UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

Double

UNIVERSITE HENRI POINCARE, NANCY I
2001

FACULTE DE MEDECINE DE NANCY
N° 33

THESE

SCD-UHP - NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE
MÉDECINE

pour obtenir le grade de

Docteur en Médecine

Présentée et soutenue publiquement
dans le cadre du troisième cycle de Médecine Spécialisée

par

Fernanda GARCIA PIMENTA

le 20 Avril 2001

APPORT DE L'ANTICORPS ANTI C-KIT POUR LE DIAGNOSTIC DES TUMEURS STROMALES GASTRO-INTESTINALES

A PROPOS D'UNE ETUDE RETROSPECTIVE DE 62 OBSERVATIONS.

BIBLIOTHEQUE MEDECINE NANCY 1
D 007 184918 9

Examinateurs de la thèse :

M. A. DUPREZ	Professeur	)	*Président*
M. F. PLENAT	Professeur	)	
M. J-M VIGNAUD	Professeur	)	*Juges*
M^ME V. HENNEQUIN	Médecin	)	

UNIVERSITE HENRI POINCARE, NANCY I — FACULTE DE MEDECINE DE NANCY

2001 — N°

THESE

pour obtenir le grade de

Docteur en Médecine

Présentée et soutenue publiquement

dans le cadre du troisième cycle de Médecine Spécialisée

par

Fernanda GARCIA PIMENTA

SCD-UHP - NANCY 1 BIBLIOTHÈQUE MÉDECINE

le 20 Avril 2001

APPORT DE L'ANTICORPS ANTI C-KIT POUR LE DIAGNOSTIC DES TUMEURS STROMALES GASTRO-INTESTINALES

A PROPOS D'UNE ETUDE RETROSPECTIVE DE 62 OBSERVATIONS.

Examinateurs de la thèse :

M. A. DUPREZ	Professeur	)	*Président*
M. F. PLENAT	Professeur	)	
M. J-M VIGNAUD	Professeur	)	*Juges*
M^ME V. HENNEQUIN	Médecin	)	

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1

FACULTÉ DE MÉDECINE DE NANCY

SCD-UHP - NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE
MÉDECINE

Président de l'Université : Professeur Claude BURLET

Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Jacques ROLAND

Vice-Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Hervé VESPIGNANI

Assesseurs

du 1er Cycle :	**Mme le Docteur Chantal KOHLER**
du 2ème Cycle :	**Mme le Professeur Michèle KESSLER**
du 3ème Cycle :	**Mr le Professeur Jacques POUREL**
de la Vie Facultaire :	**Mr le Professeur Philippe HARTEMANN**

DOYENS HONORAIRES

Professeur Adrien DUPREZ - Professeur Jean-Bernard DUREUX
Professeur Georges GRIGNON - Professeur François STREIFF

PROFESSEURS HONORAIRES

Louis PIERQUIN - Etienne LEGAIT - Jean LOCHARD - René HERBEUVAL - Gabriel FAIVRE - Jean-Marie FOLIGUET
Guy RAUBER - Paul SADOUL - Raoul SENAULT - Pierre ARNOULD - Roger BENICHOUX - Marcel RIBON
Jacques LACOSTE - Jean BEUREY - Jean SOMMELET - Pierre HARTEMANN - Emile de LAVERGNE
Augusta TREHEUX - Michel MANCIAUX - Paul GUILLEMIN - Pierre PAYSANT
Jean-Claude BURDIN - Claude CHARDOT - Jean-Bernard DUREUX - Jean DUHEILLE - Jean-Pierre GRILLIAT
Pierre LAMY - François STREIFF - Jean-Marie GILGENKRANTZ - Simone GILGENKRANTZ
Pierre ALEXANDRE - Robert FRISCH - Jean GROSDIDIER - Michel PIERSON - Jacques ROBERT
Gérard DEBRY - Georges GRIGNON - Pierre TRIDON - Michel WAYOFF - François CHERRIER – Oliéro GUERCI
Gilbert PERCEBOIS - Claude PERRIN - Jean PREVOT - Pierre BERNADAC - Jean FLOQUET
Alain GAUCHER - Michel LAXENAIRE – Michel BOULANGE – Michel DUC – Claude HURIET – Pierre LANDES
Alain LARCAN – Gérard VAILLANT – Daniel ANTHOINE – Pierre GAUCHER – René-Jean ROYER
Hubert UFFHOLTZ - Jacques LECLERE – Francine NABET – Jacques BORRELLY

==========

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42ème Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1ère sous-section : ***(Anatomie)***

Professeur Michel RENARD - Professeur Jacques ROLAND - Professeur Gilles GROSDIDIER
Professeur Pierre LASCOMBES - Professeur Marc BRAUN

2ème sous-section : ***(Cytologie et histologie)***

Professeur Bernard FOLIGUET

3ème sous-section : ***(Anatomie et cytologie pathologiques)***

Professeur Adrien DUPREZ - Professeur François PLENAT
Professeur Jean-Michel VIGNAUD - Professeur Eric LABOUYRIE

43ème Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1ère sous-section : ***(Biophysique et médecine nucléaire)***

Professeur Alain BERTRAND - Professeur Gilles KARCHER - Professeur Pierre-Yves MARIE

2ème sous-section : ***(Radiologie et imagerie médicale)***

Professeur Jean-Claude HOEFFEL - Professeur Luc PICARD - Professeur Denis REGENT
Professeur Michel CLAUDON - Professeur Serge BRACARD - Professeur Alain BLUM

44ème Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1ère sous-section : ***(Biochimie et biologie moléculaire)***

Professeur Pierre NABET - Professeur Jean-Pierre NICOLAS

Professeur Jean-Louis GUÉANT – Professeur Jean-Luc OLIVIER

2ème sous-section : ***(Physiologie)***

Professeur Jean-Pierre CRANCE - Professeur Jean-Pierre MALLIE

Professeur François MARCHAL - Professeur Philippe HAOUZI

3ème sous-section : ***(Biologie cellulaire)***

Professeur Claude BURLET

4ème sous-section : ***(Nutrition)***

Professeur Olivier ZIEGLER

45ème Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1ère sous-section : ***(Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière)***

Professeur Alain LE FAOU

2ème sous-section : ***(Parasitologie et mycologie)***

Professeur Bernard FORTIER

3ème sous-section : ***(Maladies infectieuses ; maladies tropicales)***

Professeur Philippe CANTON - Professeur Thierry MAY

46ème Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1ère sous-section : ***(Epidémiologie, économie de la santé et prévention)***

Professeur Jean-Pierre DESCHAMPS - Professeur Philippe HARTEMANN

Professeur Serge BRIANÇON - Professeur Francis GUILLEMIN

2ème sous-section : ***(Médecine et santé au travail)***

Professeur Guy PETIET

3ème sous-section : ***(Médecine légale et droit de la santé)***

Professeur Henry COUDANE

4ème sous-section : ***(Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication)***

Professeur Bernard LEGRAS - Professeur François KOHLER

47ème Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1ère sous-section : ***(Hématologie ; transfusion)***

Professeur Christian JANOT - Professeur Thomas LECOMPTE - Professeur Pierre BORDIGONI - Professeur Pierre LEDERLIN - Professeur Jean-François STOLTZ

2ème sous-section : ***(Cancérologie ; radiothérapie)***

Professeur François GUILLEMIN - Professeur Thierry CONROY

Professeur Pierre BEY – Professeur Didier PEIFFERT

3ème sous-section : ***(Immunologie)***

Professeur Gilbert FAURE - Professeur Marie-Christine BENE

4ème sous-section : ***(Génétique)***

Professeur Philippe JONVEAUX - Professeur Bruno LEHEUP

48ème Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

1ère sous-section : ***(Anesthésiologie et réanimation chirurgicale)***

Professeur Marie-Claire LAXENAIRE - Professeur Claude MEISTELMAN - Professeur Dan LONGROIS

2ème sous-section : ***(Réanimation médicale)***

Professeur Henri LAMBERT - Professeur Nicolas DELORME - Professeur Alain GERARD

Professeur Pierre-Edouard BOLLAERT

3ème sous-section : ***(Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique)***

Professeur Patrick NETTER - Professeur Pierre GILLET

4ème sous-section : ***(Thérapeutique)***

Professeur François PAILLE - Professeur Gérard GAY – Professeur Faiez ZANNAD

49ème Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP et RÉÉDUCATION

1ère sous-section : ***(Neurologie)***

Professeur Michel WEBER - Professeur Gérard BARROCHE - Professeur Hervé VESPIGNANI

2ème sous-section : ***(Neurochirurgie)***

Professeur Henri HEPNER - Professeur Jean-Claude MARCHAL - Professeur Jean AUQUE

Professeur Thierry CIVIT

3ème sous-section : ***(Psychiatrie d'adultes)***

Professeur Jean-Pierre KAHN

4ème sous-section : ***(Pédopsychiatrie)***

Professeur Colette VIDAILHET - Professeur Daniel SIBERTIN-BLANC

5ème sous-section : ***(Médecine physique et de réadaptation)***

Professeur Jean-Marie ANDRE

SCD-UHP - NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE
MÉDECINE

50ème Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE et CHIRURGIE PLASTIQUE

1ère sous-section : ***(Rhumatologie)***

Professeur Jacques POUREL - Professeur Isabelle VALCKENAERE

2ème sous-section : ***(Chirurgie orthopédique et traumatologique)***

Professeur Daniel SCHMITT - Professeur Jean-Pierre DELAGOUTTE - Professeur Daniel MOLE

Professeur Didier MAINARD

3ème sous-section : ***(Dermato-vénéréologie)***

Professeur Jean-Luc SCHMUTZ – Professeur Annick BARBAUD

4ème sous-section : ***(Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique)***

Professeur François DAP

51ème Section : PATHOLOGIE CARDIORESPIRATOIRE et VASCULAIRE

1ère sous-section : ***(Pneumologie)***

Professeur Jean-Marie POLU - Professeur Yves MARTINET

Professeur Jean-François CHABOT

2ème sous-section : ***(Cardiologie)***

Professeur Etienne ALIOT - Professeur Yves JUILLIERE - Professeur Nicolas SADOUL

3ème sous-section : ***(Chirurgie thoracique et cardiovasculaire)***

Professeur Pierre MATHIEU - Professeur Jean-Pierre VILLEMOT

Professeur Jean-Pierre CARTEAUX

4ème sous-section : ***(Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire)***

Professeur Gérard FIEVE

52ème Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF et URINAIRE

1ère sous-section : ***(Gastroentérologie ; hépatologie)***

Professeur Marc-André BIGARD

Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI

2ème sous-section : ***(Chirurgie digestive)***

-

3ème sous-section : ***(Néphrologie)***

Professeur Michèle KESSLER – Professeur Dominique HESTIN (Mme)

4ème sous-section : ***(Urologie)***

Professeur Philippe MANGIN - Professeur Jacques HUBERT

53ème Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE GÉNÉRALE

1ère sous-section : ***(Médecine interne)***

Professeur Gilbert THIBAUT - Professeur Francis PENIN

Professeur Denise MONERET-VAUTRIN – Professeur Denis WAHL

Professeur Jean DE KORWIN KROKOWSKI - Professeur Pierre KAMINSKY

2ème sous-section : ***(Chirurgie générale)***

Professeur Patrick BOISSEL - Professeur Laurent BRESLER

54ème Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION

1ère sous-section : ***(Pédiatrie)***

Professeur Paul VERT - Professeur Danièle SOMMELET - Professeur Michel VIDAILHET - Professeur Pierre MONIN
Professeur Jean-Michel HASCOET – Professeur Pascal CHASTAGNER

2ème sous-section : ***(Chirurgie infantile)***

Professeur Michel SCHMITT - Professeur Gilles DAUTEL

3ème sous-section : ***(Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale)***

Professeur Michel SCHWEITZER - Professeur Jean-Louis BOUTROY
Professeur Philippe JUDLIN - Professeur Patricia BARBARINO

4ème sous-section : ***(Endocrinologie et maladies métaboliques)***

Professeur Pierre DROUIN - Professeur Georges WERYHA

5ème sous-section : ***(Biologie et médecine du développement et de la reproduction)***

Professeur Hubert GERARD

SCD-UHP - NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE
MÉDECINE

55ème Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1ère sous-section : ***(Oto-rhino-laryngologie)***

Professeur Claude SIMON - Professeur Roger JANKOWSKI

2ème sous-section : ***(Ophtalmologie)***

Professeur Antoine RASPILLER - Professeur Jean-Luc GEORGE - Professeur Jean-Paul BERROD

3ème sous-section : ***(Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie)***

Professeur Michel STRICKER - Professeur Jean-François CHASSAGNE

==========

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

27ème section : INFORMATIQUE

Professeur Jean-Pierre MUSSE

64ème Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeur Daniel BURNEL

==========

PROFESSEUR ASSOCIÉ

Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie

Docteur RESTREPO

==========

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42ème Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1ère sous-section : ***(Anatomie)***

Docteur Bruno GRIGNON

2ème sous-section : ***(Cytologie et histologie)***

Docteur Edouard BARRAT - Docteur Jean-Claude GUEDENET
Docteur Françoise TOUATI - Docteur Chantal KOHLER

3ème sous-section : ***(Anatomie et cytologie pathologiques)***

Docteur Yves GRIGNON - Docteur Béatrice MARIE

43ème Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE
1ère sous-section : ***(Biophysique et médecine nucléaire)***
Docteur Marie-Hélène LAURENS - Docteur Jean-Claude MAYER
Docteur Pierre THOUVENOT - Docteur Jean-Marie ESCANYE - Docteur Amar NAOUN

44ème Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION
1ère sous-section : ***(Biochimie et biologie moléculaire)***
Docteur Marie-André GELOT - Docteur Xavier HERBEUVAL - Docteur Jean STRACZEK
Docteur Sophie FREMONT - Docteur Isabelle GASTIN – Dr Bernard NAMOUR
2ème sous-section : ***(Physiologie)***
Docteur Gérard ETHEVENOT - Docteur Nicole LEMAU de TALANCE - Christian BEYAERT

45ème Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE
1ère sous-section : ***(Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière)***
Docteur Francine MORY - Docteur Michèle WEBER - Docteur Christine LION
Docteur Michèle DAILLOUX – Docteur Alain LOZNIEWSKI
2ème sous-section : ***(Parasitologie et mycologie)***
Docteur Marie-France BIAVA - Docteur Nelly CONTET-AUDONNEAU

46ème Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ
1ère sous-section : ***(Epidémiologie, économie de la santé et prévention)***
Docteur Mickaël KRAMER

47ème Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE
1ère sous-section : ***(Hématologie ; transfusion)***
Docteur Jean-Claude HUMBERT - Docteur François SCHOONEMAN
3ème sous-section : ***(Immunologie)***
Docteur Marie-Nathalie SARDA
4ème sous-section : ***(Génétique)***
Docteur Christophe PHILIPPE

48ème Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE
1ère sous-section : ***(Anesthésiologie et réanimation chirurgicale)***
Docteur Jacqueline HELMER - Docteur Gérard AUDIBERT
3ème sous-section : ***(Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique)***
Docteur Françoise LAPICQUE - Docteur Marie-José ROYER-MORROT
Docteur Damien LOEUILLE

54ème Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION
5ème sous-section : ***(Biologie et médecine du développement et de la reproduction)***
Docteur Jean-Louis CORDONNIER

==========

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

19ème section : SOCIOLOGIE, DÉMOGRAPHIE
Madame Michèle BAUMANN .

