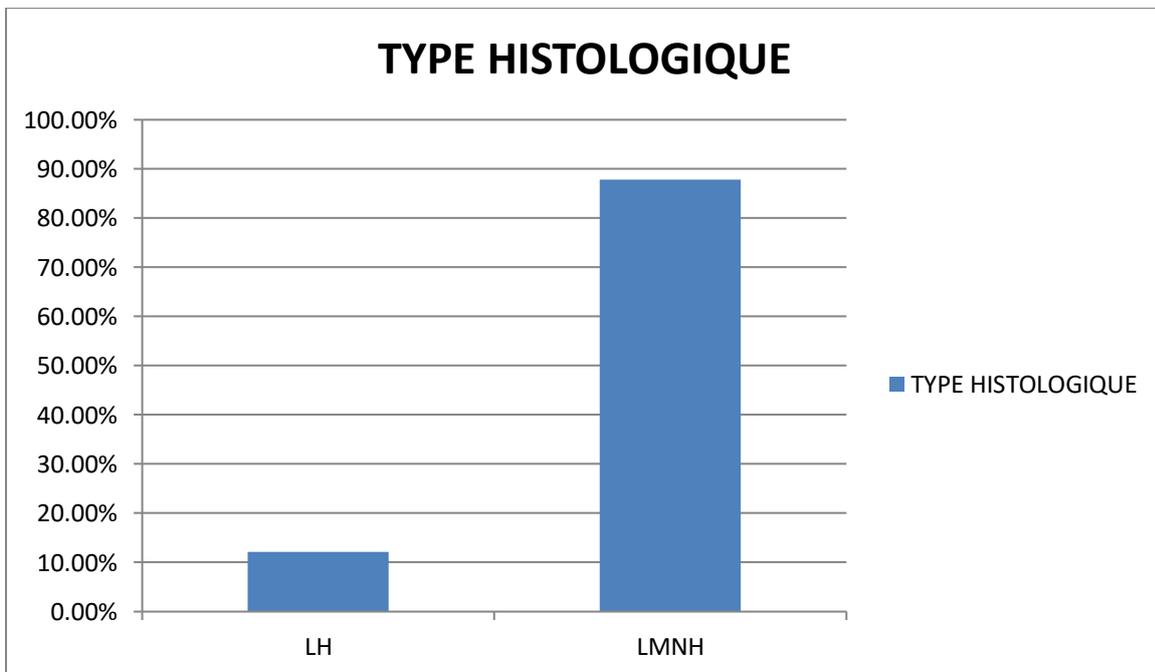


Figure N°17 : répartition des lymphomes selon le type histologique.

3.2.3.1. Le lymphome de Hodgkin

Sur les 4 cas de lymphome de Hodgkin, il est dénombré 2 cas de lymphome scléronodulaire et 2 cas de lymphome à prédominance lymphocytaire

3.2.3.2. Lymphomes malins non hodgkiniens

Prédominance des lymphomes B avec 18 cas soit 62 %.

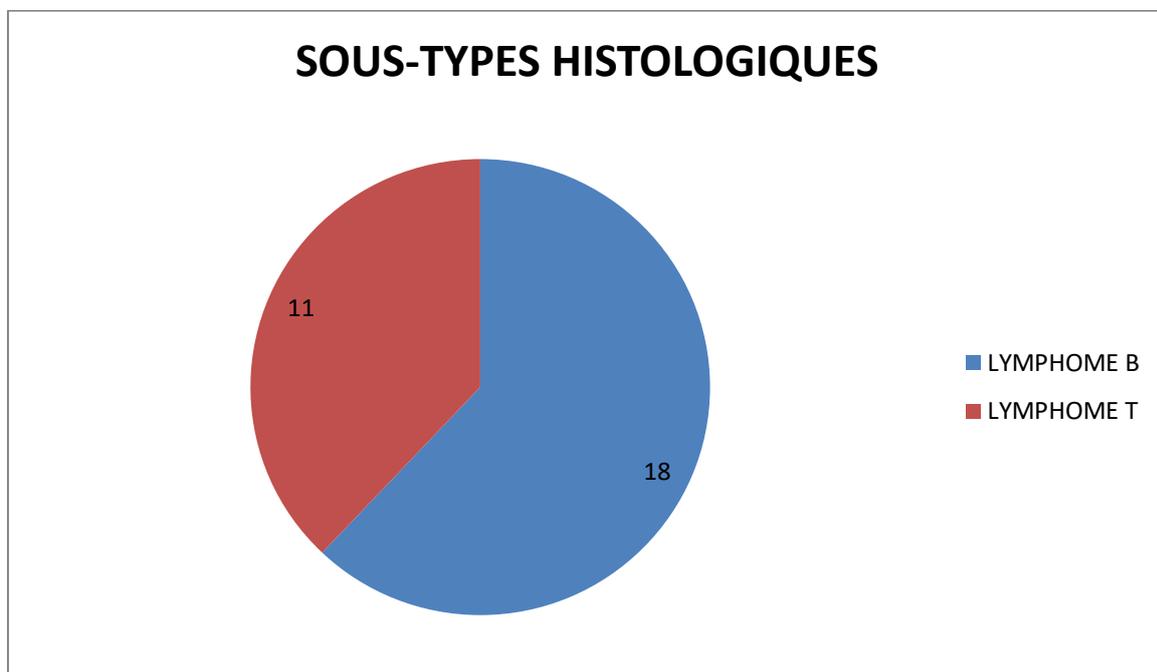


Figure N°18 : Répartition des lymphomes non hodgkiniens après immunohistochimie

3.2.3.2.1. Sous-types histologiques des LNH à cellules B :

Pour les lymphomes B le sous type histologique le plus fréquent est le lymphome B à grandes cellules (DLBCL) avec 8 cas suivi du lymphome du

manteau avec 3 cas. Le LLC enregistre 2 cas. Le lymphome lymphocytaire 2 cas et le lymphome SAI 3 cas.

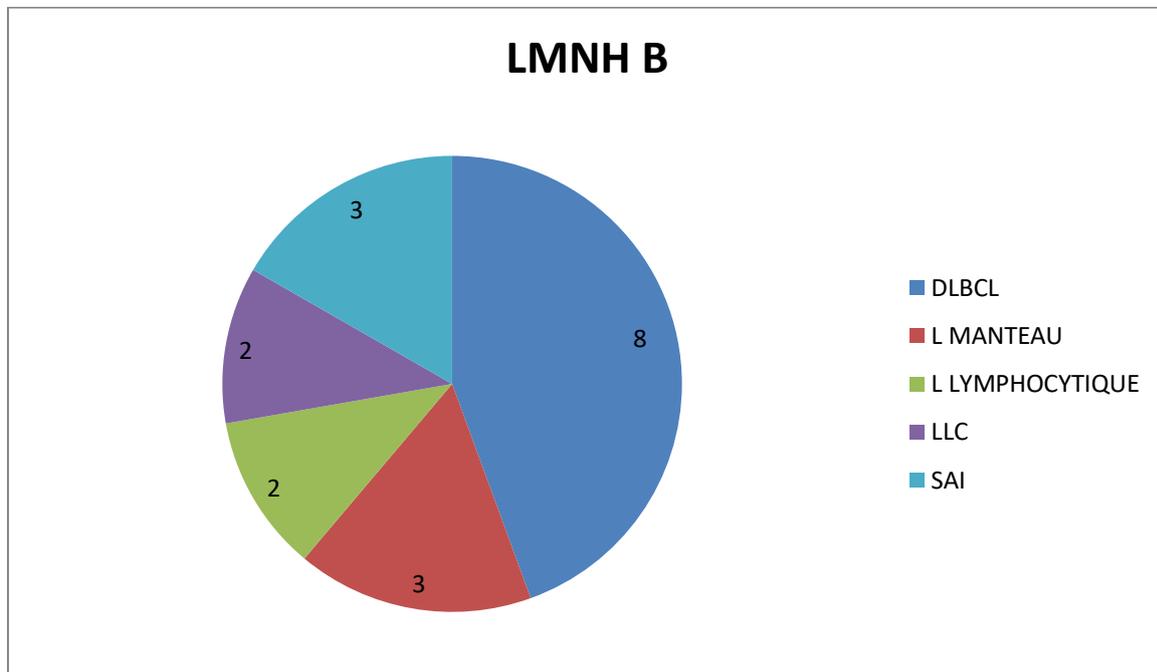


Figure N°19 : répartition des LMNH B après immunohistochimie.

3.2.3.2.2. Sous-types histologiques des LMNH type T

Pour les lymphomes T nous avons 6 cas de lymphome PTCL, 2 cas de lymphome T immunoblastique, 3 cas de lymphome T SAI.

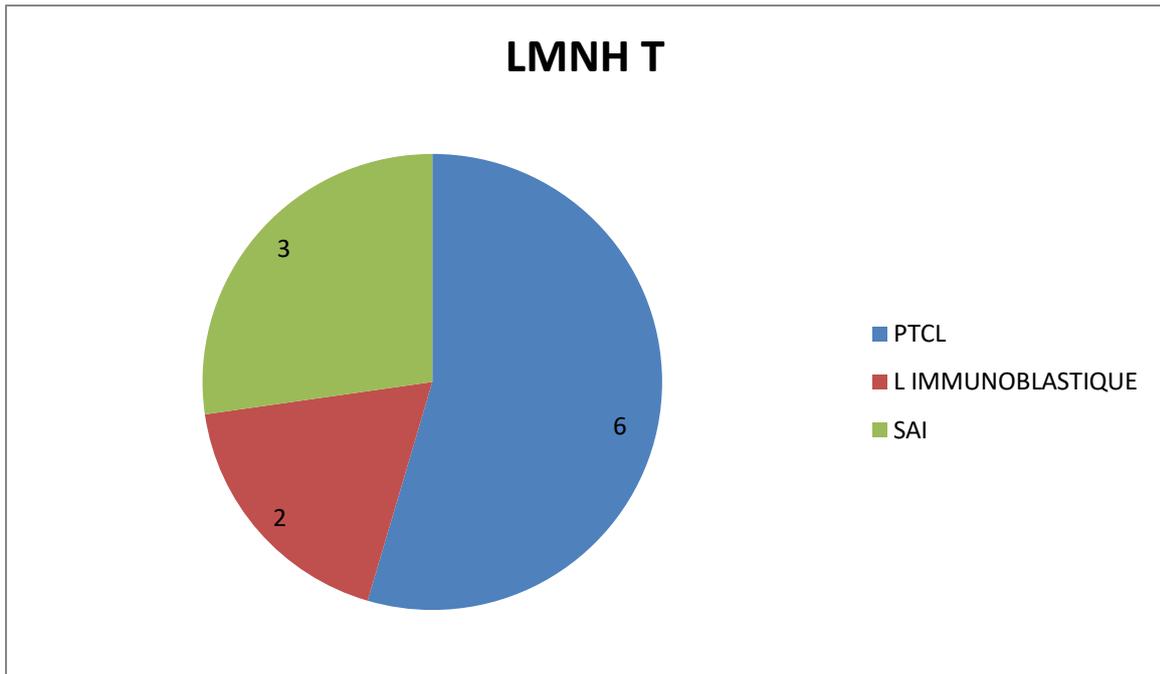


Figure N°20 : répartition des LMNH T après immunohistochimie.