32ème section : CHIMIE ORGANIQUE, MINÉRALE, INDUSTRIELLE
Monsieur Jean-Claude RAFT

40ème section : SCIENCES DU MÉDICAMENT
Monsieur Jean-Yves JOUZEAU

60ème section : MÉCANIQUE, GÉNIE MÉCANIQUE ET GÉNIE CIVILE
Monsieur Alain DURAND

64ème section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
Madame Marie-Odile PERRIN - Mademoiselle Marie-Claire LANHERS

65ème section : BIOLOGIE CELLULAIRE
Mademoiselle Françoise DREYFUSS - Monsieur Jean-Louis GELLY - Madame Anne GERARD
Madame Ketsia HESS - Monsieur Pierre TANKOSIC - Monsieur Hervé MEMBRE

67ème section : BIOLOGIE DES POPULATIONS ET ÉCOLOGIE
Madame Nadine MUSSE

68ème section : BIOLOGIE DES ORGANISMES
Madame Tao XU-JIANG

==========

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS
Médecine Générale
Docteur Alain AUBREGE
Docteur Louis FRANCO

==========

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Professeur Georges GRIGNON - Professeur Michel MANCIAUX
Professeur Jean-Pierre GRILLIAT - Professeur Michel PIERSON – Professeur Alain GAUCHER
Professeur Michel BOULANGE - Professeur Alain LARCAN - Professeur Michel DUC
Professeur Michel WAYOFF - Professeur Daniel ANTHOINE – Professeur Claude HURIET
Professeur Hubert UFFHOLTZ – Professeur René-Jean ROYER

==========

DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Norman SHUMWAY (1972)
Université de Stanford, Californie (U.S.A)
Professeur Paul MICHIELSEN (1979)
Université Catholique, Louvain (Belgique)
Professeur Charles A. BERRY (1982)
Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)
Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)
Brown University, Providence (U.S.A)
Professeur Mamish Nisbet MUNRO (1982)
Massachusetts Institute of Technology (U.S.A)
Professeur Mildred T. STAHLMAN (1982)
Wanderbilt University, Nashville (U.S.A)
Professeur Harry J. BUNCKE (1989)
Université de Californie, San Francisco (U.S.A)
Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)
Institut d'Anatomie de Würtzburg (R.F.A)
Professeur Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS (1996)
Université de Pennsylvanie (U.S.A)
Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)
Research Institute for Mathematical Sciences de Kyoto (JAPON)
Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)
Université d'Helsinki (FINLANDE)
Professeur James STEICHEN (1997)
Université d'Indianapolis (U.S.A)
Professeur Duong Quang TRUNG (1997)
Centre Universitaire de Formation et de Perfectionnement des Professionnels de Santé d'Hô Chi Minh-Ville (VIÊTNAM)

REMERCIEMENTS

A notre Maître et Président de Thèse,

Monsieur le Professeur A. DUPREZ
Professeur d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques
Doyen honoraire de la Faculté A de Médecine
Chevalier dans l'Ordre National du Mérite
Officier dans l'Ordre des Palmes Académiques

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de cette thèse.

Votre approche scientifique rigoureuse, vos judicieux conseils et l'étendue de vos connaissances nous ont permis de mener à bien ce travail. Au cours de notre internat, nous avons pu bénéficier de votre grande expérience de l'anatomie pathologique et appris l'importance d'une analyse rigoureuse. Nous garderons en mémoire l'enthousiasme et l'esprit de découverte que vous avez su nous communiquer dans vos enseignements.

Que ce travail, soit l'expression de notre gratitude et de notre respectueuse admiration.

A notre Maître et Juge,

Monsieur le Professeur F. PLENAT

Professeur d'Anatomie et de Cytologie pathologiques (Option biologique)

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de juger cette thèse.

Nous vous remercions de l'intérêt et de la bienveillante attention que vous nous avez toujours portés durant la réalisation de ce travail. Au cours de nos études, nous avons été impressionnée par votre grande expérience et avons pu apprécier le dynamisme dont vous faites bénéficier l'anatomie pathologique en développant sans cesse de nouvelles techniques histologiques et immunohistochimiques pour améliorer le diagnostic morphologique.

Nous vous prions de trouver dans ce travail l'expression de notre profonde reconnaissance.

A notre Maître et juge,

Monsieur le Professeur J.M. VIGNAUD
Professeur d'Anatomie et de Cytologie pathologiques

Nous vous sommes gré d'avoir bien voulu être notre juge.

Durant notre internat, nous avons pu apprécier l'enthousiasme avec lequel vous transmettez à vos élèves une partie de vos grandes connaissances tant dans le domaine théorique que pratique. Votre expérience de la clinique et de la pathologie nous ont été très largement bénéfiques.

Veuillez trouver ici le témoignage de notre reconnaissance et de notre profond respect.

A notre juge,

Madame le Docteur V. HENNEQUIN

Vous avez toujours su être disponible pour nous accorder les conseils et les encouragements nécessaires à la réalisation de ce travail. Nous vous remercions de votre gentillesse et de votre patience.

Veuillez trouver ici la manifestation de notre profonde reconnaissance.

Dédicace particulière

Monsieur le Professeur B. GOSSELIN

Professeur d'Anatomie et de Cytologie pathologiques au CHRU de LILLE

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter notre candidature comme assistante – chef de clinique dans votre service.

Nous avons, à cette occasion, pu apprécier votre accueil chaleureux et votre disponibilité. Votre grande expérience de l'anatomie pathologique nous permettra d'approfondir, sous votre autorité, nos connaissances.

Nous vous remercions de votre bienveillance à notre égard.

A nos Maîtres successifs d'Internat,

Monsieur le Professeur B. FOLIGUET

Monsieur le Professeur B.LEHEUP

Monsieur le Docteur STERZMER

Monsieur le Docteur AUBERTEL

Monsieur le Docteur KRAKOWSKI

Monsieur le Professeur A.DUPREZ

Monsieur le Professeur J.M. VIGNAUD

Monsieur le Professeur F. PLENAT

Monsieur le Professeur E. LABOUYRIE

Monsieur le Docteur R.M. PARACHE

SCD-UHP - NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE
MÉDECINE

Nous remercions tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail :

✓ Madame le Docteur Jacqueline CHAMPIGNEULLE

pour ses connaissances en microscopie électronique.

✓ Madame le Docteur Valérie LAURENT

pour son aide concernant les examens radiologiques.

✓ Mesdames les techniciennes du laboratoire d'Anatomie Pathologique de Monsieur le Professeur PLENAT et en particulier à Mesdames Sylviane PIZZAGALLI et Denise THIEBAUT

pour leur gentillesse, leur patience et leur aide précieuse à la réalisation technique de ce travail.

✓ Madame le Docteur Maud OUNNOUGHENE, Messieurs les Docteur Laurent ANTUNES et Vincent BLAND

pour leur aide et leur gentillesse.

✓ A tous les membres des laboratoires d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques de monsieur le Professeur J.-M. VIGNAUD et de monsieur le Docteur R.M. PARACHE.

✓ A mes Collègues et Amis.

A Vincent,

Mon Amour.

A Jade,

Notre fille, notre plus belle œuvre.

A mes parents,

Leur soutien m'a permis d'accomplir ces longues études

Qu'ils trouvent ici le témoignage de mon amour et de ma reconnaissance.

A mes beaux parents,

Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde affection.

A mes grands-parents d'adoption : Andrée, Jeanine et Raymond

A Sophie et Pascal, Rose et Jérôme, Hirminia et Bruno

A Sylvain et Géraldine

A toute ma famille,

Si loin , si proche

A mes amis

SERMENT

« Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver et de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et moraux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état et leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque »

SCD-UHP - NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE
* MÉDECINE *

TABLE DES MATIERES

Page

REMERCIEMENTS 8

SERMENT 17

TABLE DES MATIERES 19

ABREVIATIONS 24

FIGURES 25

GRAPHIQUES 26

PLANCHES PHOTOGRAPHIQUES 27

TABLEAUX 28

INTRODUCTION 30

PREMIERE PARTIE : RAPPELS DES CONNAISSANCES ACTUELLES RELATIVES AUX TUMEURS STROMALES GASTRO-INTESTINALES 33

1.1. DEFINITION - HISTORIQUE 34

1.1.1. DEFINITION DES TUMEURS STROMALES 34

1.1.2. HISTORIQUE 35

1.2. LES CARACTERES GENERAUX DES TUMEURS STROMALES 36

1.2.1. LES CARACTERISTIQUES CLINIQUES ET LES TRAITEMENTS DES TUMEURS STROMALES 36

1.2.1.1. Les caractéristiques épidémiologiques 36

1.2.1.2. Les caractères topographiques 38

1.2.1.3. Les signes cliniques 40

1.2.1.4. Les méthodes diagnostiques 40

1.2.1.5. Les traitements des tumeurs stromales 43

1.2.2. LES ASPECTS MACROSCOPIQUES, MICROSCOPIQUES ET ULTRASTRUCTURAUX DES TUMEURS STROMALES 44

1.2.2.1. L'étude macroscopique 44

Page

1.2.2.2. Les caractéristiques microscopiques 44

1.2.2.3. Les aspects ultrastructuraux 45

1.2.3. LES CARACTERISTIQUES IMMUNOHISTOCHIMIQUES 46

1.2.3.1. Rappel des caractéristiques des principaux anticorps utilisés pour le diagnostic des tumeurs stromales 46

1.2.3.2. Le récepteur c-kit 50

- ❖ Généralités
- ❖ Sa structure
- ❖ Sa fonction et sa distribution
- ❖ Les mutations du gène *c-kit* et les pathologies associées

1.2.4. LES FORMES PARTICULIERES DE TUMEURS STROMALES 57

1.2.4.1. Les tumeurs stromales avec des fibres sténoïdes ou tumeurs conjonctives avec fibres en écheveau 57

1.2.4.2. Les tumeurs stromales issues du système nerveux autonome gastro-intestinal 58

1.2.5. LES PRINCIPAUX DIAGNOSTICS DIFFERENTIELS 60

1.2.5.1. Le léiomyome digestif 60

1.2.5.2. Le léiomyosarcome digestif 61

1.2.5.3. Le schwannome digestif 63

1.2.6. LES FACTEURS PRONOSTIQUES DES TUMEURS STROMALES 64

1.2.6.1. Les facteurs cliniques 65

1.2.6.2. Les signes histologiques 66

1.2.7. LES HYPOTHESES HISTOGENETIQUES 68

1.2.7.1. Rappels 68

1.2.7.2. La cellule interstitielle de Cajal 69

- ❖ Généralités
- ❖ La mise en évidence de la cellule interstitielle de Cajal
- ❖ La distribution et la morphologie de la cellule interstitielle de Cajal au niveau du tube digestif
- ❖ L'origine embryologique de la cellule interstitielle de Cajal
- ❖ Les fonctions de la cellule interstitielle de Cajal
- ❖ La cellule interstitielle de Cajal lors de maladies gastro-intestinales

Page

1.2.8. SYNTHESE DES INFORMATIONS COLLIGEES 76

DEUXIEME PARTIE : MISE EN EVIDENCE DU RECEPTEUR C-KIT. ETUDE ANATOMO-CLINIQUE DE NOTRE SERIE ... 78

2.1. MATERIEL ET METHODES 79

2.1.1. MISE EN EVIDENCE IMMUNOHISTOCHIMIQUE DU RECEPTEUR C-KIT 79

2.1.1.1. Méthode immunohistochimique en trois couches faisant appel au couple streptavidine-biotine et à une inversion de la fixation formolée par hydrolyse à chaud dans un tampon citrate chauffé à l'autocuiseur. Méthode de référence 79

2.1.1.2. Méthode immunohistochimique en trois couches faisant appel au couple streptavidine-biotine. Réalisation de la technique sans inversion préalable de la fixation formolée ou après tentative d'hydrolyse à chaud dans un tampon chauffé au bain marie 81

2.1.1.3. Méthode immunohistochimique en trois couches faisant appel au couple streptavidine-biotine. Réalisation de la technique après démasquage antigénique à la trypsine 82

2.1.1.4. Méthodes immunohistochimiques faisant appel à un système d'amplification 82

2.1.1.5. Mise en évidence de l'antigène c-kit sur coupes semi-fines. Essais d'inclusion en Unicryl™ ou en alcool polyvinylique 86

2.1.1.6. Méthodes immunohistochimiques appliquées à notre série 88

2.1.2. L'ETUDE DES OBSERVATIONS PERSONNELLES 89

2.1.2.1. Le groupe étudié 89

2.1.2.2. Méthodes 89

2.2. RESULTATS 93

2.2.1. MISE EN EVIDENCE IMMUNOHISTOCHIMIQUE DU RECEPTEUR C-KIT. 93

2.2.1.1 Méthode immunohistochimique en trois couches faisant appel au couple streptavidine-biotine 93

2.2.1.2. Méthode immunohistochimique faisant appel à un procédé d'amplification 94

2.2.1.3. Inclusion des tissus en Unicryl™ ou en alcool polyvinylique 94

Page

2.2.2. L'ETUDE DES OBSERVATIONS PERSONNELLES 98

2.2.2.1. Les caractéristiques cliniques 98

2.2.2.2. Les caractéristiques macroscopiques et microscopiques 107

TROISIEME PARTIE : DISCUSSION 124

3.1. LES CARACTERISTIQUES CLINIQUES ET ANATOMO-PATHOLOGIQUES DES TUMEURS STROMALES DE LA SERIE 125

3.2. L'EXPRESSION DU C-KIT DANS LES TUMEURS STROMALES 127

3.2.1. LA MISE EN EVIDENCE IMMUNOHISTOCHIMIQUE DU RECEPTEUR C-KIT 127

3.2.2. L'EXPRESSION DU RECEPTEUR C-KIT DANS NOTRE SERIE 129

3.2.2.1. Le groupe des tumeurs n'exprimant pas le récepteur c-kit 129

3.2.2.2. Le groupe des tumeurs exprimant le récepteur c-kit 132

3.3. LE RECEPTEUR C-KIT : APPORT POUR L'ORIGINE HISTOGENETIQUE DES TUMEURS STROMALES 135

CONCLUSION 137

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 140

ANNEXES 163

- ❒ Diluant des anticorps
- ❒ Hématoxyline
- ❒ Milieu de montage contenant de l'alcool polyvinylique
- ❒ MR 50X Peroxydase
- ❒ Paraformaldéhyde à 4 % (m/v)
- ❒ Alcool polyvinylique pour inclusion
- ❒ Tampon Citrate
- ❒ Tampon Cacodylate 0,1 M
- ❒ Tampon PBS-Tween
- ❒ Tampon TRIS IMIDAZOLE
- ❒ Tris Hcl 0,1M pH 8,2
- ❒ Tyramide-Biotine

ABREVIATIONS

bek	Basic fibroblast growth factor 2 receptor
CSF-1-R :	Colony Stimulating Factor 1 Réceptor
EGF-R	Endothelium Growth Factor Receptor
FGF-R	Fibroblast Growth Factor Receptor
flg	Acidic fibroblast growth factor 1 receptor
GANT	Gastrointestinal Autonomic Nerve Tumor
GIPACT	GastroIntestinal Pacemaker Cell Tumors
GIST	GastroIntestinal Stromal Tumor
HER2/*neu*	tyrosine kinase type cell surface receptor
HER3/c-*erb*B-3	tyrosine kinase type cell surface receptor
ICC	Cellule interstitielle de Cajal
IGF-1-R	Insulin like Growth Factor 1 Receptor
Insulin-R	Insulin Receptor
IRR	insulin receptor-related receptor
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PDGF-R-A	Platelet Derived Growth Factor de type A Réceptor
PDGF-R-B	Platelet Derived Growth Factor de type B Réceptor
RT-PCR	Transcription Reverse – Réaction de Polymérisation en Chaîne
SMT-UMP	Smooth Muscle Tumors of Uncertain Malignant Potentiel
VIH	Virus Immunodéfience Humaine
VIP	Vasoactive Intestinale Peptide

FIGURES

		Page
Figure n°1 :	Les principaux types de tumeurs gastro-intestinales d'origine non épithéliale par ordre de fréquence d'après Chan J. (22)	**34**
Figure n°2 :	Evolution de la dénomination des tumeurs gastro-intestinales de substance conjonctive d'après Chan J. (22)	**36**
Figure n°3 :	Représentation schématique des quatre classes de récepteurs tyrosine kinase	**51**
Figure n°4 :	Mutations du récepteur C-kit dans les cellules des tumeurs stromales	**55**
Figure n°5 :	Mutations du gène *c-kit* d'après Chan J. (22)	**56**
Figure n°6 :	Différence de potentiel d'action chez une souris normale et chez une souris mutante W	**74**
Figure n°7	Principe du système Envision™ (Dako)	**83**

GRAPHIQUES

		Page
Graphique n°1 :	La répartition des 62 tumeurs stromales gastro-intestinales selon l'âge et le sexe	**98**
Graphique n°2 :	La localisation des 62 tumeurs stromales gastro-intestinales dans le tube digestif	**99**
Graphique n°3 :	La localisation des tumeurs malignes dans le tube digestif	**100**
Graphique n°4 :	Les tumeurs d'évolution maligne	**103**
Graphique n°5 :	La taille tumorale en fonction de l'évolution maligne ou bénigne	**109**
Graphique n°6 :	Le type cellulaire des tumeurs malignes	**110**
Graphique n°7 :	Le type cellulaire des tumeurs bénignes	**111**

PLANCHES PHOTOGRAPHIQUES

		Page
Planche n°1 :	Quelques caractéristiques macroscopiques des tumeurs stromales	**39**
Planche n°2 :	Mise en évidence par technique immunohistochimique du récepteur c-kit sur quelques tissus normaux	**95**
Planche n°3 :	Mise en évidence par technique immunohistochimique du récepteur c-kit sur quelques tissus pathologiques	**96**
Planche n°4 :	Mise en évidence par techniques immunohistochimiques du récepteur c-kit	**97**
Planche n°5 :	Le léiomyome digestif	**120**
Planche n°6 :	Le schwannome digestif	**121**
Planche n°7 :	Quelques caractéristiques morphologiques et immunohistochimiques des tumeurs stromales	**122**
Planche n°8 :	Tumeur issue du système nerveux autonome gastro-intestinal (GANT)	**123**

TABLEAUX

		Page
Tableau n°1 :	Résumé de quelques études immunohistochimiques de tumeurs stromales	**47**
Tableau n°2 :	Expression du récepteur c-kit par immunohistochimie sur des tissus normaux	**53**
Tableau n°3 :	Facteurs pronostiques des tumeurs stromales selon Lewin et collaborateurs (63)	**67**
Tableau n°4 :	Facteurs pronostiques des tumeurs stromales selon Amin et collaborateurs (4)	**67**
Tableau n°5 :	Facteurs pronostiques des tumeurs stromales selon Suster (118)	**68**
Tableau n°6 :	Les principales variations ultrastructurales des cellules interstitielles de Cajal selon leur localisation le long du tube digestif	**73**
Tableau n°7 :	Les caractéristiques des anticorps utilisés dans notre étude	**91**
Tableau n°8 :	La répartition des tumeurs stromales gastro-intestinales en fonction de leur localisation dans le tube digestif	**99**
Tableau n°9	Les symptômes révélateurs des 62 tumeurs stromales gastro-intestinales	**101**
Tableau n°10	Les caractéristiques anatomo-cliniques des 62 tumeurs stromales gastro-intestinales	**104**
Tableau n°11	Les caractéristiques macroscopiques et microscopiques des 62 tumeurs stromales gastro-intestinales	**107**
Tableau n°12	La répartition des tumeurs stromales gastro-intestinales en fonction de leur taille	**108**
Tableau n°13	Le compte des mitoses en fonction de la malignité et de la localisation des tumeurs dans le tube digestif	**112**

Tableau n°14 La séparation des tumeurs stromales gastro-intestinales selon les critères d'Amin et collaborateurs (4) **113**

Tableau n°15 Les caractéristiques immunohistochimiques et ultrastructurales des 62 tumeurs stromales gastro-intestinales **118**

INTRODUCTION

Les tumeurs stromales gastro-intestinales constituent le groupe le plus important parmi les tumeurs primitives non épithéliales du tube digestif. Depuis de nombreuses années, leur origine et leur évolution posent de complexes problèmes aux pathologistes. Leurs modalités de différenciation sont l'objet de multiples publications mais les hypothèses les concernant sont de plus en plus controversées. Leur origine histogénétique demeure obscure et leur évolution clinique variable rend difficile la découverte de facteurs histopronostiques fiables. En microscopie optique, ces tumeurs ont longtemps été considérées comme étant d'origine musculaire lisse. Cependant les études immunohistochimiques et ultrastructurales récentes ont permis de mettre en évidence dans ces cellules tumorales des différenciations variées : musculaire, nerveuse ou musculaire et nerveuse. Le plus souvent, aucune différenciation n'est retrouvée. La dénomination de tumeur stromale tend actuellement à être réservée à ce groupe des tumeurs indifférenciées qui expriment un antigène particulier : le récepteur c-kit. Récemment, ce récepteur, membre de la famille des récepteurs tyrosine kinase qui joue un rôle important dans le développement, la différenciation et la survie de nombreuses cellules, a été mis en évidence dans les cellules des tumeurs stromales. Ceci a permis à quelques auteurs d'émettre l'hypothèse que ces lésions seraient issues d'une cellule primitive indifférenciée. Cette cellule donnerait naissance aux myocytes lisses ainsi qu'à une population cellulaire particulière du tube digestif exprimant le récepteur c-kit : les cellules interstitielles de Cajal (ICC).

Compte tenu des nombreux résultats référencés dans la littérature à propos de l'expression du récepteur c-kit dans des tissus normaux et pathologiques et de sa découverte dans les tumeurs stromales, nous avons décidé d'entreprendre une étude anatomo-clinique rétrospective portant sur 62 tumeurs stromales gastro-intestinales pour préciser l'importance de la découverte de ce récepteur pour le diagnostic de ces lésions.

Dans une première partie, nous rappellerons les principales caractéristiques cliniques, morphologiques et immunohistochimiques des tumeurs stromales en nous fondant sur les nombreuses publications actuelles. Nous insisterons plus particulièrement sur les recherches relatives au récepteur c-kit ainsi que sur les principaux diagnostics différentiels et les facteurs pronostiques. Nous rapporterons ensuite quelques hypothèses histogénétiques, en insistant sur une des plus récentes qui repose sur le rôle de la cellule interstitielle de Cajal.

Dans une seconde partie, nous détaillerons d'abord quelques méthodes immunohistochimiques permettant de mettre en évidence le récepteur c-kit dans des tissus normaux et pathologiques puis nous présenterons notre étude anatomo-clinique de 62 tumeurs stromales.

Dans une troisième partie, nous confronterons nos résultats à ceux rapportés actuellement dans la littérature.

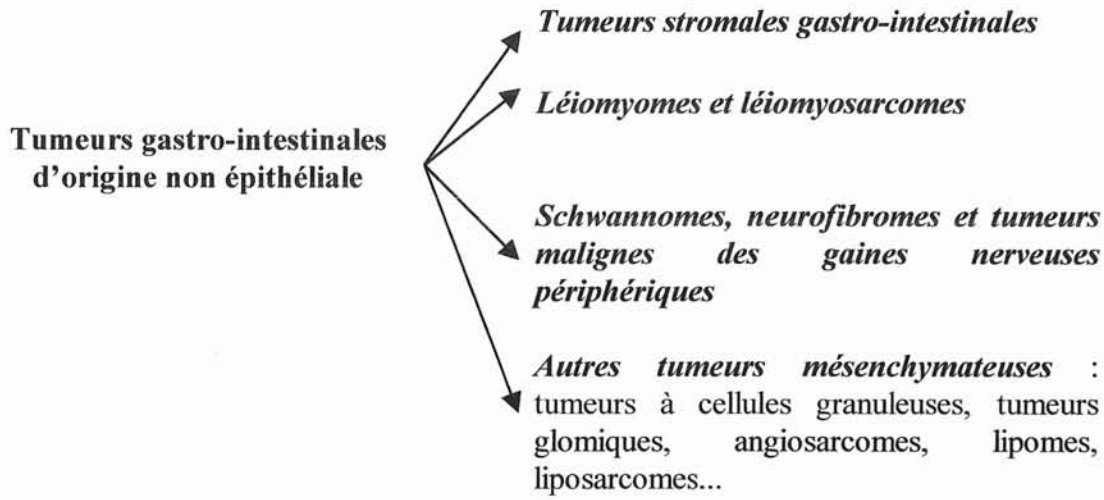
PREMIERE PARTIE

Rappels des connaissances actuelles relatives aux tumeurs stromales gastro-intestinales.

1.1. DEFINITION - HISTORIQUE :

Les tumeurs primitives gastro-intestinales peuvent être classées en trois grandes catégories histogénétiques : les tumeurs épithéliales très majoritairement les plus fréquentes, les tumeurs d'origine neurectodermique et les tumeurs d'origine mésenchymateuse ou de substance conjonctive. Parmi ces dernières, les tumeurs indifférenciées ont été rassemblées dans un groupe particulier : les tumeurs stromales (**figure n°1**).