3.3. Les autres entités pathologiques

3.3.1. Cas de plasmocytome gastrique

Il s'agit d'une femme de 29 ans présentant une tumeur gastrique. La biopsie a été effectuée et l'étude immuno-histochimique utilisant les marqueurs CD138 (forte expression ++), anti CD 99 (absence de marquage), anti-lambda (marquage diffus), anti-kappa (absence d'expression).

3.3.2. Carcinome malpighien parapharyngé

Il s'agit d'un garçon de 14 ans dont le bloc de paraffine nous a été adressé. L'indication est une tumeur parapharyngée droite avec extension au cavum avec adénopathies locorégionales. L'examen immuno-histochimique avec l'anti Pan-keratin est positif.

3.3.3. Léiomyosarcome rénal

Patiente de 54 ans ayant bénéficié d'une néphrectomie élargie + curage ganglionnaire latéro-aortique. A l'examen immunohistochimique les cellules tumorales exprimaient fortement la desmine (anti-desmin (DE-R-11) (+++)) et l'actine muscle lisse (anti-actin, muscle (HUC1-1) (+++)).

Le S100 et l'Anti-Myogen étaient négatifs.

4. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

4.1. CANCER SEIN

4.1.1. Données sociodémographiques

4.1.1.1. Age :

Dans notre cohorte l'âge moyen des patients est de 55,5 ans. Il est plus élevé que celui d'**Aboutajdine** [9] 49 ans, plus proche de celui de **Coulibaly Z.** [4] 50,4 ans et inférieur à celui de **Berman**[15] ou il est de 59,8 ans. Le cancer du sein survient en général chez des femmes jeunes, d'âge moyen entre **42** et **53** ans selon les régions[16].

Nous avons eu des extrêmes de 26 et 75 ans. Ils sont de 19 et 85 ans dans l'étude d'**Aboutajdine** [9] et de 16 et 85 ans dans l'étude de **Coulibaly Z.** [4]. La tranche d'âge de 40-49 ans reste la plus touchée dans les deux cohortes, la notre et celle d'**Aboutajdine** [9]

4.1.1.2. Sexe

Notre étude a montré comme dans celle de **Diop** au Sénégal [17], **Togo** au Mali [18] et **Wu** en Chine [19] une nette prédominance féminine proche des 100%.

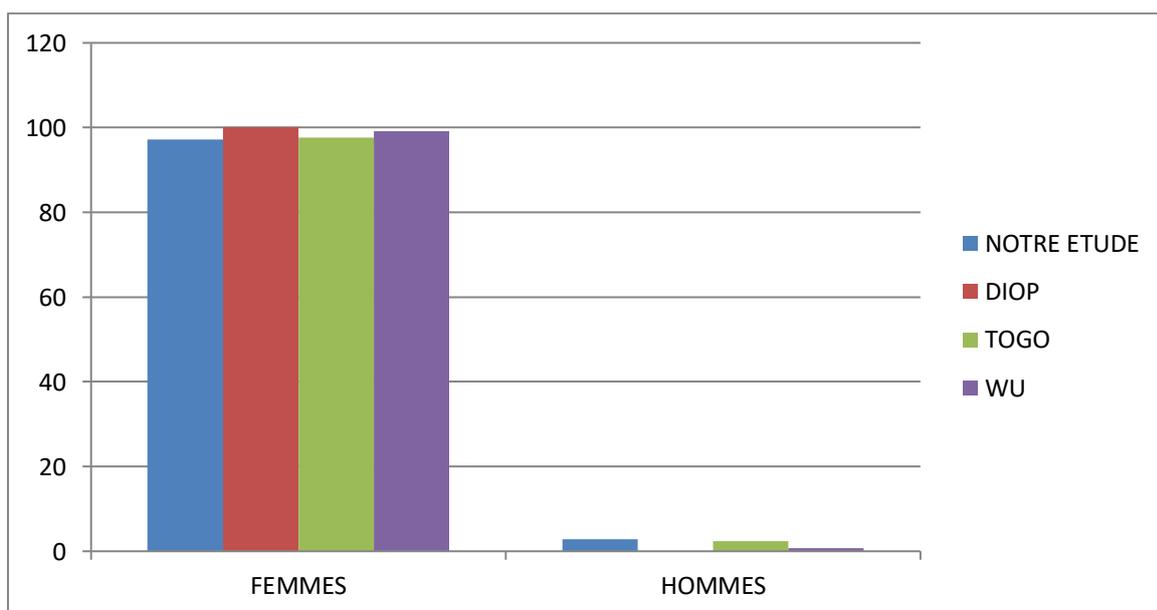


Figure N°21 : Etude comparative sex-ratio

4.1.2. Latéralité

Pour la latéralité nous n'avons pas trouvé de tendance. Dans notre cohorte les deux seins sont touchés avec la même fréquence. Le sein droit est prédominant dans l'étude de **Diop [17]** et le sein gauche dans celle d'**Essiben [20]**.

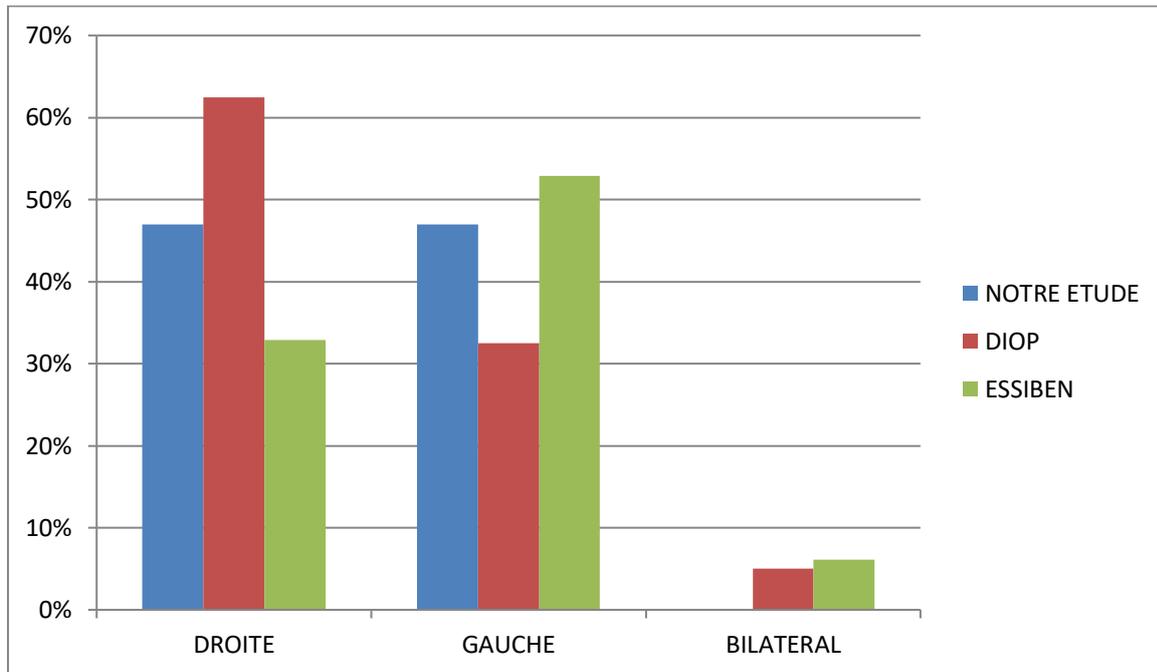


Figure N°22 : Etude comparative selon la latéralité

4.1.3. Type histologique

Le carcinome canalaire infiltrant est largement prédominant dans notre série et celle de **Coulibaly Z. [3]** et **Abass au Maroc [21]**. Ces données concordent avec celles de la littérature [22, 23].