Figure n°1 : Les principaux types de tumeurs gastro-intestinales d'origine non épithéliale par ordre de fréquence d'après CHAN J. (22).



1.1.1. DEFINITION DES TUMEURS STROMALES :

Le terme de «tumeur stromale» du tube digestif ou GIST (GastroIntestinal Stromal Tumors) a été introduit en 1983 pour désigner un groupe de tumeurs dans lesquelles aucune différenciation musculaire lisse ou nerveuse n'était mise en évidence (73).

Sa signification a longtemps variée selon les auteurs :

- ⇨ pour certains, ce terme englobe toutes les tumeurs gastro-intestinales d'origine non épithéliale quelle que soit leur différenciation (6, 104) ;
- ⇨ pour d'autres, il est réservé aux tumeurs de substance conjonctive, peu différenciées, du tube digestif et du péritoine (11, 77, 118).

Actuellement, la dénomination de GIST tend à être réservée aux tumeurs peu différenciées (22, 54) qui expriment un marqueur particulier : le c-kit. Nous reprendrons cette définition dans ce travail.

1.1.2. HISTORIQUE :

Les tumeurs de substance conjonctive du tube digestif à cellules fusiformes ou à cellules «épithélioïdes», ont depuis toujours posé le problème de leur diagnostic différentiel et de leur origine histogénétique. De multiples dénominations et acronymes ont été proposés, reflétant les difficultés rencontrées par les pathologistes pour classer ces affections.

Autrefois, sur leur seul aspect morphologique, les tumeurs à cellules fusiformes étaient considérées comme étant d'origine musculaire lisse et classées selon leur caractère atypique et leur comportement malin, parmi les *léiomyomes* ou les *léiomyosarcomes* (68). En 1962, les proliférations de cellules rondes («épithélioïdes») qui possédaient en ultrastructure des caractères de la cellule musculaire lisse, ont été dénommées par Stout, *léiomyoblastome* ou *léiomyome épithélioïde* (116), termes repris ensuite dans la classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (29).

De rares auteurs ont proposé, pour les tumeurs d'aspect morphologique suspect mais dépourvu de caractère franc de malignité, l'appellation de «Smooth Muscle Tumors of Uncertain Malignant Potentiel» ou SMT-UMP. Cette dénomination n'a pas été retenue (5, 44).

Grâce au développement des techniques immunohistochimiques, une différenciation musculaire lisse, parfois nerveuse, voire une association des deux a été mis en évidence dans ces tumeurs. Mais parfois, aucune différenciation n'a pu être retrouvée conduisant Mazur et Clark a proposer le terme de "GastroIntestinal Stromal Tumor" ou GIST (73) pour mettre en exergue leur naissance à partir du stroma par opposition aux tumeurs d'origine épithéliale.

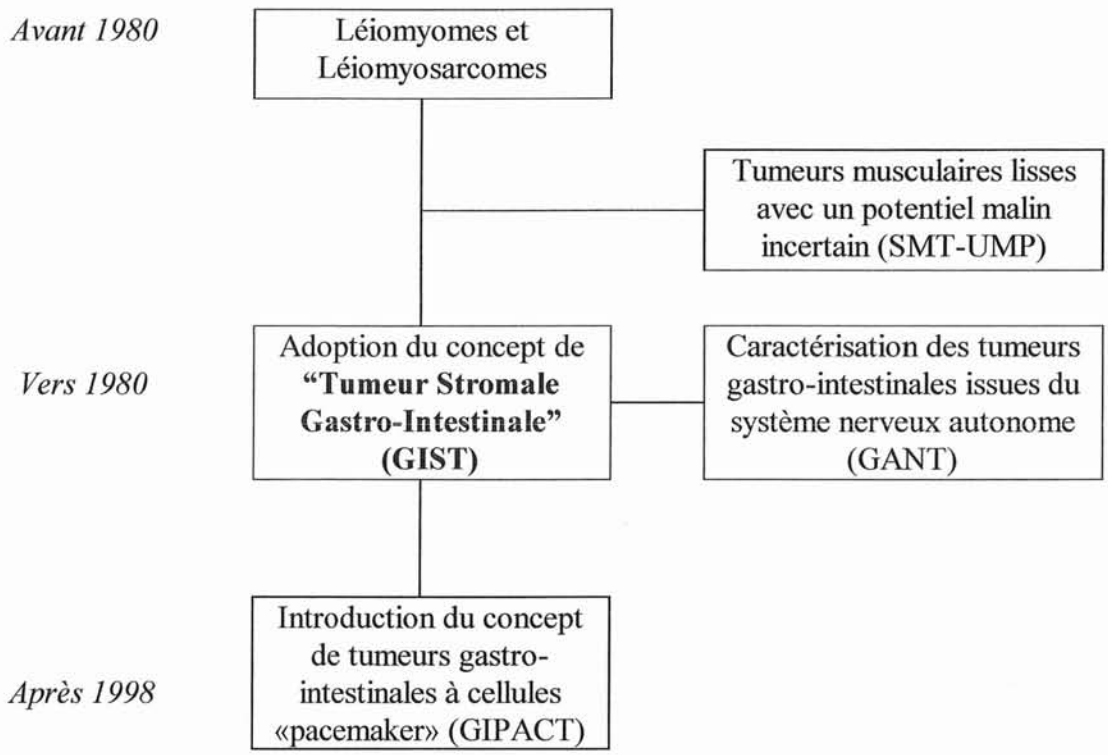
Cette terminologie est difficile à traduire en français. En effet, le terme de "stroma" désigne habituellement un tissu conjonctif de soutien et de nutrition des structures épithéliales tumorales. Ce terme apparaît donc impropre dans sa transposition française pour désigner une prolifération tumorale conjonctive quel que soit son degré de différenciation. Faute de mieux, il a été accepté par le plus grand nombre, mais désigne parfois des entités très différentes, créant ainsi une certaine confusion entre les pathologistes et les cliniciens (11).

Dans de rares tumeurs stromales, une différenciation ultrastructurale correspondant à celle du système nerveux autonome a été mise en évidence. Le terme de "plexosarcome" a été alors suggéré (45) mais rapidement remplacé par celui de "Gastrointestinal Autonomic Nerve Tumor" ou GANT (138).

Depuis peu, une nouvelle dénomination qui reste encore controversée, GIPACT ("GastroIntestinal PAcemaker Cell Tumors"), a été proposée. Pour Kindblom en particulier, (54) ces tumeurs se développeraient à partir des cellules interstitielles de Cajal qui

correspondent aux cellules «pacemaker» du tractus gastro-intestinal. L'argument princeps pour leur reconnaissance repose sur l'existence du récepteur c-kit.

Figure n°2 : Evolution de la dénomination des tumeurs gastro-intestinales de substance conjonctive d'après CHAN J. (22).



1.2. LES CARACTERES GENERAUX DES TUMEURS STROMALES :

1.2.1 LES CARACTERISTIQUES CLINIQUES ET LES TRAITEMENTS DES TUMEURS STROMALES

1.2.1.1. Les caractéristiques épidémiologiques :

- **Age de survenue et sexe :**

L'incidence des tumeurs stromales est difficile à apprécier. Elles peuvent survenir à tout âge avec, toutefois, un pic de fréquence entre 50 et 60 ans (78).

Certains auteurs ne rapportent pas de différence significative entre les deux sexes (76) alors que d'autres, en revanche, signalent une légère prédominance masculine (7, 60).

❖ Facteurs favorisants :

Dans la majorité des cas, aucun facteur favorisant n'est retrouvé. Cependant, on rencontre parfois ces tumeurs dans des contextes particuliers :

⇨ La maladie de Von Recklinghausen ou neurofibromatose de type I :

Les patients porteurs de cette pathologie ont un risque accru de développer des tumeurs stromales le plus souvent à différenciation nerveuse (39), plus rarement à différenciation musculaire lisse (111).

⇨ Le syndrome d'immunodéficience acquise :

Quelques cas de tumeurs stromales multiples à différenciation musculaire lisse ont été constatés chez des patients infectés par le VIH (21), en particulier chez les enfants (102). Mais le caractère fortuit ou non de cette association n'a pas été prouvé.

⇨ La forme familiale des tumeurs stromales :

Récemment, une étude a mis en évidence une forme familiale de tumeur stromale secondaire à une mutation germinale du gène *c-kit* (94).

⇨ Le syndrome de Carney :

La triade de Carney est un syndrome rare qui associe :

① un léiomyosarcome épithélioïde gastrique, de siège antral ou corporéal ;

② un chondrome pulmonaire ;

③ un paragangliome extra-surrénalien, le plus souvent médiastinal, à l'origine d'une hypertension artérielle ou un phéochromocytome (67).

Il survient essentiellement chez les jeunes femmes. L'âge de survenue est de 16 ans environ (19, 20, 67, 62). La tumeur gastrique est, de plus, souvent plurifocale (62). Le risque métastatique est faible et la survie est longue, même au stade des métastases (98).

1.2.1.2. Les caractères topographiques :

❖ Localisations sur le tube digestif

La localisation la plus fréquente des tumeurs stromales est l'estomac (65 %) (7, 60, 76, 114). Elles se répartissent, par ordre de fréquence de la façon suivante :

⇨ 50 % dans le corps gastrique,

⇨ 25 % dans l'antre,

⇨ et 25 % à proximité du pylore (104).

L'intestin grêle est le second site de prédilection (30 à 35%) de ces tumeurs qui, dans ce cas, siègent (76) :

⇨ dans 80% des cas dans le jéjunum,

⇨ et dans 20% dans le duodénum.

Le plus souvent uniques, ces lésions sont parfois multiples (104).

Les tumeurs stromales sont également observées dans le colon (81) et le rectum (43), rarement dans l'œsophage et dans ce cas, principalement au niveau du tiers inférieur (79) où les léiomyomes sont plus fréquents (76, 79). Ces lésions sont parfois retrouvées dans le mésentère et l'épiploon (77).

❖ Mode de développement macroscopique :

Les tumeurs stromales prennent naissance pour la majorité d'entre elles à partir de la paroi musculaire du tube digestif. Leur développement peut être :

⇨ extra-luminal c'est à dire vers la cavité péritonéale et aboutit alors à la formation d'une volumineuse tumeur sous séreuse (118) ;

⇨ intra-luminal avec apparition d'une lésion sessile ou pédiculée sous la muqueuse qui peut s'ulcérer (7, 114) (**Planche photographique n°1, photo A**) ;

⇨ intra-mural réalisant un simple épaississement de la paroi digestive (118) ;

⇨ intra et extra-luminal formant une tumeur en haltère ou en sablier (**Planche photographique n°1, photos D - E**) (118).

Lorsque la tumeur est située dans l'épiploon et le mésentère (77), elle est soit séparée de la paroi intestinale soit reliée à elle par un mince pédicule (118) (**Planche photographique n°1, photo C**). Enfin, les lésions peuvent être pluri-focales (**Planche photographique n°1, photo B**) et constituer alors de multiples nodules intra-muraux et/ou intra-péritonéaux (7, 60).

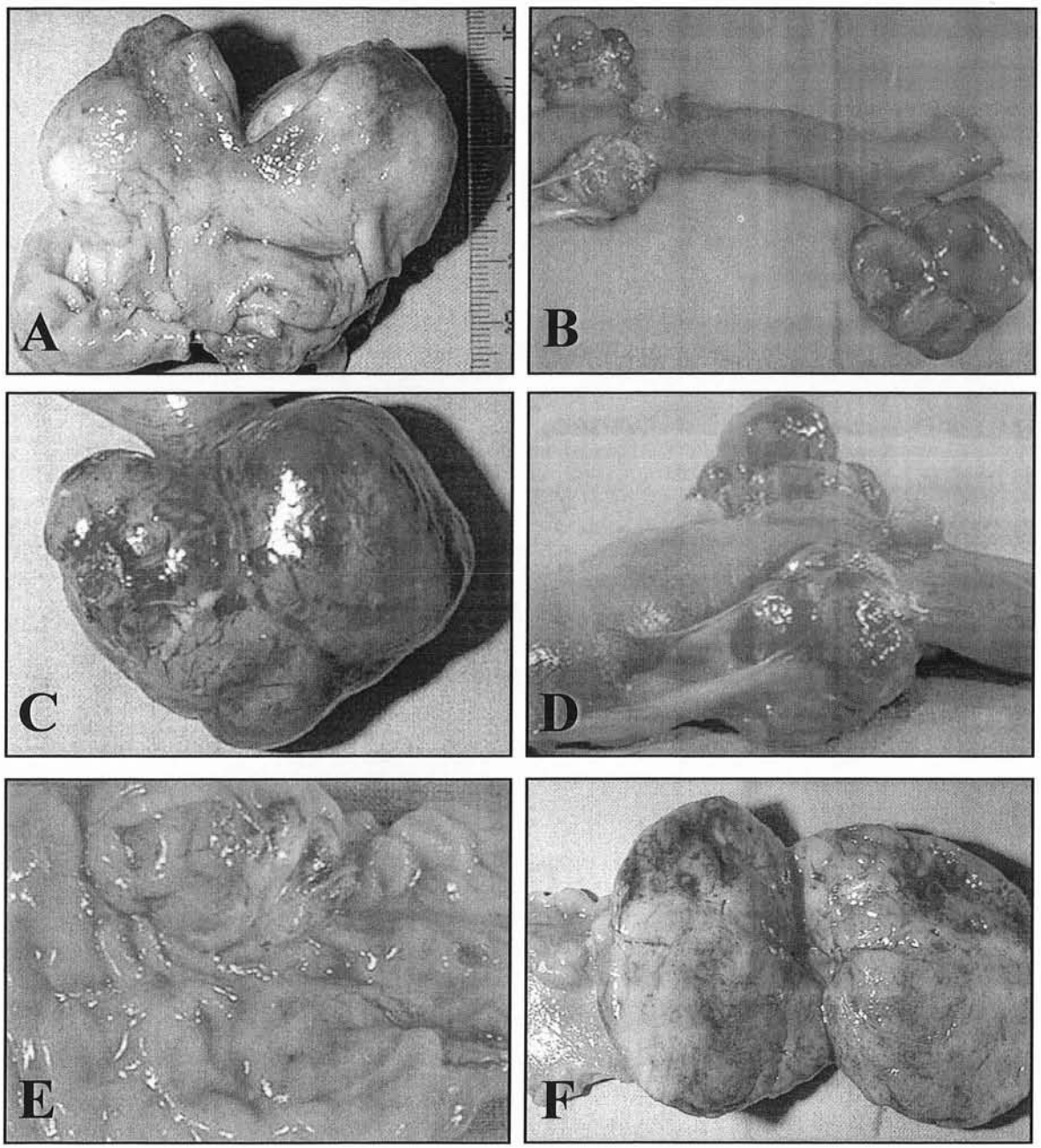


Planche photographique n°1 :
Quelques caractéristiques macroscopiques des tumeurs stromales