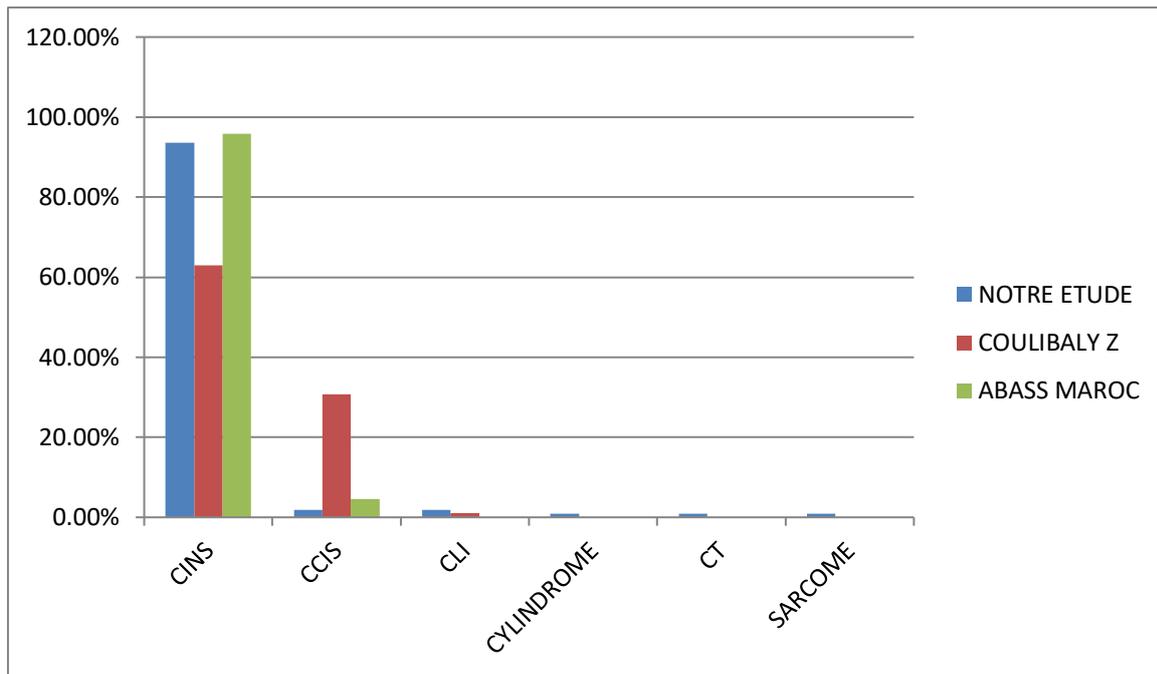


Figure N°23 : Etude comparative selon le type histologique.

4.1.4. Le grade SBR

Dans notre étude et celles d'**Aboutajdine** au Maroc [9] et **Essiben** au Cameroun [20] le grade SBR II est prédominant avec respectivement 51, 50, 61 et 76,9%. Dans notre cohorte et celle d'**Essiben** le grade SBR I vient en deuxième position. **Aboutajdine** trouve en deuxième position le grade SBR III.

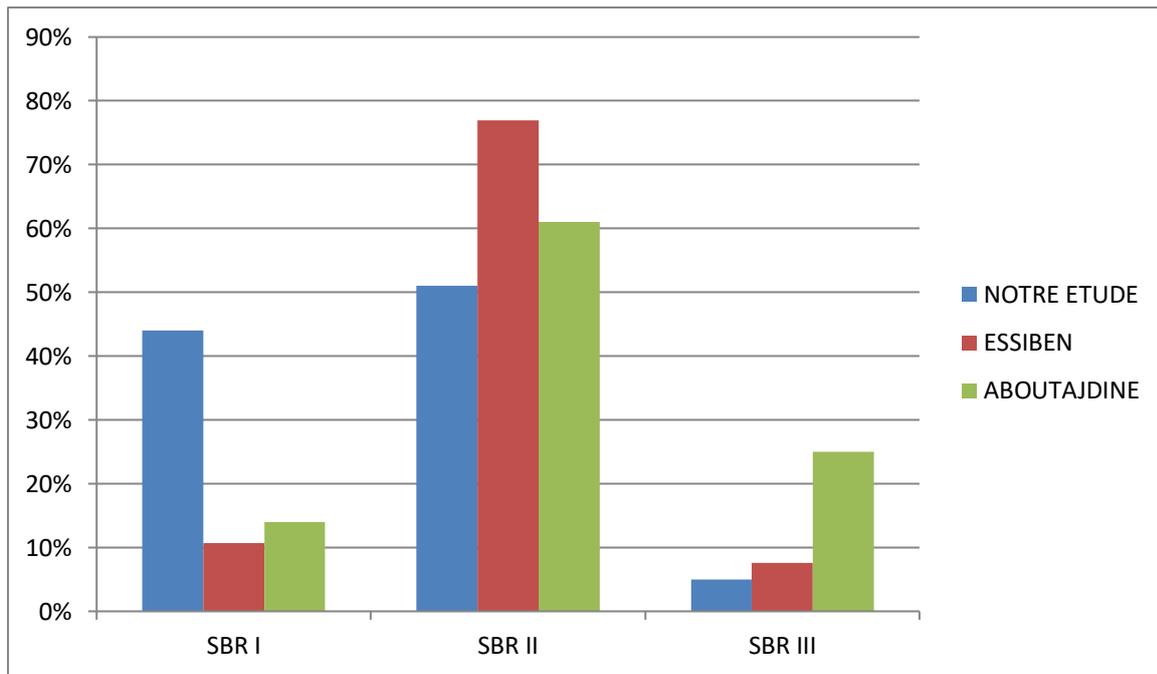


Figure N°24 : Etude comparative selon le grade SBR

4.1.5. Données immunohistochimiques

4.1.5.1. Profil d'expression des récepteurs hormonaux et HER2

A l'étude immuno-histochimique, les cellules tumorales étaient positives dans 58% pour les récepteurs aux œstrogènes (RE), dans 61% pour les récepteurs à la progestérone (RP), dans 33% pour l'HER-2 et 48,52% pour le Ki-67. Ces chiffres sont assez proches de ceux de **Coulibaly Z.** [4], ceux d'**Aboutajdine** [9] et **Laurent** en France [24].

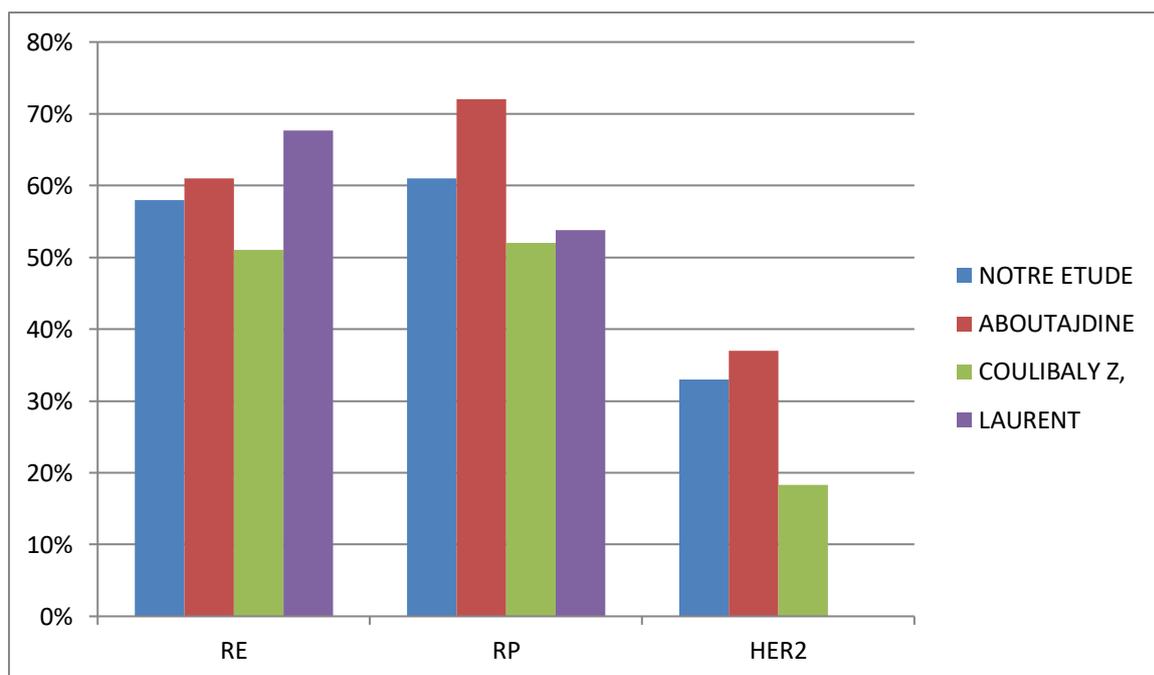


Figure N°25 : Etude comparative selon la positivité des récepteurs hormonaux et HER2

4.1.5.2 Répartition des tumeurs selon la classification moléculaire

Notre étude est discordante par rapport à celle d'**Aboutajdine** [9] . Elle montre le type basal ou triple négatif en première position suivi du luminal A, du luminal B et de HER2 positif. **Aboutajdine** montre en première position le luminal A suivi du luminal B, de HER2 puis du basal.

Ahmadaye [25] montre en première position le luminal A suivi du basal, puis du luminal B et de HER2 positif. Et comme **Ahmadaye** nous avons un fort taux de « NC ».

Dans la littérature le triple négatif ou basal représente 10% des cancers du sein [26]. Dans certaines séries comme celle de **Rapiti** [27] en Genève, ce pourcentage est de 7,41%. Dans notre série le taux de triple négatif est nettement

plus élevé, il est de 30,76%. Le luminal A, le luminal B et le HER2 représentent respectivement 29,48, 28,2 et 11,53%.

Carey LA [28] et al. ont montré que la prévalence du phénotype luminal A varie de 54 à 74% des cas.

Al tamimi et al. [29] ont montré dans une série de 231 cas que le phénotype luminal B représente 16,0% des cas et le HER2 17,3%, des chiffres toujours discordants avec les nôtres.