A : Tumeur stromale gastrique située sous la muqueuse (observation personnelle n°61)
B : Tumeurs stromales multiples au niveau de l'intestin grêle (observation personnelle n°62)
C : Tumeur stromale pédiculée de l'intestin grêle (observation personnelle n°62)
D : Tumeur stromale en sablier sous séreuse de l'intestin grêle (observation personnelle n°62)
E : Tumeur stromale en sablier sous séreuse bombant sous la muqueuse (observation personnelle n°62)
F : Remaniements hémorragiques et kystiques d'une tumeur stromale (observation personnelle n°62)

1.2.1.3. Les signes cliniques :

Les tumeurs stromales se manifestent par des signes généraux ou digestifs :

- ⇨ Une hémorragie digestive, aiguë (hématémèse et/ou méléna) ou occulte, se traduisant par une anémie microcytaire, hyposidérémique. Les saignements sont, le plus souvent, secondaires à une ulcération muqueuse en regard de la lésion.
- ⇨ Des douleurs abdominales de siège varié (61, 76, 118), des nausées, une dyspepsie une dysphagie, une perte de poids (76, 80) ;
- ⇨ Un syndrome occlusif d'apparition progressive (61) ;
- ⇨ Une perforation ou une invagination (61)

La symptomatologie est souvent en rapport avec la taille de la tumeur et sa localisation (78). Plus la tumeur est proximale, plus ses manifestations seront importantes (76).

Cependant, un tiers des tumeurs stromales sont de découverte fortuite ou au cours d'une intervention chirurgicale (61, 76, 118).

1.2.1.4. Les méthodes diagnostiques :

Le but des examens complémentaires est de localiser la lésion tumorale, d'évaluer sa croissance par rapport aux organes de voisinage (évaluation de l'invasion locale) et de détecter d'éventuelles métastases à distance (121). L'utilisation de plusieurs méthodes diagnostiques est souvent nécessaire pour préciser tous ces éléments, surtout lorsque la tumeur est de grande taille (83).

Cependant les aspects radiologiques des tumeurs stromales ne sont pas caractéristiques et sont communs avec d'autres tumeurs d'origine mésenchymateuse (léiomyomes et schwannomes) (83).

- ❖ **Les examens endoscopiques :**
  - ♦ ***Les endoscopies œso-gastro-duodénale ou colique :***

Pratiquée en urgence au cours de tout saignement aigu digestif, l'endoscopie fait partie du bilan systématique recherchant l'origine d'un saignement occulte. Dans ce cas, une ulcération de la muqueuse est alors souvent retrouvée, mais elle ne permet pas toujours de déterminer l'origine de la tumeur surtout si son développement se produit vers l'extérieur de la paroi digestive (83).

♦ ***L'écho-endoscopie :***

Cet examen précise la localisation intra-pariétale de la tumeur et sa taille (83). De plus, elle permet de distinguer une tumeur sous muqueuse d'une compression extrinsèque (9). Enfin, elle peut mettre en évidence l'existence d'une éventuelle infiltration des organes de voisinage. Des métastases ganglionnaires, d'ailleurs rares, peuvent être également observées. Ces signes indirects permettent d'évoquer la malignité de la lésion (83).

❖ **Les examens d'imagerie :**

♦ ***Les examens de radiologie :***

Les tumeurs stromales sont peu accessibles à la radiologie sans préparation du fait du faible contraste entre les différents tissus étudiés (121).

Les examens radiologiques du transit œso-gastro-duodénal, du grêle et le lavement baryté sont intéressants en cas de lésions endoluminales. Cependant, ils ne permettent pas de différencier les tumeurs de la paroi digestive, des compressions extrinsèques (83). Dans les cas caractéristiques, une image lacunaire arrondie et régulière est retrouvée (9). Lorsque les tumeurs ont un développement exoluminal, les opacifications digestives peuvent mettre en évidence une ulcération de la muqueuse qui constitue alors le seul élément pathologique.

♦ ***L'échographie :***

Cette technique est facilement réalisable et peu onéreuse. Mais l'intestin, le mésentère et la région rétro-péritonéale ne sont pas toujours visibles à cause des ombres acoustiques provoquées par les gaz intestinaux. Toutefois, l'échographie est très sensible pour la détection des métastases hépatiques (121).

♦ ***L'exploration tomodensitométrique :***

Elle est systématiquement réalisée avant et après injection intraveineuse d'un produit de contraste triiodé, hydrosoluble, non ionique, de faible osmolalité (Iohexol ou Omnipaque®). Une opacification digestive par du sulfate de baryum (Micropaque®) peut également être réalisé vingt minutes avant le début de l'examen augmentant ainsi la sensibilité de cette exploration (42).

Des calcifications ou des hémorragies intra-tumorales peuvent être recherchées avant toute injection de produit de contraste grâce à leur caractère hyperdense spontané. La prise de

contraste est souvent intense, après injection de produit de contraste, témoignant du caractère hypervascularisé des tumeurs stromales (83).

Lorsqu'elles sont de petite taille, les lésions tumorales se caractérisent habituellement par un rehaussement homogène du signal. A l'inverse, lorsque la tumeur est de plus grande taille, il est fréquent d'observer des plages de nécrose intra-tumorale plus ou moins importantes, qui se traduisent en tomodensitométrie par des zones hypodenses après injection de produit de contraste. Pour des tumeurs très volumineuses, l'organe d'origine (tube digestif, mésentère...) peut être difficile à repérer (83).

La tomodensitométrie est surtout intéressante pour les tumeurs stromale à développement extra-luminal, souvent méconnues ou sous estimées par les explorations endoscopiques digestives. Les lésions de petite taille peuvent, en revanche, passer inaperçues (121).

En définitive, l'exploration tomodensitométrique permet habituellement de préciser la taille de la tumeur, ses contours, son aspect homogène ou non et enfin son extension aux organes de voisinage.

Certains critères orientent vers une tumeur maligne (83) :

- ⇨ une taille supérieure à 5 cm,
- ⇨ une hétérogénéité de la lésion,
- ⇨ une extension aux organes de voisinage,
- ⇨ la présence de métastases.

Cet examen ne se limite pas au diagnostic positif mais il permet également de réaliser un bilan d'extension. Après une intervention chirurgicale, la tomodensitométrie est la meilleure exploration pour le suivi à court et à moyen terme mais aussi pour diagnostiquer les récidives éventuelles des tumeurs dont la malignité a été confirmée par l'examen anatomo-pathologique.

- ♦ ***L'imagerie par résonance magnétique :***

Actuellement, l'imagerie par résonance magnétique n'est pas une exploration utilisée systématiquement. Les différentes fréquences disponibles (en pondération T1 avec ou sans saturation des graisses, en pondération T2 et après injection de gadolinium) permettent toutefois une bonne caractérisation des lésions (121).

Son principal intérêt réside dans l'exploration dans les trois plans de l'espace ce qui permet de découvrir à partir de quel organe la tumeur s'est développée. Cependant, l'imagerie par résonance magnétique a toutefois perdu de son intérêt essentiel, le suivi de l'image en 3D, depuis l'apparition de la tomodensitométrie multibarettes.

❖ **L'apport de l'examen histologique extemporané :**

Malgré les explorations endoscopiques et radiologiques, le diagnostic différentiel avec un carcinome ou un lymphome, est souvent difficile à établir voire impossible même à l'examen macroscopique per-opératoire.

Le recours à l'examen extemporané est alors très utile pour guider le geste opératoire. Il permet de différencier une tumeur mésenchymateuse, d'un lymphome ou d'un carcinome sans toutefois pouvoir affirmer, avec certitude, le caractère malin et l'origine cellulaire de la lésion (61).

1.2.1.5. Les traitements des tumeurs stromales :

❖ **Le traitement chirurgical :**

Le curage ganglionnaire n'étant pas systématique compte tenu de la faible incidence des métastases ganglionnaires des tumeurs stromales malignes (26), le traitement curatif des tumeurs stromales consiste en une exérèse complète de la lésion avec une marge de sécurité suffisante soit par laparotomie, soit par voie cœlioscopique (9, 26, 61). La chirurgie ne peut être que palliative pour des lésions malignes étendues aux organes de voisinage et difficilement extirpables (26).

❖ **Les autres traitements :**

Des traitements adjuvants sont parfois entrepris pour les tumeurs stromales malignes. Ils ont comme objectif de limiter la survenue des récidives locales et des métastases à distance (26) :

⇨ L'utilisation de la radiothérapie est limitée, par ses effets secondaires «toxiques» vis-à-vis des structures digestives adjacentes. Selon certains auteurs (26), elle semble toutefois bénéfique, pour réduire les récidives locales des tumeurs stromales rectales.

⇨ Quant à la chimiothérapie, elle ne semble pas efficace. En effet, dans la plupart des essais réalisés, 75% des patients traités n'ont pas tiré d'avantages notables du traitement (26).

1.2.2. LES ASPECTS MACROSCOPIQUES, MICROSCOPIQUES ET ULTRASTRUCTURAUX DES TUMEURS STROMALES:

1.2.2.1. L'étude macroscopique :

La taille des tumeurs stromales varie de 0,3 cm à plus de 30 cm de diamètre (118). Leur surface est lisse ou bosselée, leur coloration, le plus souvent, blanc grisâtre (62). Ces tumeurs sont, en général, bien circonscrites mais non encapsulées. La tranche de section est ferme, d'aspect fasciculé parfois ponctuée de plages de nécrose, d'hémorragies ou de remaniements kystiques (62, 118).

1.2.2.2. Les caractéristiques microscopiques :

❖ **Les divers aspects cellulaires et architecturaux :**

Trois types de cellules sont classiquement décrits dans les tumeurs stromales :

⇨ les cellules fusiformes,

⇨ les cellules «épithélioïdes»,

⇨ l'association de cellules fusiformes et «épithélioïdes».

D'autres types cellulaires sont plus rarement observées : cellules «plasmocytoïdes», cellules en «bague à chaton», cellules granuleuses, cellules multinucléées (118)

La disposition des cellules des tumeurs stromales est également très variable : fasciculaire, storiforme, palissadique, diffuse ou en petits amas (118). Des remaniements à type de nécrose, d'hémorragies, de dégénérescence myxoïde ou de calcifications peuvent être observés dans ces lésions.

♦ ***Les cellules fusiformes :***

Ce type cellulaire est découvert dans environ 75 % des tumeurs stromales (76). Les cellules sont allongées, fusiformes parfois «dodues», pourvues d'un noyau central, arrondi ou allongé, à bouts émoussés. La chromatine est fine, dispersée et le nucléole peu visible. Le cytoplasme est éosinophile, peu abondant. Les cellules s'agencent en faisceaux entrecroisés, adoptant parfois une disposition storiforme ou palissadique (118).

♦ ***Les cellules «épithélioïdes» :***

Environ 20 % des tumeurs stromales sont constituées de cellules «épithélioïdes» (76). Les cellules sont rondes ou polygonales avec un cytoplasme abondant, éosinophile ou clair, à limites nettes. Le noyau peut parfois être déplacé vers la périphérie par une vacuole claire dépourvue d'affinité tinctoriale pour les graisses, le mucus et le glycogène. Cette vacuole correspond à un artéfact due à la fixation formolée (118). Les cellules s'agencent en lobules ou en amas séparés par un fin stroma fibrovasculaire.

♦ ***L'association de cellules fusiformes et «épithélioïdes» :***

Cette association est découverte dans environ 4 à 6 % des tumeurs stromales : les cellules fusiformes et «épithélioïdes» se disposent de façon variable. Le plus souvent, les faisceaux de cellules fusiformes sont enchevêtrés avec des amas de cellules «épithélioïdes».

❖ **Les caractères cytologiques de malignité :**

Lorsqu'il s'agit d'une forme maligne, il existe en règle générale une nette augmentation de la cellularité, des atypies cytonucléaires d'intensité variable et des mitoses. Parfois, seule une augmentation de l'activité mitotique est observée. La malignité de la tumeur ne peut être alors que fortement suspectée et seule l'évolution clinique permet, par la suite, de la confirmer.