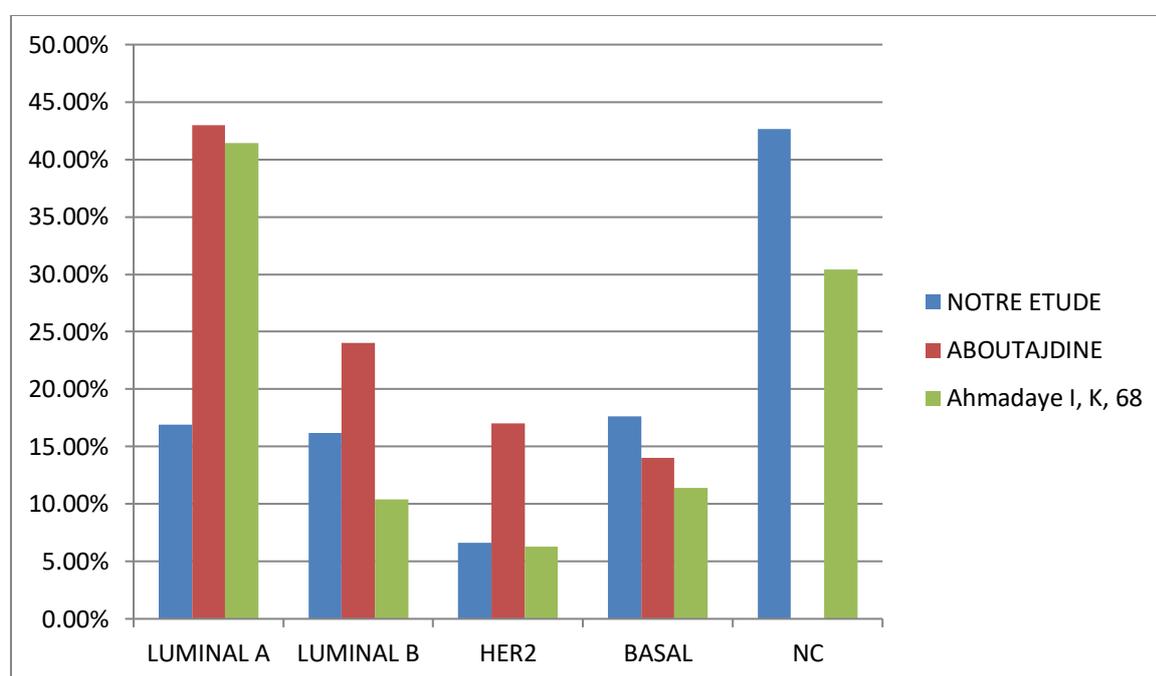


Figure N°26 : Etude comparative selon le groupe moléculaire.

4.1.5.3. Répartition des tumeurs selon l'âge en fonction du groupe moléculaire

Les âges trouvés sont plus ou moins similaires selon les groupes moléculaires. La différence n'est marquante que pour le groupe HER 2 ou notre moyenne d'âge est de 53 ans contre 45 ans pour **Aboutajdine [9]** .

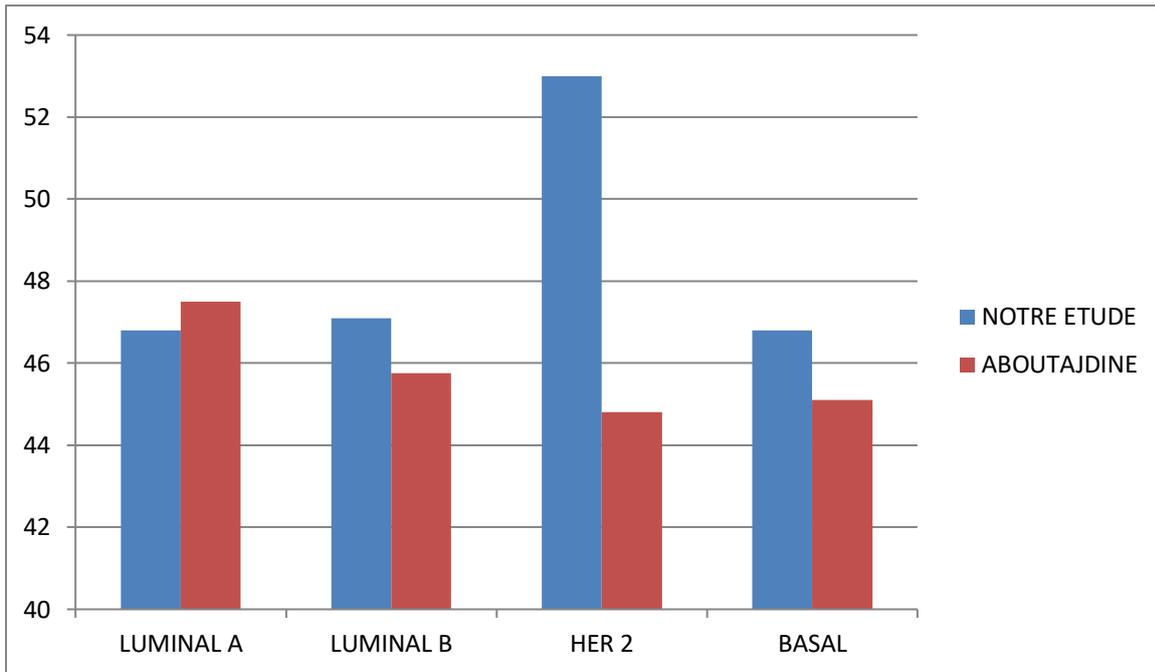


Figure N°27 : Etude comparative selon l'âge et le groupe moléculaire.

4.1.5.3 Répartition selon le groupe moléculaire et le grade

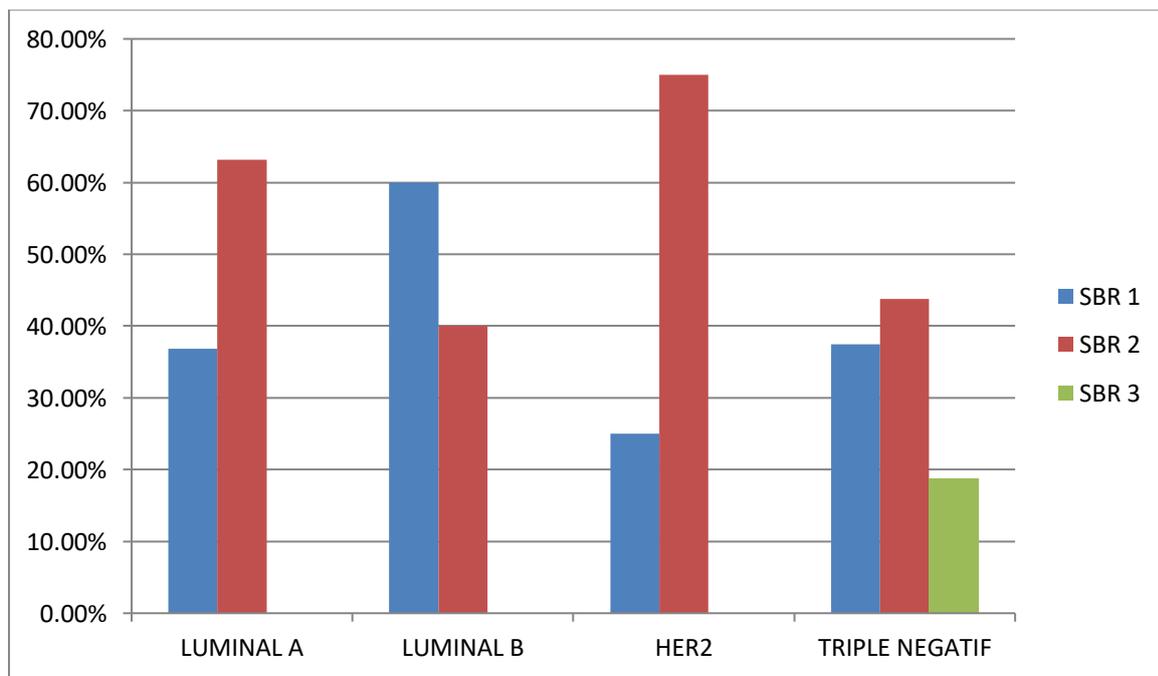


Figure N°28 : Répartition des types moléculaires selon le grade histologique.

Dans l'étude de **Ahmadaye [25]** le luminal A est caractérisé par un bas grade (60,0% de grade I), le luminal B par un grade moyen (14,3% de grade II), le type HER2 positif et le triple négatif sont caractérisés par un grade histologique élevé, respectivement 8,5% et 17,9% de grade III. Cette étude est en accord avec les données de la littérature. Par contre dans notre cohorte, le luminal A est caractérisé par un grade moyen 63,15% de grade 2, le luminal B par un bas grade 60% de grade I, HER2 75% de grade 2 et le triple négatif 43,75% de grade 2. Le grade 3 n'est retrouvé que dans le triple négatif (18,75%). Ces résultats suggèrent soit un problème dans l'établissement du grade SBR par les pathologistes, soit une absence de corrélation entre le grade SBR et la classification moléculaire des cancers du sein.

4.1.5.4. Profil d'expression des récepteurs hormonaux et HER2 et aspects histologiques

Dans notre série le CCI type NOS est prédominant avec au moins 80% dans tous les groupes moléculaires. Dans celle d'**Ahmadaye [25]** ceci n'est pas le cas, les pourcentages varient de 7,7 à 44,4%.

Ceci suggère pour notre étude :

- d'une part que ces chiffres reflètent la réalité ou
- d'autre part que le diagnostic morphologique ne soit pas trop poussé pour la spécification.

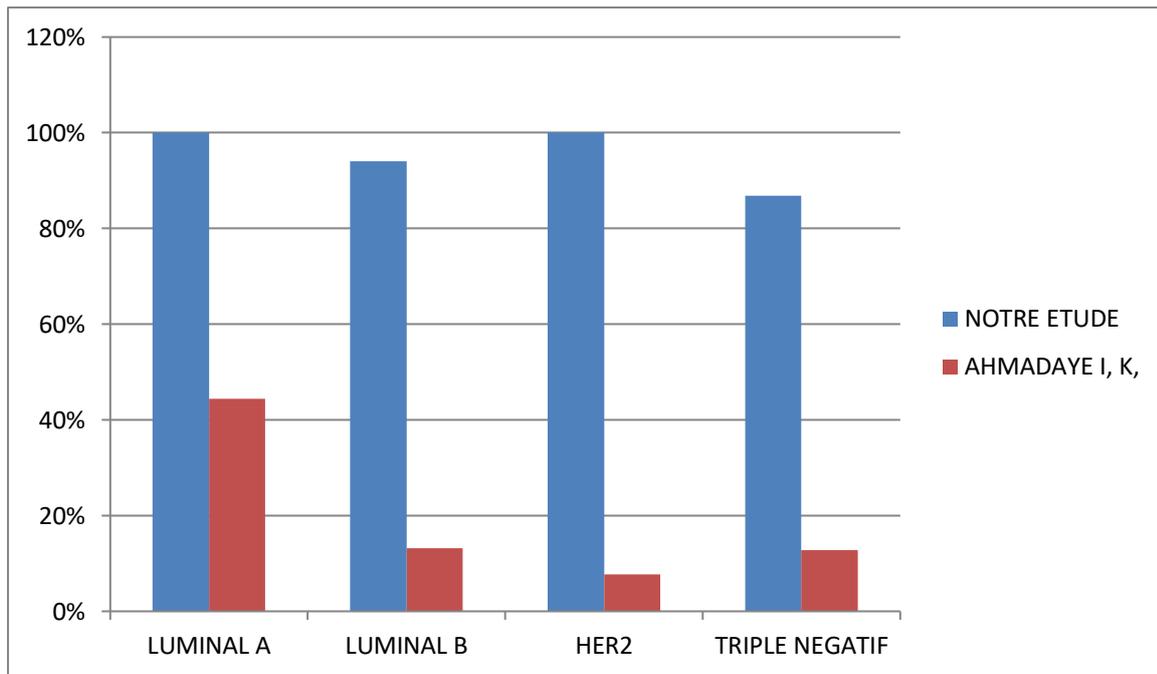


Figure N°29 : Carcinome canalaire infiltrant de type NOS et groupe moléculaire

4.2. LYMPHOMES

4.2.1. Résultats épidémiologiques

4.2.1.1. Age :

Dans notre étude, l'âge moyen des patients pour tout type de lymphome était de 40 ans avec un âge médian de 42 ans. Les extrêmes étaient de 6 et 90ans. Dans celle de **Coulibaly A. [5]** . L'âge moyen est de. 44 ans avec un âge médian de 46 ans. Les extrêmes d'âge étaient de 20 et 78 ans. Pour celui de **Kanté** à Bamako (Mali) en 2013 la moyenne d'âge était de 44,5 ans avec des extrêmes de 18 et 70 ans [30] .

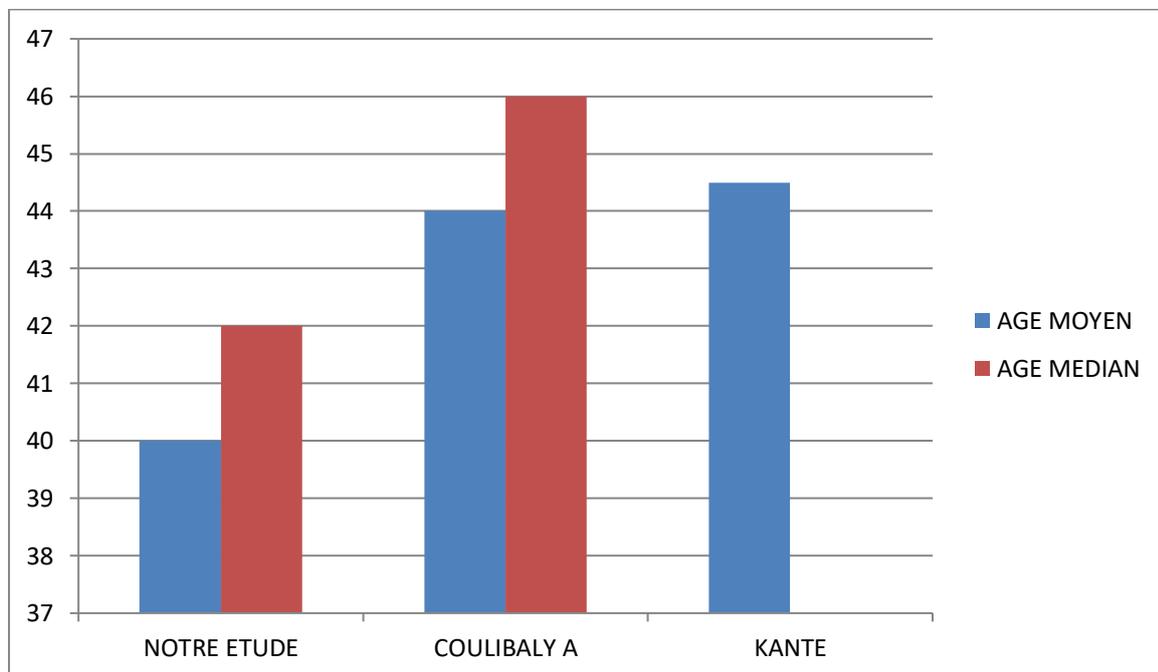


Figure 30 : âge moyen et médian dans les lymphomes

Pour les LNH, l'âge moyen de survenue est de 44 ans, l'âge médian 45 ans avec des extrêmes de 6 ans et 90 ans. Dans l'étude de **A. Coulibaly [5]** l'âge variait de 20 et 78 ans avec une moyenne d'âge de 46,34 ans et l'âge médian était de 47 ans. Les valeurs rapportées par **Tchonko** à Bamako (Mali) en 2006 sont pour l'âge moyen de 30,76 ans avec un âge médian de 28,50 ans [31].

Nos données sont très proches de celles de Coulibaly et assez différentes de celles de **Tchonko**.

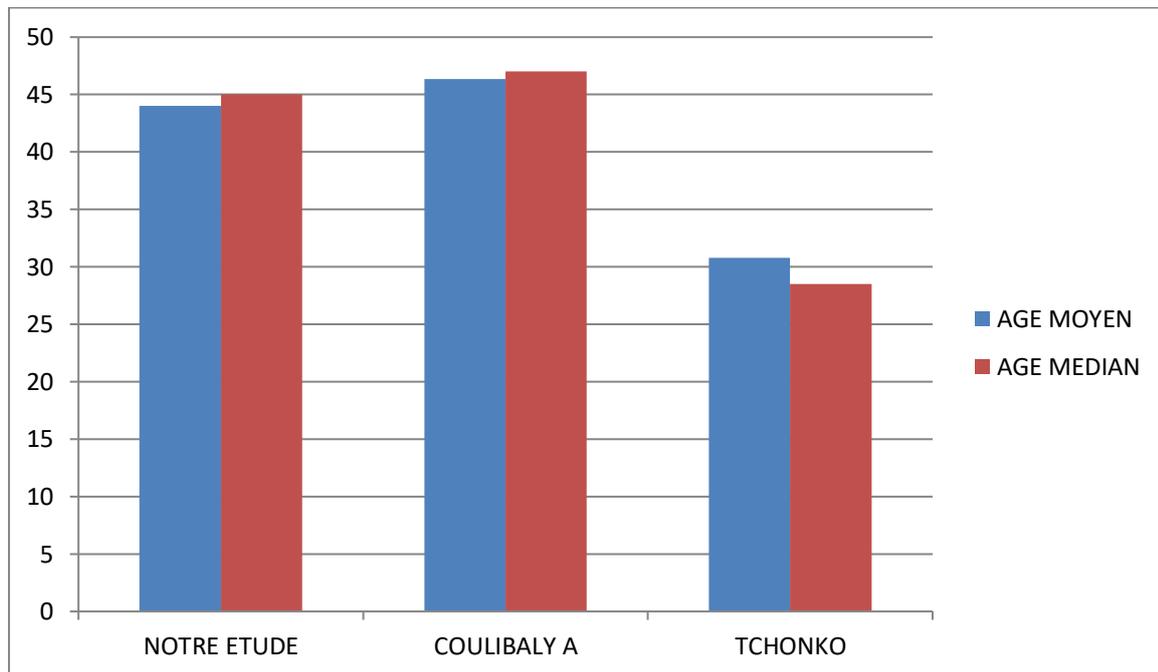


Figure 31 : âge moyen et médian dans les LMNH

Pour les LH, l'âge moyen de survenue est de 46 ans avec des extrêmes de 23 ans et 80 ans, l'âge médian de 40,5 ans. Dans celle de **A. Coulibaly** [5] il variait entre 20 et 40 ans avec une moyenne d'âge de 21 ans et un âge médian de 20 ans. L'étude de **Tchonko** a trouvé un âge moyen de 25,63 ans et un âge médian de 20,50 ans [31] .

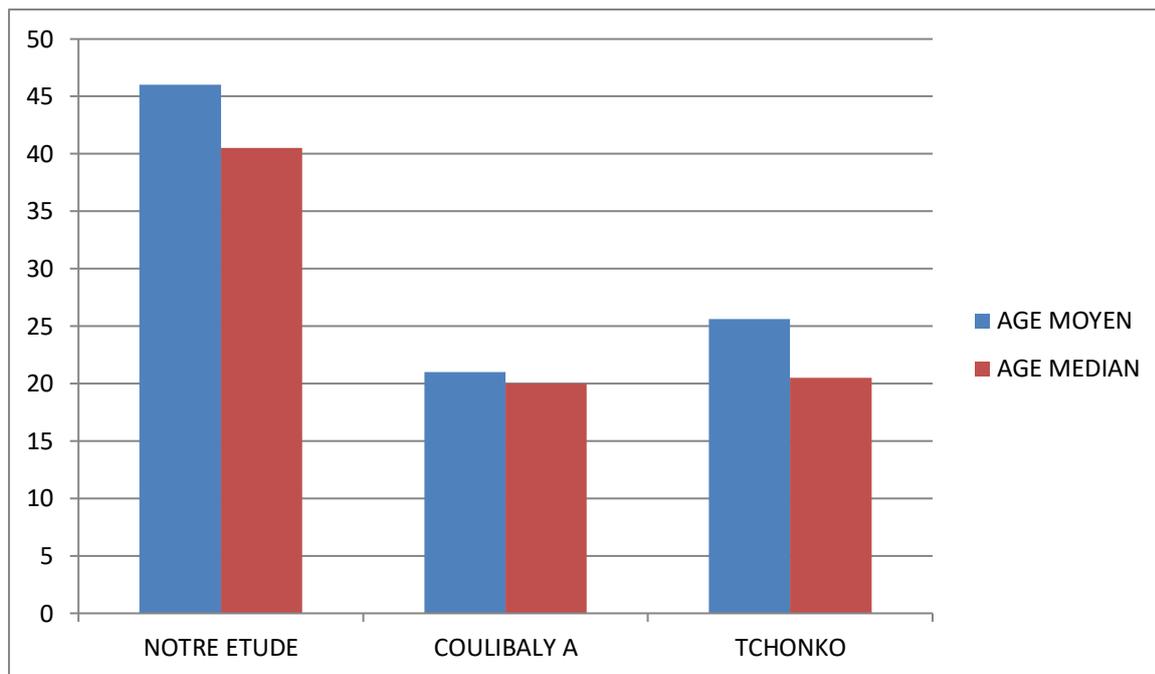


Figure 32 : âge moyen et médian dans les LH

Nos données sont superposables à celles de la littérature où une prédominance chez l'adulte jeune a été rapportée surtout pour les LNH, mais les LH ont deux pics de fréquence 20 à 30 ans et au-delà de 60 ans [32, 33]. Nos chiffres diffèrent du constat général car cela peut s'expliquer par notre faible échantillon.