1.2.2.3. Les aspects ultrastructuraux :

Dans une majorité de cas (environ 40 %) (76), on observe des aspects de différenciation musculaire lisse : des amas de microfilaments très fins, intracytoplasmiques, parfois réunis par des plaques denses de type actine, des vésicules de pinocytose, un appareil de Golgi proéminent, un réticulum endoplasmique granuleux dilaté et une membrane basale discontinue ou continue (62, 118).

Dans quelques tumeurs à cellules fusiformes, les cellules peuvent avoir de longs prolongements cytoplasmiques plus ou moins entremêlés évoquant des cellules de Schwann et des granules intracytoplasmiques denses aux électrons (62, 76).

Dans un certain nombre de cas, les cellules sont indifférenciés rappelant les cellules mésenchymateuses primitives (76).

Les aspects ultrastructuraux des tumeurs stromales, malignes ou bénignes, suggèrent donc que ces cellules tumorales possèdent une différenciation musculaire ou schwannienne incomplète ou sont totalement indifférenciées (62).

1.2.3.LES CARACTERISTIQUES IMMUNOHISTOCHIMIQUES :

1.2.3.1. Rappel des caractéristiques des principaux anticorps utilisés pour le diagnostic des tumeurs stromales :

❖ **Généralités :**

Le profil immunohistochimique des tumeurs stromales a fait l'objet de nombreuses études. Différents anticorps ont été utilisés pour tenter de déterminer les modalités de différenciation de ces tumeurs (**Tableau n°1**).

Des études les plus récentes, il ressort que les tumeurs stromales peuvent avoir une positivité souvent partielle pour les marqueurs musculaires, les marqueurs nerveux mais qu'à l'inverse ces deux types de marqueurs peuvent être parfois complètement négatifs.

La découverte de cellules marquées avec l'anticorps anti CD34 constitue un argument important en faveur du diagnostic de tumeur stromale. Cependant, le marqueur le plus spécifique et le plus sensible serait, selon la grande majorité des auteurs, le c-kit.

Tableau n° 1: Résumé de quelques études immunohistochimiques de tumeurs stromales

Etude – année (nombre de cas)	*Vim.*	*HHF35*	*AML*	*Des.*	*PS100*	*CD34*	*c-kit*
Mazur et Clark – 1983 (28) (73)	NE	NE	NE	NE	4 %*	NE	NE
Saul et al – 1987 (46) (108)	100 %	NE	NE	50 %	0 %	NE	NE
Miettinen – 1988 (29) (75)	NE	67 %	NE	48 %	41 %	NE	NE
Pike et al – 1988 (20)(100)	95 %	80 %	NE	0 %	5 %	NE	NE
Ueyama et al – 1992 (57) (128)	91 %	88 %	NE	32%	4 %	NE	NE
Franquemont et al – 1992 (46) (36)	98 %	78 %	74 %	20 %	13 %	NE	NE
Ma et al – 1993 (82) (65)	96 %	63 %	39 %	5 %	2 %	NE	NE
Mikhael et al – 1994 (84)	NE	72 %	NE	NE	NE	81 %	NE
Monihan et al – 1994 (87) (89)	NE	92 %	85 %	NE	18 %	46 %	NE
Lee et al – 1995 (55) (60)	89 %	25 %	NE	11 %	4 %	NE	NE
Sarlomo-Rikala et al – 1998 (85) (110)	NE	NE	25 %	NE	0%	57 %	81 %
Kindblom et al 1998 - (78) (54)	100 %	0 %	15 %	0 %	0 %	72 %	100 %
Tazawa – 1999 (58) (120)	NE	NE	41 %	9 %	26 %	78 %	72 %

Abréviations :

Vim. : vimentine
HHF35 : actine musculaire spécifique
AML : actine musculaire lisse
Des. : desmine
NSE : neurone énolase spécifique
PS100 : protéine S100
CD 34 : antigène de la cellule progénitrice hématopoïétique
*1/28 : positive intense et diffuse ; 7/28 : positivité focale
NE : non étudié

❖ L'anticorps anti-vimentine :

La vimentine est une protéine de 52 Kd ressemblant à la desmine (10). Cette protéine est considérée comme un marqueur non spécifique, habituellement découverte dans les cellules dérivées du mésenchyme. Elle peut être exprimée par les cellules tumorales des carcinomes peu différenciés (116), des mélanomes, des méningiomes, des schwannomes et des sarcomes, et même de certains adénocarcinomes (rein, thyroïde, glandes salivaires, poumon, endomètre, ovaire, estomac) (10).

Les tumeurs stromales expriment dans 95 % des cas (de 89 à 100% selon les études) la vimentine et dans 15 à 40 %, elle est le seul marqueur retrouvé (118).

❖ L'anticorps anti CD 34 :

Le CD34 est un antigène de surface exprimé de façon sélective par les cellules souches du système hématopoïétique humain, y compris les précurseurs des lignées myéloïde et lymphoïde. Il est également exprimé par les cellules endothéliales (10).

L'expression du CD34 par les cellules des tumeurs stromales est constatée dans 46 à 81 % des cas selon les séries. Cette expression est souvent associée à celle de la vimentine (118).

❖ Les marqueurs musculaires :

♦ *L'anticorps anti actine musculaire lisse :*

L'anticorps monoclonal anti actine musculaire lisse reconnaît uniquement l'actine du muscle lisse. Il ne marque ni les cellules du myocarde, ni celles du muscle strié. En revanche, il est exprimé par les myofibroblastes, les cellules myo-épithéliales, les péricytes ainsi que par les léiomyocytes bénins et malins (10).

Son expression par les cellules des tumeurs stromales est très variable dans son intensité et dans sa fréquence. Elle est parfois focale et constatée dans 15 % (54) à 85% des cas. (36, 76, 80, 89).

♦ *L'anticorps HHF35 :*

L'anticorps HHF35 permet de mettre en évidence une protéine contractile retrouvée dans les cellules des muscles lisse, strié et myocardique, ainsi que dans les cellules myo-épithéliales. Certaines cellules endothéliales et la plupart des myofibroblastes peuvent être marqués faiblement par cet anticorps (10).

L'expression de l'HHF35 dans les cellules des tumeurs stromales semble très variable avec des écarts énormes selon les études : 0% (54) à presque 100 % (89).

♦ *L'anticorps anti desmine :*

La desmine est le filament intermédiaire des cellules des muscles lisse, myocardique et strié. Dans ces cellules, il est présent sous forme de filaments homopolymériques composés d'unités de 55Kd. Dans les cellules du muscle lisse, elle relie les corps denses cytoplasmiques aux plaques denses des membranes cellulaires. Dans les cellules du muscle strié, les filaments de desmine unissent les bandes Z et les plaques denses du sarcolemme du myocyte. La desmine apparaît très tôt dans la différenciation du myoblaste. Elle n'est exprimée que par les cellules

musculaires normales et par les cellules tumorales ayant une différenciation musculaire lisse ou striée (10).

Comme les autres marqueurs musculaires précédemment cités, l'expression de la desmine par les cellules des tumeurs stromales, est très variable : 0 % (54, 100) à 50 % des cas (108).

❖ L'anticorps anti protéine S100 :

La protéine S100 est une protéine soluble de faible poids moléculaire. Elle appartient à la famille des protéines de transport comme la calmoduline et la troponine C. Initialement considérée comme marqueur exclusif de la glie, il a été démontré, par la suite, que cette protéine était présente dans de nombreuses catégories de cellules : les mélanocytes, les cellules de Langerhans, les histiocytes, les chondrocytes, les lipocytes, les cellules musculaires striées et cardiaques, les cellules de Schwann, les cellules épithéliales et myo-épithéliales du sein, les cellules épithéliales des glandes salivaires et sudoripares (10).

Le marquage par l'anticorps anti protéine S100 est cytoplasmique, parfois nucléaire. Dans les cellules des tumeurs stromales, cette protéine est exprimée de façon focale, parfois associée à l'expression de marqueurs musculaires (60, 65, 73, 100, 108, 110, 118, 128).

❖ Les marqueurs neuro-endocrines :

♦ *L'anticorps anti neurone énolase spécifique :*

La neurone énolase spécifique est un isomère d'une enzyme protéolytique, la 2 phospho-D glycérate hydrolase. Elle est constituée de 2 sous-unités $\gamma\gamma$ présente à de fortes concentrations au niveau des neurones et des cellules neuro-endocrines centrales et périphériques. Il existe trois isoenzymes α, β, γ de l'énolase regroupées sous la forme de quatre isomères : $\alpha\alpha$, $\beta\beta$, $\gamma\gamma$ et $\alpha\gamma$. Les cellules du foie et celles du muscle strié expriment respectivement les isoenzymes $\alpha\alpha$ et $\beta\beta$ tandis que les isoenzymes $\alpha\alpha$, $\alpha\gamma$ et $\gamma\gamma$ sont présentes dans les cellules du cerveau. L'inconvénient majeur de cet anticorps est son manque de spécificité puisque de nombreuses cellules non neurales et non neuro-endocrines peuvent être marquées en raison de la présence de l'isomère $\alpha\gamma$ de l'énolase (10, 106).

♦ *L'anticorps anti synaptophysine :*

La synaptophysine est une glycoprotéine membranaire de 38 Kd qui est présente dans les vésicules présynaptiques des neurones et dans les petites vésicules claires des cellules neuro-

endocrines normales et tumorales. Son expression est indépendante de celles des autres marqueurs neuro-endocrines. Elle ne dépend pas non plus du contenu des cellules en grains de sécrétion (10, 106).

- ***Les anticorps anti chromogranines :***

Les chromogranines constituent une famille de six protéines acides solubles qui font partie des constituants de la matrice des grains de sécrétion de la plupart des cellules neuro-endocrines. Les anticorps dirigés contre ces protéines sont des marqueurs très spécifiques des cellules neuro-endocrines normales et tumorales. Cependant, le marquage dépend du contenu en granules des cellules d'où un certain manque de sensibilité pour des tumeurs neuro-endocrines très peu différenciées. De plus, la chromogranine A, bien que largement répandue, n'est pas ubiquitaire et certaines cellules neuro-endocrines normales et tumorales en sont dépourvues (106).

Le marquage avec les chromogranines est superposable à celui de la synaptophysine.

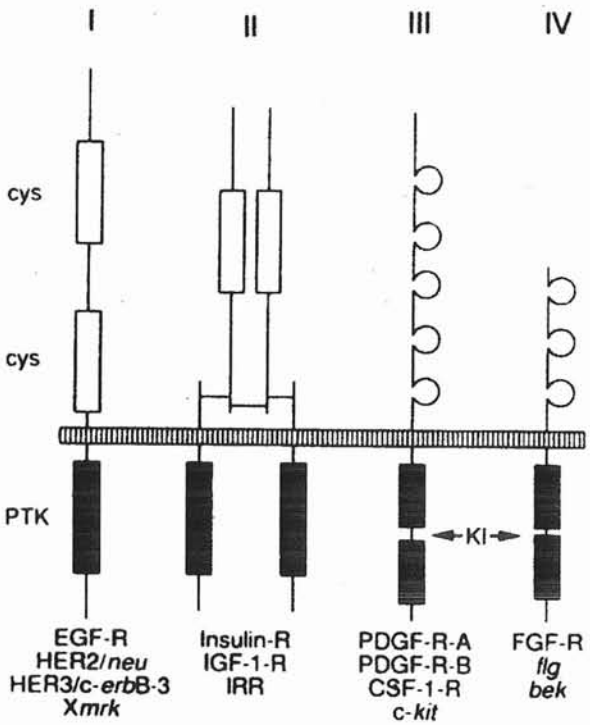
Ces trois marqueurs neuro-endocrines peuvent être exprimés isolément ou de façon concomitante par les cellules des tumeurs stromales de type GANT.

1.2.3.2. Le récepteur c-kit :

Le récepteur c-kit est un récepteur de facteur de croissance appartenant à la classe III des récepteurs tyrosine kinase (**figure n°3**). D'autres récepteurs appartenant à ce groupe ont des homologies structurales avec le c-kit : CSF-1-R (Colony Stimulating Factor 1 Receptor) et PDGF-R A et B (Platelet Derived Growth Factor Receptor A et B).

Figure n°3 : Représentation schématique des quatre classes de récepteurs tyrosine kinase

(15)



Légendes : PTK : domaine tyrosine kinase KI : insert de la région kinase

Le récepteur c-kit a été cloné (129) et séquencé chez l'homme (3). Le gène codant pour ce récepteur est situé sur le chromosome 4 (136), en 4q11-q12 (25, 70). Il est connu sous une autre dénomination (1, 15) : CD117

Les mutations de son gène sont à l'origine de nombreuses pathologies. Dans notre travail, nous rechercherons l'expression par immunohistochimie du récepteur c-kit dans les cellules des tumeurs stromales gastro-intestinales.

❖ **Sa structure :**

Le récepteur c-kit est constitué d'une seule chaîne polypeptidique transmembranaire de 145 Kd comportant 976 acides aminés. La portion extra-cellulaire de 497 acides aminés possède cinq domaines ayant une structure proche des immunoglobulines et comporte neuf sites potentiels de N-glycosylations. Les deuxième et troisième boucles de ce domaine sont nécessaires à la fixation du ligand, (kit ligand). Le domaine transmembranaire de 23 acides aminés est hydrophobe. Le domaine intracytoplasmique tyrosine kinase est séparé en deux par un long insert hydrophile de 77 acides aminés, hautement conservé dans de nombreuses espèces (**Figure n°3**) (15, 139).