4.2.1.2. Sexe :

Dans notre étude, le sexe masculin était majoritaire avec 60,6 %, le sex ratio est de 1,53. Ce résultat est assez comparable à celui de **Coulibaly A.** [5] et **Tchonko** [31]. Dans cette cohorte, le sexe masculin était majoritaire avec 67% et un sex ratio égal à 2. **Tchonko** a trouvé un sex-ratio égal à 1,9 avec 65% d'hommes [31].

Notre analyse a trouvé un sex-ratio respectivement égale à 1 et 1,63 pour les LH et les LNH

Coulibaly A. [5] a trouvé un sex-ratio respectivement égal à 0,5 et 2,33 pour les LH et les LNH.

Nos valeurs se rapprochent beaucoup plus à ceux de **Kanté** qui a trouvé 1 pour le LH [30].

N'gassa a trouvé à Bamako (Mali) en 2006 un sex-ratio égal à 1,52 pour les LNH [33].

4.2.2. SIEGE DES LYMPHOMES

Parmi les localisations, l'atteinte ganglionnaire était majoritaire avec 72,7%. Quatre cas diagnostiqués au niveau digestif, trois au niveau de la peau, un au niveau maxillaire et un au niveau du cavum.

Dans l'étude de **Coulibaly A.** [5], l'atteinte ganglionnaire était majoritaire avec 66,7%.

Nos données correspondent avec celles de la littérature où une prédominance de la localisation ganglionnaire a été rapportée. Seul un quart des lymphomes sont extra-ganglionnaires [32].

4.2.3. DONNEES HISTOLOGIQUES ET IMMUNOHISTOCHIMIQUES

4.2.3.1. TYPES HISTOLOGIQUES LYMPHOMES

Parmi les 33 cas de lymphomes, il y'avait une nette prédominance des LNH avec 29 cas soit 87,8 % contre 4 cas de LH soit 12,1%. Ceci est comparable aux résultats de **Coulibaly A.** [5]. Qui avait une nette prédominance des LNH avec 30 cas soit 90,9% contre 3 cas de LH soit 9,1%. Il est comparable aussi aux résultats de **Kanté** et de **Tchonko** qui ont trouvé respectivement 80% et 74,6% des LNH [30, 31].

En rapport avec la littérature, nos données se rapprochent puisque les LH ne représentent que 15% des lymphomes contre 85% pour les LNH [32].

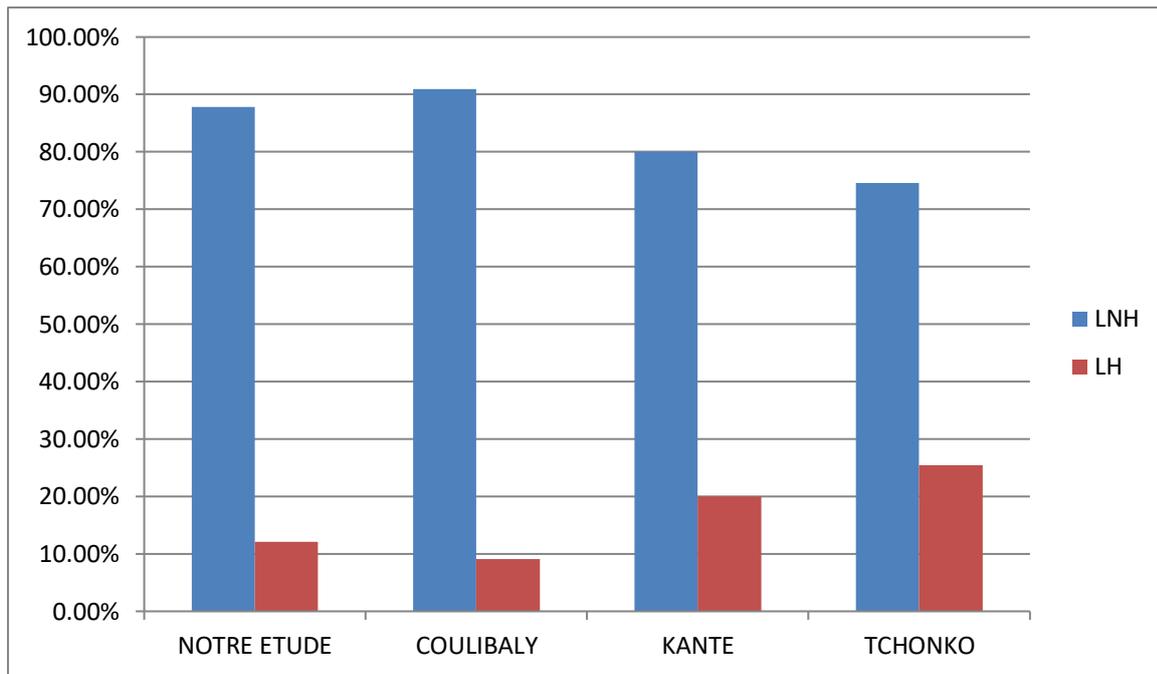


Figure N°33 : comparaison sous-types histologiques lymphomes

4.2.3.2. SOUS-TYPES DE LYMPHOMES NON HODGKINIENS

Dans notre étude, les LNH à cellules B étaient au premier rang avec 18 cas soit 62 % pendant que les LNH à cellules T représentaient 11 cas soit 38 %.

Dans la cohorte de **Coulibaly A [5]**, les LNH à cellules B étaient au premier rang avec 22 cas soit 73,3% pendant que les LNH à cellules T ne représentaient que 8 cas seulement soit 26,7%.

Nos proportions sont comparables aux données de la littérature qui a trouvé que les LNHB représentent 70% des LNH. Les LNHT représentent 10% des LNH dans les régions occidentales [32].

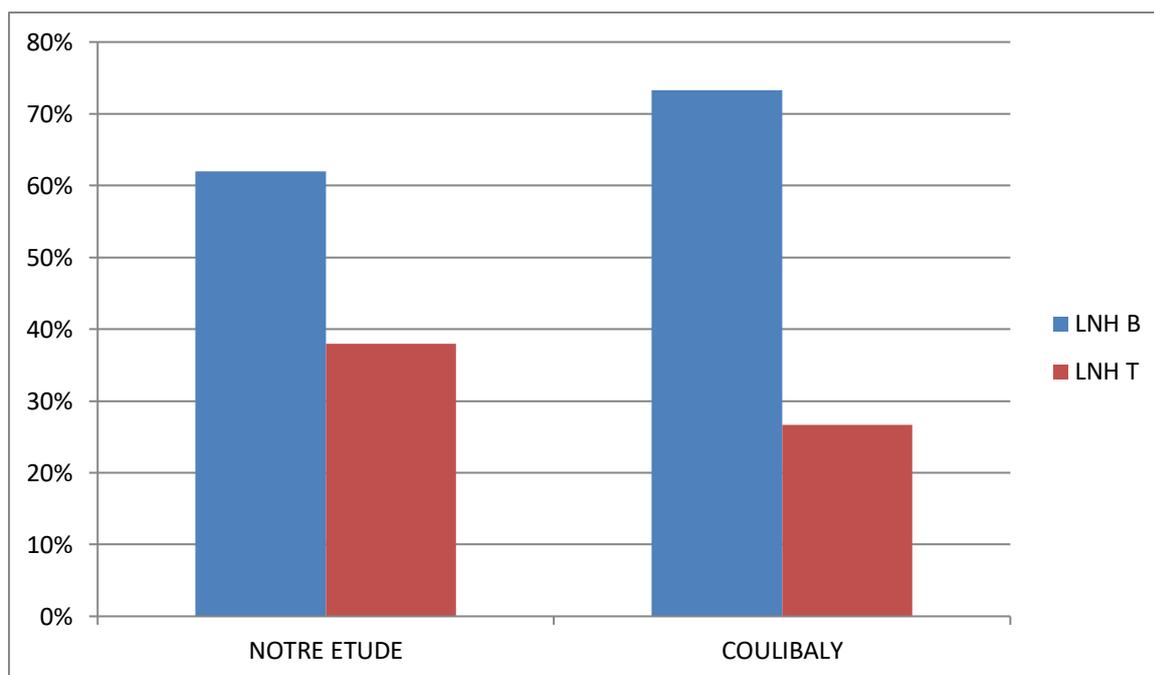


Figure N°34 : comparaison immuno-histochimique des lymphomes

4.2.3.3. SOUS-TYPES HISTOLOGIQUES DES LNH TYPE B

Parmi les 18 cas de LNH à cellules B diagnostiqués, nous avons noté une prédominance des DLBCL avec 8 cas soit 44,4% suivi du lymphome à cellules du manteau et du lymphome non spécifique avec respectivement 3 cas soit 16,6% chacun. La LLC et le lymphome lymphocytaire en dernière position avec deux cas chacun soit 11,1% .Nos résultats sont similaires à ceux de **Thierry et al** et un peu différent de ceux **de Kanté** qui ont trouvé respectivement que les DLBCL représentaient entre 30 à 40% et 90% des lymphomes ; mais par contre **Kanté** a trouvé une fréquence inférieure de la LLC à 10% [30, 34].