❖ **Sa fonction et sa distribution :**

♦ ***dans les tissus normaux :***

Le récepteur c-kit est normalement exprimé dans de nombreuses cellules.

Chez la souris, son expression est observée dans les mélanoblastes dès leur début de migration à partir de la crête neurale. Elle persiste durant la vie embryonnaire et fœtale puis dans les mélanocytes en période postnatale mais également chez l'adulte (14). Il en est de même dans l'espèce humaine (49).

L'expression du récepteur c-kit a été mise évidence, chez la souris, au niveau des spermatogonies et des ovogonies (14) ainsi qu'au niveau des ovocytes et de l'acrosome des spermatocytes (107). Ce récepteur semble impliqué dans la différenciation et la maturation des spermatogonies et des ovogonies ainsi que dans la constitution de l'acrosome (107). Chez l'homme, la présence de c-kit est observée également dans les cellules de Leydig. Les cellules de Sertoli et les cellules de la granulosa expriment le ligand du c-kit ce qui suggère un système de régulation local entre les cellules interstitielles et les cellules sexuelles (117).

Teyssier-Le Discorde et collaborateurs ont décrit, par RT-PCR, des niveaux d'expression variables du transcrit *c-kit* dans les cellules du sac vitellin humain et du tissu hépatique à différents stades du développement embryonnaire, démontrant ainsi le rôle important du récepteur c-kit dans les stades précoces de l'hématopoïèse humaine (122).

Le récepteur c-kit est exprimé par les mastocytes (8, 71), les cellules épithéliales mammaires (23, 92) et les cellules interstitielles de Cajal du tube digestif (51, 66). En effet, les souris chez lesquelles ce récepteur est défectueux ne développent pas l'organisation en réseau des cellules interstitielles de Cajal, ce qui a pour conséquence une absence de motilité gastro-intestinale (51).

Quelques résultats retrouvés dans la littérature concernant l'expression du récepteur c-kit, mise en évidence par des études immunohistochimiques sur des tissus normaux, sont rapportées ci-dessous. Ces résultats sont très variables selon les épitopes étudiés et les techniques utilisées (**Tableau n°2**).

Tableau n°2 : Expression du récepteur c-kit par immunohistochimie sur des tissus normaux

	MATSUDA 1993 (71)	LAMMIE 1993 (56)	TSUURA 1994 (127)	ARBER 1998 (8)
Œsophage	-	+/- épithélium glandulaire	-	Non étudié
Estomac	-	-	-	+ cellules pariétales
Intestin grêle	-	-	Non étudié	-
Colon	-	-	-	-
Poumons	-	-	-	-
Cœur	-	-	-	Non étudié
Sein	++ épithélium canalaire	+/++ cellules épithéliales	+/++ cellules épithéliales	+ épithélium canalaire
Foie	Non étudié	-	-	-
Pancréas	-	-	-	-
Vésicule biliaire	Non étudié	-	-	+/- épithélium
Rein	-	-	-	+ tubules
Vessie	Non étudié	+/- urothélium	-	+/- urothélium
Prostate	Non étudié	-	-	-
Testicule	Non étudié	+ cellules de Leydig	+/++ spermatocytes	+/++ spermatocytes
Ovaires	Non étudié	+ stroma cortical	+/++ ovocytes	+/++ ovocytes
Col utérin	Non étudié	-	-	Non étudié
Utérus	Non étudié	-	-	-
Thyroïde	Non étudié	+/- follicules	-	+/- épithélium vésiculaire
Peau	+/++ mélanocytes , mastocytes	++ mélanocytes, glandes sébacées	+/++ mélanocytes	+ mélanocytes, mastocytes
Surrénales	++ cellules de la médullaire	-	-	Non étudié
Thymus	-	-	-	Non étudié
Ganglion lymphatique	Non étudié	-	-	-
Cerveau	+ cellules gliales	+/- cortex frontal, hippocampe, cervelet	Non étudié	Non étudié

Légendes :

- : absence d'expression +/- : expression faible et inconstante + : expression modérée

++ : expression forte +/++ : expression modérée à forte

♦ ***Dans les tissus pathologiques :***

Le récepteur c-kit est exprimé par :

⇨ les cellules naeviques intraépidermiques alors qu'une diminution de son expression est observée dans les cellules des mélanomes malins invasifs ; seulement 30 % des lésions métastatiques expriment des taux détectables de ce récepteur (93, 119) ; ceci démontre que l'expression du récepteur c-kit est diminuée dans les mélanocytes en voie de transformation maligne (90, 93) ;

⇨ les cellules de séminomes testiculaires (8, 71, 127). En revanche, les cellules des tumeurs non séminomateuses et en particulier les cellules des tumeurs germinales ne l'expriment pas ;

⇨ les cellules des mastocytoses ;

⇨ les cellules épithéliales des tumeurs bénignes du sein alors qu'il est absent dans les cellules des tumeurs malignes. Cette perte d'expression indiquerait un changement du signal de transduction, en relation avec une transformation maligne de l'épithélium mammaire (23) ;

⇨ certaines cellules des cancers pulmonaires : en particulier celles des carcinomes à petites cellules (8, 71, 127). En revanche, il est absent dans les cellules du parenchyme pulmonaire normal ;

⇨ les cellules des tumeurs stromales gastro-intestinales. Pour certains auteurs (54, 78, 80), ce récepteur serait un marqueur spécifique de cette variété de tumeur.

❖ **Les mutations du gène *c-kit* et les pathologies associées (figure n°5):**

Le gène *c-kit* est un proto-oncogène (139), homologue cellulaire d'une partie du gène viral *v-kit* responsable du sarcome félin de Hardy-Zuckerman 4 (13).

♦ ***Perte de fonction de la protéine C-kit :***

Chez la souris, le locus W («white spotting») est le site du gène *c-kit*. L'allèle mutant W code pour une protéine tronquée auquel manque le domaine transmembranaire, alors que l'allèle mutant W^v a un point de mutation dans le domaine tyrosine kinase. Ces deux mutations sont responsables d'une forte diminution de l'activité tyrosine kinase. Le phénotype de ces souris se caractérise par cinq anomalies liées à la perte de fonction de la protéine C-kit :

⇨ une anémie consécutive à une hypoproduction d'érythrocytes,

⇨ un pelage de couleur blanche dû à une déplétion en mélanocytes,

⇨ une stérilité résultant d'un manque d'ovocytes et de spermatocytes,

⇨ une diminution du nombre des mastocytes,

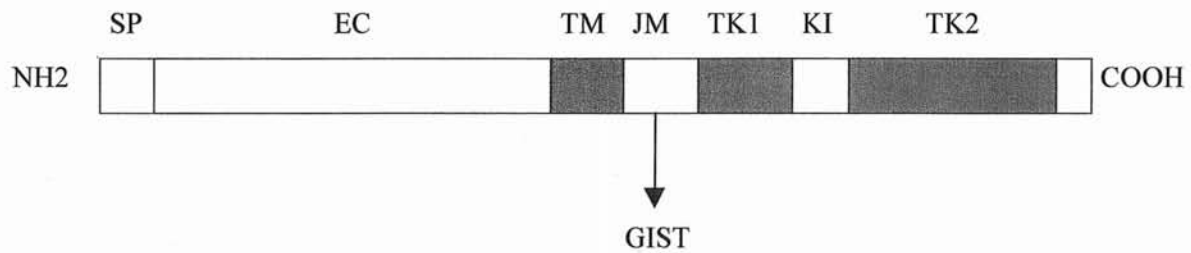
⇨ une diminution du nombre de cellules interstitielles de Cajal (55).

Les mutations germinales correspondantes chez l'homme sont responsable du piébaldisme (40), pathologie autosomique dominante de pénétrance variable. Elle se caractérise par une mèche de cheveux blancs, une absence de pigmentation de la partie médiane du front, des sourcils et du menton, du thorax, de l'abdomen et des extrémités. Le liseré bordant les zones dépigmentées est hyperperpigmenté. Une hétérochromie des iris est parfois retrouvée.

- ***Activation constitutionnelle de la protéine C-kit :***
  - *La forme sporadique des tumeurs stromales gastro-intestinales :*

Les mutations avec activation constitutionnelle de la protéine C-kit, retrouvées par Hirota (48) dans les cellules de tumeurs stromales isolées, sont des mutations somatiques. Elles surviennent le plus souvent entre le domaine transmembranaire et le domaine tyrosine kinase induisant des protéines actives sans accrochage préalable du ligand (48) (**figure n°4**).

Figure n°4 : Mutations du récepteur C-kit dans les cellules des tumeurs stromales (48)



Légendes :

SP : Signal peptidique ; EC : domaine extra-cellulaire ; TM : domaine transmembranaire ; JM : domaine juxtamembranaire ; TK1 et TK2 : domaines tyrosine kinase ; KI : insert entre les domaines kinase.

  - *La forme familiale des tumeurs stromales gastro-intestinales :*

Nishida a décrit en 1998 (94) une famille dont certains membres avaient de multiples tumeurs stromales gastro-intestinales et, de façon exceptionnelle, une hyperpigmentation du périné. La mutation de la protéine C-kit dans les cellules des tumeurs digestives se situait au niveau du domaine juxtamembranaire. Elle était également retrouvée dans les leucocytes circulants de certains patients. Cette mutation a été confirmée en transfectant chez la souris un c-DNA démontrant ainsi que le récepteur c-kit était constitutionnellement activé.

Deux autres études sans analyse moléculaire ont rapporté :

⇨ le cas d'une patiente porteuse de multiples tumeurs stromales associées à une hyperpigmentation de la peau du périné (28) ;

⇨ une famille avec de multiples tumeurs stromales accompagnées d'une urticaire pigmentosum ou d'une mastocytose systémique (69).

Le fait que le gène *c-kit* joue un rôle dans le développement des mastocytes et des mélanocytes laisse penser que l'hyperpigmentation, l'urticaire pigmentosum et/ou la mastocytose systémique entrent dans le cadre du syndrome familial des tumeurs stromales gastro-intestinales (22).

- *Les pathologies hématologiques :*

Différentes mutations du gène *c-kit* ont été rapportées dans certaines pathologies hématologiques :

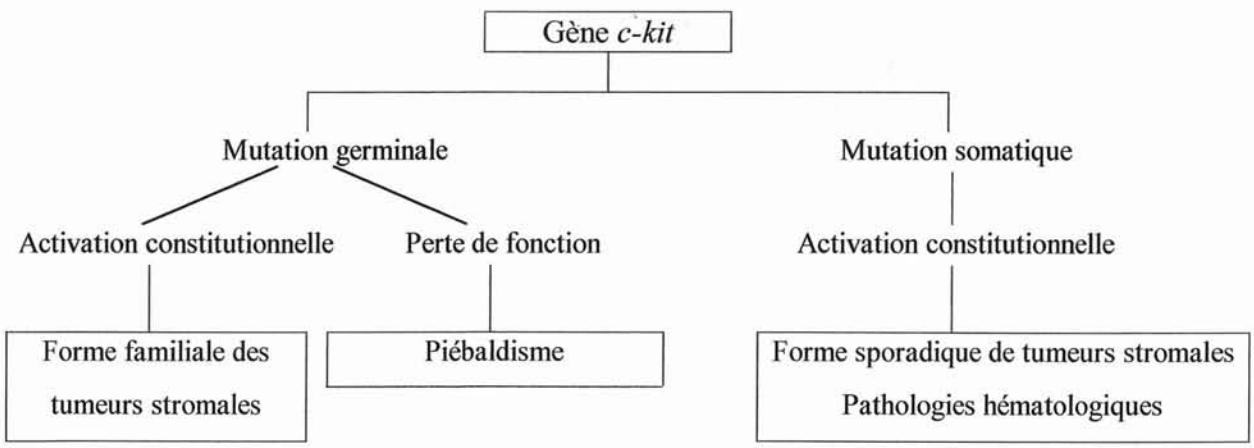
⇨ dans une lignée cellulaire humaine de leucémie à mastocytes (37),

⇨ dans des mastocytoses systémiques (99),

⇨ dans des mastocytoses sporadiques de l'enfant (64),

⇨ dans une leucémie myéloïde aiguë de type M2 (12).

Figure n°5 : Mutations du gène *c-kit* d'après CHAN J. (22)



1.2.4. LES FORMES PARTICULIERES DE TUMEURS STROMALES :

1.2.4.1. Les tumeurs stromales avec des fibres sténoïdes ou tumeurs conjonctives avec fibres en écheveau :

Cette entité fut décrite pour la première fois en 1992 par Min et collaborateurs (87). Ces tumeurs stromales ont un certain nombre de caractéristiques permettant de les isoler.

❖ **Les caractéristiques macroscopiques :**

Habituellement, ces tumeurs, le plus souvent multiples, siègent au niveau du duodénum et du jéjunum (47), plus rarement dans l'estomac et le colon.
De petite taille (0,5 à 6 cm), elles ont un développement souvent intra-pariétal ou sous séreux.
A la coupe, elles sont fermes, d'aspect blanchâtre, homogène et fasciculé (11).

❖ **Les caractéristiques microscopiques :**

♦ ***L'histologie et l'immunohistochimie :***

Histologiquement, ces lésions sont constituées par une prolifération de cellules fusiformes, monomorphes, agencées en faisceaux, sans mitoses, avec, dans certains cas, des atypies (87). Parfois, les cellules sont d'aspect globuleux, «épithélioïde».
Le fait caractéristique est la présence d'amas de substance amorphe, essentiellement extracellulaire, de taille variable, éosinophiles, appelés «fibres sténoïdes». Ces fibres sont fortement colorées par le PAS, teintées en bleu par le trichome de Masson (47, 87).
Elles ne sont pas marquées par les anticorps dirigés contre le collagène de type IV ou VI ni par l'anticorps anti laminine (87).