Nos résultats diffèrent de ceux de **Coulibaly A. [5]** qui parmi les 22 cas de LNH à cellules B diagnostiqués, a noté une prédominance de la LLC et des DLBCL avec 18,2% chacun suivi des DLBCL immunoblastiques (CD138+, CD44+ , CD38+/- , TCL1+ , BCL2+) avec 13,6%.

4.2.3.4. SOUS-TYPES HISTOLOGIQUES DES LNH TYPE T

Le PTCL était majoritaire avec un effectif de 54,4% contre 18,1% de lymphome lymphoblastique T et 27,2 % de lymphome T NS. Cette fréquence est différente de celle de **Kanté** qui a trouvé soit 33,3% de PTCL [30] et **Coulibaly A.** [5] 75%. Pour le lymphome lymphoblastique T **Coulibaly** avait un pourcentage de 25%.

4.2.3.5. SOUS-TYPES HISTOLOGIQUES DES LH APRES IMMUNOHISTOCHEMIE

Dans notre échantillon il n'y avait que 4 cas de LH (2 LH scléronodulaire et 2 LH à prédominance lymphocytaire) avec une fréquence identique de 50 %.

Le type scléro-nodulaire avec une fréquence de 50% est identique à celui de **Kikkeri et al** qui ont trouvé 53% [35] et supérieur à celui de **CoulibalyA.** [5] et **Kanté** [30] avec un pourcentage de 33,3%.

Dans l'étude de **Coulibaly** il n'a pas été trouvé de forme à prédominance lymphocytaire. Les formes à cellularité mixte et à déplétion lymphocytaire représentaient respectivement 33,3%.

4.3. Les autres entités pathologiques

4.3.1. Cas du plasmocytome gastrique

Dans notre étude, il s'agit d'une femme de 29 ans présentant une tumeur gastrique. La biopsie a été effectuée et l'étude immuno-histochimique utilisant les marqueurs CD138 (forte expression ++), anti CD 99 (absence de marquage), anti-lambda (marquage diffus), anti-kappa (absence d'expression).

Dans l'étude de **A. Hot** [36] il s'agissait d'un patient de 80 ans présentant une tumeur ulcéro-bourgeonnante de l'antre. Le diagnostic a été confirmé par l'histologie et l'immunohistochimie. Les cellules tumorales exprimaient toutes le CD79 et une chaîne légère kappa et les anticorps anti-EMA étaient positifs.

4.3.2. Cas du léiomyosarcome rénal

Patiente de 54 ans ayant bénéficié d'une néphrectomie élargie + curage ganglionnaire latéro-aortique. A l'examen immunohistochimique les cellules tumorales exprimaient fortement la desmine (anti-desmin (DE-R-11) (+++) et l'actine muscle lisse (anti-actin, muscle (HUC1-1) (+++).

Le S100 et l'Anti-Myogen étaient négatifs.

Les sarcomes primitifs du rein sont exceptionnels. Ils représentent 1 à 3% des tumeurs du rein chez l'adulte. Il est noté une centaine de cas dans la littérature [37].

Les cellules expriment généralement la vimentine, l'AML et Desmine. La CK + dans 25% des cas [38, 39].

Conclusion :

L'immunohistochimie est une aide au diagnostic considérable en anatomie pathologique. Pour certaines tumeurs, elle est même indispensable. Le laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologiques de HPD a commencé à la pratiquer depuis plus de 7 ans.

L'objectif de notre étude sera de dresser les statistiques sur 7 ans de pratique et de comparer nos données à celles de la littérature.

L'étude incluait 187 prélèvements dont 136 pour le sein et 51 pour suspicion de lymphomes. Tous ces prélèvements ont pu bénéficier d'une étude immunohistochimique soit par la méthode automatisée ou manuelle. Les variables étudiées étaient l'âge, le sexe, la latéralité, le type de prélèvements, le type, le grade histologique et le profil immunohistochimique.

Pour le cancer du sein, l'âge moyen des patients était de 55,5 ans avec des extrêmes allant de 26 à 75 ans. La tranche d'âge la plus touchée était celle de 40-49 ans. Le sexe féminin était largement prédominant dans la répartition des tumeurs du sein. Pour la latéralité, l'étude n'a pas montré de prédilection pour un côté ou un autre. Les prélèvements concernaient majoritairement les biopsies. Le CCI de type NOS était de loin le type histologique prédominant. Les tumeurs de grade II SBR se placent en première position avec un pourcentage de 51% des cas, suivies par les tumeurs de grade I à 44%, viennent ensuite les tumeurs de grade III à 5%. A l'étude immunohistochimique, les cellules tumorales étaient positives dans 58% pour les récepteurs aux oestrogènes (RE), dans 61% pour les récepteurs à la progestérone (RP), dans 33% pour l'HER-2 et dans 48,52% pour le Ki-67. La classification moléculaire a permis de répartir les cas étudiés selon 4 groupes distincts : 16,91% des tumeurs appartiennent au groupe luminal A, 16,17% au groupe luminal B, 6,61 % au groupe HER-2, 17,64% au groupe Basal et 42,64% au groupe NC. En ne tenant en compte que des « cas classés », nous aurons 29,48% des tumeurs dans le groupe luminal A, 28,20% au

groupe luminal B, 11,53 % au groupe HER-2, 30,76% au groupe Basal. Pour ce qui est du grade nucléaire, tous les groupes présentent un grade SBR bas et intermédiaire. Le haut grade n'était présent que dans le type basal.

Pour les prélèvements adressés pour suspicion de lymphome, 33 se sont révélés « positifs » et 18 « négatifs ». La tranche d'âge la plus touchée était celle de 40-59 ans. L'âge médian de survenue était de 42 ans avec des extrêmes de 6 et 90 ans. L'âge moyen est de 40. Le sex-ratio était de 1,53. Les lymphomes ganglionnaires sont plus fréquents et représentent 72,7%. Après étude immunohistochimiques les lymphomes malins non hodgkiniens se sont avérés être de loin les plus fréquents. Sur les 4 cas de lymphome de Hodgkin, il est dénombré 2 cas de lymphome scléronodulaire et 2 cas de lymphome à prédominance lymphocytaire. Il a été noté une prédominance des lymphomes B (62%).

Pour les lymphomes B le sous type histologique le plus fréquent est le lymphome B à grandes cellules (DLBCL) avec 8 cas suivi du lymphome du manteau et le lymphome SAI avec respectivement 3 cas. Le LLC enregistre 2 cas. Le lymphome lymphocytaire 2 cas. Pour les lymphomes T nous avons 6 cas de lymphome PTCL, 3 cas de lymphome T SAI et 2 cas de lymphome T immunoblastique.

Recommandations

Au niveau du personnel :

- Renforcer la formation du personnel (techniciens et médecins)
- Respecter les différentes étapes de l'immunohistochimie pour la fiabilité des résultats.
- Mettre en place un registre spécial pour les tests immunohistochimiques. Ceci facilitera les dépouillements car ce domaine nécessitera encore d'autres études beaucoup plus poussées.

Au niveau de la Direction de l'HPD :

- faire une plaidoirie pour un approvisionnement régulier en réactifs en vue d'éviter les ruptures.

Pour les autres structures sanitaires (laboratoires d'ACP) :

- Mettre l'accent sur la qualité des blocs envoyés (échantillons représentatifs, fixateurs utilisés pour les prélèvements ...).



REFERENCES

1. Genton C. Y.

Immuno-histochimie : son principe, ses applications et ses limites

Clin Mother Child Health 2006; Vol 3, N° 1 : 477-481

2. Gale R. P.

Le Diagnostic du cancer [En ligne]

<https://www.msmanuals.com/fr/professional/hématologie-et-oncologie/revue-générale-des-cancers>

Dernière révision totale juillet 2018 par Robert Peter Gale,

3. Isabelle E.

Le lymphome, un cancer du sang difficile à diagnostiquer. [En ligne]

Disponible : www.Francelymphomeespoire.fr

4. Coulibaly Z.

Cancer du sein en chirurgie générale du CHU.GT. Thèse Med ; Bamako
2017

5. Coulibaly A.

Aspects épidémiologiques et anatomopathologiques des lymphomes au
service d'anatomie et cytologie pathologiques du CHU du Point G ;
Thèse Med ; Bamako ;2015

6. Université Médicale Virtuelle Francophone

Lymphomes malins [En ligne]

Disponible : http://www.medecine.ups-tlse.fr/dcem3/module10/laurent/164_Lymphomes.pdf

7. Mosnier J-F-

Généralités sur les tumeurs (chapitre 7) [En ligne]

Disponible : http://umvf.omsk-osma.ru/campus-anatomie-pathologie/disciplines/niveaudiscipline/niveaumodule/Chapitre7/leconimp_rim.pdf

8. Contet-Audonneau K.

Les signaux non désirés en immunohistochimie sur tissus de souris. Etude comparative de système de révélation. Application à l'étude des effets du délai de fixation sur les indices de prolifération tumorale. Thèse Med ; Nancy ; 2005

9. Aboutajdine F.

Classification moléculaire cancer du sein infiltrant : étude retrospective sur 100 cas ; thèse Méd ; Rabat ; 2016 ; N°316

10. Barnes DM, Harris WH, Smith P, Millis RR, Rubens RD.

Immunohistochemical determination of oestrogen receptor: comparison of different methods of assessment of staining and correlation with clinical outcome of breast cancer patients. Br J Cancer 1996;74:1445–51.

11. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, Allred DC.

Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. JCO 1999; 17:1474.

12. Cheang MCU, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, et al.

Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009;101:736–50.

13. Sennourt W.

Etude rétrospective sur les lymphomes : aspects épidémiologique, clinique et biologique. Mémoire diplôme Master ; Alger ;2017.

14. Nicole B et Julie B.

Pathologie lymphoïde : Les lymphomes et leurs diagnostics différentiels. *Sauramps Medical*, 2014 : 17-200.

15. Berman.A, Teig.B, Duracinsky.M, Gayet.M, Bellin M.F, Guettier.C et al :

Diagnostic en un jour des lésions du sein :évaluation médicale et psychologique de la prise en charge étude EVADIASEIN *Journal de gynécologie obstétrique et biologie dr la reproduction*(2016) 45, 21-28.

16. Ly.M, Antoine.M, André.F, Callard.P, Bernaudin.J.F, Diallo.D.A :

Le cancer du sein chez la femme de l’Afrique sub-saharienne : état actuel des connaissances

Bull Cancer 2011; 98 : 797-806. doi : 10.1684/bdc.2011.1392.

- 17. Diop.o, Ndong.B, Bathily E.A.I, Sow Diop.w, Senghor.R.S, LeyeM.M.M et al:**
Place de la scintigraphie osseuse dans le bilan d'extension des métastases osseuses du cancer du sein au Sénégal : étude préliminaire à propos de 40 cas. rev. cames sante vol.2, n° 1, juillet 2014
- 18. Togo.A, Traoré.A, Traoré.C, Dembélé.B.T, Kanté.L, Diakité.I et al :**
Cancer du sein dans deux centres hospitaliers de Bamako (Mali) :aspects diagnostiques et thérapeutiques J. Afr. Cancer DOI 10.1007/s12558-010-0060-x
- 19. Wu.Q,Ding.X, Li.J, Sun.S, Zhu.S, Chen.C et al :**Surgical treatment in Paget's disease with invasive ductal carcinoma :an observational study based on SEER Published :19 April 2017,pp :1-9
- 20. Essiben.F, Foumane.P, Mboudou.E.T, Dohbit.J.S, Mve Koh.V, Ndom.P :** diagnostic et traitement du cancer de sein au Cameroun: à propos de 65 cas mali médical 2013 tome xxviii n°1
- 21. Abbass.F, Bennis.S, Znati.K, Akasbi.Y, Amrani.J.K, El Mesbahi.O et al :** Le profil épidémiologique et biologique du cancer du sein à Fès-Boulemane (Maroc) EMHJ • Vol. 17 No. 12 • 2011
- 22. Park.EH, Min.SY,Kim.Z,Yoon.CS,Yung.FW,Nam.SJ et al :**Basic facts of breast cancer in Korea in 2014 :The 10-Year overall survival progress J Breast Cancer 2017 March ;20(1) :1-11

- 23. Paredes-Aracil.E, Palazon-Bru.A, Folgado-de la Rosa.DM, Ots-Gutierrez.R,Compan-Rosique.AF,et Gli-Guillen.V** :A scoring system to predict breast cancer mortality at 5 and 10 years
www.nature.com/scientificreports
- 24.Laurent.A.C, Mouttet.D, Renou.M, Wintz.L, Fourchette.V, Féron.J.G et al** :
- La chirurgie du cancer du sein en ambulatoire est faisable et fiable de nos jours : étude portant sur 396 patientes
Bull Cancer 2016; 103: 928–934
- 25.Ahmadaye Ibrahim Khalil**
- Cancer du sein au Maroc: profil phénotypique des tumeurs
Case series ; Casablanca ; 2016
- 26. Freres.P, Collignon.J, Gennigens.C, Scagnol.I, Rorive.A, Barbeaux.A et al** : le cancer du sein «triple négatif» Rev Med Liège 2010; 65 : 3 : 120-126
- 27. Rapiti.E, Pinaud.K, Chappuis.PO, Viassolo.V,Ayme.A, Neyroud-Caspar.I et al** : Opportunities for improving triple-negative breast cancer outcomes :results of a population-based study Cancer Medicine 2017 ; 6(3) :526-536

28. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, Karaca G, Troester MA, Tse CK, Edmiston S, Deming SL, Geradts J, Cheang MC, Nielsen TO, Moorman PG, Earp HS, Millikan RC. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA*. 2006; 295(21): 2492-2502. **PubMed | Google Scholar**

29. Al Tamimi DM, Bernard PS, Shawarby MA, Al-Amri AM, Hadi MA. Distribution of molecular breast cancer subtypes in middle eastern-saudi arabian women - A pilot study. *Ultrastructural Pathology*. 2009; 33(4): 141-150. **PubMed | Google Scholar**

30. Kanté ML.

Aspects épidémiologiques et immunohistochimiques des lymphomes au service d'anatomie et de cytologie pathologique au CHU du Point-G à propos de 20 cas. *These Med, Bamako; 2013, 66p.*

31.Tchonko CBT.

Aspects épidémiologiques et histologiques des lymphomes malins diagnostiqués au laboratoire d'anatomie pathologie de l'institut national de recherche en santé publique (A propos de 240 cas). *These Med, Bamako; 2006, 87p.*

32.Nicole B et Julie B.

Pathologie lymphoïde : Les lymphomes et leurs diagnostics différentiels. *Sauramps Medical, 2014 : 17-200.*

33. N'gassa PP.

Incidence et mortalité par cancer au Mali : données du registre du cancer de 1995 à 2004. *These Med ; Bamako 2006; 68p.*

34. Thierry JM, Agnès LT, et al.

Pathologie moléculaire des lymphomes diffus à grandes cellules B : intérêt diagnostique et pronostique pour l'histopathologiste. *Revue Francophone des Laboratoires 2011 ;428 :57-64.*

35. Kikkeri N, Martine R, Leona A, Nina H, Valeria C, Emily R et al.

Lymphomas in sub-Saharan Africa – what can we learn and how can we help in improving diagnosis, managing patients and fostering translational research? *2011 Blackwell Publishing Ltd, British Journal of Hematology 154: 696–703.*

36. Hot A. et al

Plasmocytome gastrique : une tumeur rare de l'estomac

Communication affichée ; Lyon.

37. Otmány A, Bouklata S, Chami I, et al.

Léiomyosarcome primitif du rein. A propos d'un cas. *Prog Urol 1999 ; 9 : 310-2*

38. Mindell RS, Calcaterra TC, Ward PH. Leiomyosarcoma of the head and neck: a review of the literature and report of two cases. *Laryngoscope*. 1975 May;85(5):904–10. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

39. Pires CAS, Pires LFS, Faber PA. A primary leiomyosarcoma of the lateral border of the tongue. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010 Feb;109(2):e31–e33. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

EXPERIENCE DU LABORATOIRE D'ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES DE L'HPD SUR LA PRATIQUE DE L'IMMUNOHISTOCHEMIE SUR UNE PERIODE DE 07 ANS

RÉSUMÉ

Introduction : l'immunohistochimie constitue une aide diagnostic considérable voire indispensable en oncologie. Elle permet également, particulièrement dans les cancers du sein, l'évaluation du pronostic. Cette étude que nous avons menée concerne majoritairement les lymphomes et les cancers du sein. Elle a permis de dresser les statistiques et comparer nos données à d'autres dans la littérature.

Matériels et méthodes : Notre étude s'étale sur une durée de 07 ans et porte sur 187 prélèvements. Les paramètres étudiés sont ceux inscrits dans le compte rendu immunohistochimique.

Résultats :

Pour le cancer du sein (136 prélèvements), l'âge moyen des patients était de 55,5 ans avec des extrêmes allant de 26 à 75 ans. La tranche d'âge la plus touchée était celle de 40-49 ans. Le sexe féminin était largement prédominant dans la répartition des tumeurs du sein. Pour la latéralité, l'étude n'a pas montré de préférence pour un côté ou un autre. Les prélèvements concernaient majoritairement les biopsies. Le CCI de type NOS était de loin le type histologique prédominant. Les tumeurs de grade II SBR se placent en première position avec un pourcentage de 51% des cas, suivies par les tumeurs de grade I à 44%, viennent ensuite les tumeurs de grade III à 5%. A l'étude immunohistochimique, les cellules tumorales étaient positives dans 58% pour les récepteurs aux œstrogènes (RE), dans 61% pour les récepteurs à la progestérone (RP), dans 33% pour l'HER-2 et dans 48,52% pour le Ki-67. La classification moléculaire a permis de répartir les cas étudiés selon 4 groupes distincts : 16,91% des tumeurs appartiennent au groupe luminal A, 16,17% au groupe luminal B, 6,61 % au groupe HER-2, 17,64% au groupe Basal et 42,64% au groupe NC. En ne tenant en compte que des « cas classés », nous aurons 29,48% des tumeurs dans le groupe luminal A, 28,20% au groupe luminal B, 11,53 % au groupe HER-2, 30,76% au groupe Basal. Pour ce qui est du grade nucléaire, tous les groupes présentent un grade SBR bas et intermédiaire. Le haut grade n'était présent que dans le type basal.

Pour les prélèvements adressés pour suspicion de lymphome, 33 se sont révélés « positifs » et 18 « négatifs ». La tranche d'âge la plus touchée était celle de 40-59 ans. L'âge médian de survenue était de 42 ans avec des extrêmes de 6 et 90 ans. L'âge moyen est de 40. Le sex-ratio était de 1,53. Les lymphomes ganglionnaires sont plus fréquents et représentent 72,7%. Après étude immuno-histochimiques les lymphomes malins non hodgkiniens se sont avérés être de loin les plus fréquents. Sur les 4 cas de lymphome de Hodgkin, il est dénombré 2 cas de lymphome scléronodulaire et 2 cas de lymphome à prédominance lymphocytaire. Il a été noté une prédominance des lymphomes B (62%). Pour ces derniers, le sous type histologique le plus fréquent est le lymphome B à grandes cellules (DLBCL) avec 8 cas suivi du lymphome du manteau et le lymphome SAI avec respectivement 3 cas. Le LLC enregistre 2 cas. Le lymphome lymphocytaire 2 cas. Pour les lymphomes T nous avons 6 cas de lymphome PTCL, 3 cas de lymphome T SAI et 2 cas de lymphome T immunoblastique.

Conclusion : Au Sénégal comme partout ailleurs, la pratique de l'immunohistochimie dans les laboratoires d'Anatomie et Cytologie Pathologiques s'avère être une nécessité impérieuse. Une prise en charge correcte des cas de cancer passera infailliblement par un relèvement du plateau technique qui sera constitué entre autres du matériel d'immunohistochimie. Cela constituera la première étape, et la deuxième sera une formation du personnel, pathologiste et technicien.

Mots clés : immunohistochimie, anatomie et cytologie pathologiques, cancers du sein, lymphome.