♦ ***L'ultrastructure :***

En microscopie électronique, ces fibres sténoïdes correspondent à des amas intercellulaires de filaments ayant une périodicité de 45 nm et dont l'agencement curviligne rappelle l'aspect des écheveaux de fils de laine. Leurs limites sont floues, leur diamètre variable. Quelques cellules comportent des prolongements contenant des granules optiquement denses, de type neurosécrétoire. Il n'y a pas de vésicule de pinocytose, de filament d'actine ou de plaques denses que l'on rencontre dans les fibres musculaires lisses (86).

❖ **L'origines des fibres sknoïdes :**

L'histogenèse de ces fibres est incertaine. Leur production par des cellules d'origine nerveuse est suggérée par leur existence dans des tumeurs survenant au cours de la maladie de Von Recklinghausen (88, 111) ou de tumeurs nerveuses extra-intestinales : schwannome acoustique, neurofibrome pharyngé.

La distinction entre les tumeurs du système nerveux autonome gastro-intestinal (GANT) et les tumeurs stromales à fibres sknoïdes n'est pas aussi aisée que certains auteurs l'imaginent. En effet, ces fibres sont observées dans d'authentiques GANT d'évolution agressive (96, 112). Pour d'autres, la présence de fibres sknoïdes serait caractéristique des tumeurs stromales de l'intestin grêle de meilleur pronostic (47).

1.2.4.2. Les tumeurs stromales issues du système nerveux autonome gastro-intestinal :

Les tumeurs stromales issues du système nerveux autonome gastro-intestinal ou GANT représentent une variété de tumeurs stromales. Le premier cas fut rapporté en 1984, par Herrera et collaborateurs (45) qu'ils dénommèrent «plexosarcoma» au vu de caractéristiques ultrastructurales similaires à celles du système nerveux autonome gastro-intestinal normal : prolongements cytoplasmiques complexes des cellules tumorales et granules denses aux électrons (78).

En 1986, le terme de «Gastrointestinal Autonomic Nerve Tumor» ou GANT est utilisé par Walker et collaborateurs (138) à la suite de l'observation, en microscopie électronique, dans les cellules de ces tumeurs, d'une différenciation axonale avec des prolongements cytoplasmiques et de petites vésicules granuleuses (78).

Ce type de tumeur peut survenir à tout âge avec un âge moyen d'environ 60 ans. Quelques séries rapportent une prédominance masculine (35).

❖ **Les caractéristiques macroscopiques :**

Ces tumeurs peuvent naître sur toute la longueur du tube digestif avec toutefois une localisation gastrique et jéjuno-iléale prédominante. Elles s'observent également dans le mésentère et dans le tissu rétro-péritonéal (35, 78).

La plupart des GANT sont de grande taille ; la moitié mesure plus de 5 cm (11, 35). Ces tumeurs sont bien limitées, entourées par une pseudo-capsule fibreuse. La tranche de section est rose pâle avec des zones de nécrose hémorragique et de dégénérescence kystique (35).

❖ Les caractéristiques microscopiques :

♦ *L'histologie :*

Les GANT ne possèdent pas de caractères histologiques particuliers permettant de les différencier des autres tumeurs stromales (118).

Elles sont constituées de cellules de taille moyenne, fusiformes ou «épithélioïdes», de disposition fasciculée ou storiforme. Les noyaux sont ronds ou ovalaires avec des contours discrètement irréguliers et de petits nucléoles. Les cytoplasmes éosinophiles apparaissent parfois vacuolisés ou finement fibrillaires. L'activité mitotique est très variable, nulle ou importante. Des aires de nécrose, d'hémorragies sont parfois observées ainsi que quelques cellules géantes multinucléées. Un stroma grêle et richement vascularisé a été décrit dans certaines tumeurs (35).

Deux aspects peuvent être observés après coloration de la réticuline :

- ⇨ un encorbellement de petits groupes de cellules tumorales,
- ⇨ un encorbellement de chaque cellule (35).

♦ *L'immunohistochimie*

Le phénotype immunohistochimique est variable. Les cellules tumorales sont constamment marquées par les anticorps anti vimentine (35), anti c-kit (111). L'expression de la neurone énolase spécifique est assez fréquemment retrouvée (112). Une positivité de la protéine S100, de la synaptophysine, de la chromogranine, des neurofilaments, du Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) et du CD34 est découverte dans les cellules de quelques GANT. Dans ce cas, le marquage est le plus souvent focal (35).

Les marqueurs musculaires (actine musculaire lisse, desmine, HHF35) peuvent être positifs (35).

♦ *L'ultrastructure :*

Les GANT ne naissent pas d'un seul des constituants du système nerveux autonome mais d'une combinaison de cellules de Schwann et de cellules ganglionnaires (35).

C'est l'examen en microscopie électronique qui met en évidence un certain nombre de caractéristiques permettant de rattacher ces tumeurs à une origine nerveuse myentérique (11,118) :

- ⇨ un enchevêtrement complexe de cellules fusiformes d'aspect neuronal avec de longs prolongements cytoplasmiques évoquant des dendrites et des axones,
- ⇨ une richesse en organites intracytoplasmiques avec un réticulum endoplasmique granuleux bien développé et un appareil de Golgi proéminent,
- ⇨ des structures évoquant des boutons synaptiques comportant de nombreuses vésicules claires de 60 à 80 nm (46, 72),
- ⇨ une accumulation de grains denses de neurosécrétion de 100 à 300 nm de diamètre contre la membrane cytoplasmique (46, 72),
- ⇨ des fibres skénoïdes fréquemment présentes (96, 112).

L'absence de critères ultrastructuraux en faveur d'une autre histogenèse, en particulier musculaire, conforte le diagnostic.

Cependant, une étude récente (32) rapporte qu'il existe dans près de 30 % des tumeurs stromales des aspects issus du système nerveux autonome et parfois une coexistence avec une différenciation ultrastructurale musculaire.

❖ L'évolution clinique :

Les GANT ont une évolution plus péjorative que les autres tumeurs stromales (35). Elles ont tendance à récidiver et à métastaser durant la première année suivant le diagnostic (35). Les métastases restent toutefois localisées à l'étage abdominal : elles sont de siège hépatique, épiploïque ou péritonéal.

1.2.5. LES PRINCIPAUX DIAGNOSTICS DIFFERENTIELS :

1.2.5.1. Le léiomyome digestif :

❖ Les caractéristiques générales :

Dans le tube digestif, les léiomyomes sont le plus fréquemment observés au niveau de l'œsophage, principalement à la jonction œso-gastrique où ils représentent le groupe prédominant de tumeurs bénignes de substance conjonctive (62, 74, 76). Dans l'estomac, ils siègent en majorité dans le cardia (62, 78). Le colon et le rectum sont rarement atteints (78).

Ces lésions sont le plus souvent asymptomatiques, de découverte fortuite au cours d'une endoscopie ou d'un examen radiologique pour une autre pathologie (62) et d'évolution bénigne.

❖ **Les caractéristiques macroscopiques :**

La plupart des léiomyomes sont de petite taille. Cependant, ils peuvent atteindre, dans certains cas, plusieurs dizaine centimètres de diamètre. Leur développement est intra-mural ou endo-luminal réalisant un aspect polypoïde (62, 78).

Le plus fréquemment uniques, ces lésions peuvent être multiples. La tumeur est bien circonscrite, fasciculée, de coloration rose ou blanche et de consistance ferme à la coupe (11, 62).

❖ **Les caractéristiques microscopiques :**

♦ ***L'histologie :***

La structure histologique est tout à fait similaire à celle du léiomyome utérin (11). La lésion est constituée de cellules musculaires lisses matures disposées en faisceaux. Ces cellules ont des noyaux allongés, un cytoplasme éosinophile abondant mais sont de plus petite taille et de disposition plus serrée que dans les léiomyomes utérins. Les figures de mitoses sont rares. Des remaniements fibro-hyalins et des calcifications sont souvent observés (62).

♦ ***L'immunohistochimie :***

Les cellules des léiomyomes expriment très fréquemment la desmine et l'actine (62, 78). En revanche, elles ne sont pas marquées par les anticorps anti CD34 et anti c-kit (78).

1.2.5.2. Le léiomyosarcome digestif :

❖ **Les caractéristiques générales :**

Cette catégorie de sarcome touche des personnes jeunes à l'inverse des autres sarcomes abdominaux et rétro-péritonéaux. La symptomatologie clinique n'est pas spécifique (masse abdominale, douleurs, perte de poids, nausées , vomissements…) (30).

Ces tumeurs sont en général de mauvais pronostic (30% de survie à 5 ans) d'autant plus qu'une chirurgie curatrice est souvent difficilement réalisable. Les récidives locales ainsi que les métastases sont fréquentes (97).

❖ **Les caractéristiques macroscopiques :**

Ce sont, en général, des tumeurs de grande taille, souvent mal limitées, plurilobulées n'ayant pas d'aspect macroscopique particulier si ce n'est qu'elles infiltrent souvent les organes de voisinage (30, 97). A la coupe, elles sont fermes, d'aspect fasciculé, de couleur blanchâtre et sont très fréquemment le siège de remaniements hémorragiques.

❖ **Les caractéristiques microscopiques :**

♦ ***L'histologie :***

La tumeur, très dense, est constituée de cellules se disposant en longs faisceaux qui s'entrecroisent et se coupent à angle droit. Elles ont un cytoplasme éosinophile abondant, souvent fibrillaire, contenant parfois une vacuole encochant le noyau. Ce dernier en position centrale a des extrémités arrondies «en bouts de cigare». Les noyaux peuvent être irréguliers, pléomorphes, plurilobés, monstrueux et adopter une disposition palissadique pouvant poser un problème de diagnostic différentiel avec un schwannome malin.

L'indice mitotique constitue le meilleur critère de malignité de ces tumeurs : 1 à 4 mitoses pour 10 champs à fort grossissement indiquent un potentiel malin ; plus de 4 mitoses pour le même nombre de champ signerait la malignité.

Quelques zones de hyalinisation focale, des plages myxoïdes, hémorragiques et des foyers de nécrose sont fréquemment retrouvés (30, 97).

♦ ***Les colorations spéciales :***

Le trichrome de Masson et l'hématoxyline acide phospho-tungstique mettent en évidence les myofibrilles intracytoplasmiques. La coloration par le PAS révèle le glycogène du cytoplasme (97).

♦ ***L'immunohistochimie :***

La majorité des cellules de ces tumeurs expriment l'actine musculaire lisse et l'HHF35, plus rarement la desmine (environ 50 % des cas des léiomyosarcomes des tissus mous). Quelques

rares cas sont marqués par les anticorps anti cytokératine, anti EMA et anti protéine S100 (97).

- ***L'ultrastructure :***

Des noyaux indentés, des filaments fins d'actine avec ou sans plaque dense et une néolame basale continue ou fragmentée autour des cellules tumorales sont retrouvés (97).

1.2.5.3. Le schwannome digestif :

- **Les caractéristiques générales :**

Le schwannome du tube digestif est une lésion rare (24, 109), se développant préférentiellement dans l'estomac et l'intestin grêle (27). Il représente de 2 à 6 % des tumeurs non épithéliales du tube digestif (35, 78) et touche plutôt les femmes d'âge moyen (35).
Ces tumeurs peuvent survenir chez des patients porteurs d'une maladie de Von Recklinghausen (Neurofibromatose de type I) (111), d'un syndrome de Gorlin (dysmorphie marfanoïde, ganglioneuromatose, carcinome médullaire de la thyroïde et phéochromocytome) (91) ou être associées à d'autres lésions telles que des adénomes multiples (27).

- **Les caractères macroscopiques :**

Macroscopiquement, les schwannomes ressemblent aux autres tumeurs non épithéliales du tube digestif. Situées dans la musculeuse, ces tumeurs mesurant de 0,5 à 9 cm de diamètre apparaissent bien limitées, vaguement lobulées, de consistance ferme avec parfois des remaniements kystiques (24).

- **Les caractères microscopiques :**

- ***L'histologie :***

Ces tumeurs bien limitées, sont entourées en périphérie par des amas de lymphocytes ou des follicules lymphoïdes (78). Le schwannome est constitué de cellules fusiformes s'arrangeant en faisceaux courts avec des aspects de palissades et focalement des enroulements concentriques. Elles ont un cytoplasme peu abondant, des limites floues et des noyaux en forme de bâtonnet. Le pléomorphisme nucléaire est en général modéré et les figures de mitoses sont rares voire absentes (78).

L'aspect caractéristique du schwannome est parfois retrouvé avec des zones cellulaires (Antoni A) et des aires myxoïdes (Antoni B). Les vaisseaux proéminents ont parfois des parois épaisses et hyalinisées (78).

- ***L'immunohistochimie :***

Les cellules tumorales expriment les marqueurs des cellules neuro-gliales : PS 100, leu 7, protéine fibrillaire glial acide ou GFAP et le PGP9.5 (35, 78). Elles sont également marquées par l'anticorps anti laminine, une glycoprotéine de la lame basale (62). L'immunoréactivité est négative pour la desmine, l'actine, le CD34 ainsi que pour le c-kit (78, 110). Les marqueurs des cellules musculaires lisses (desmine, actine musculaire lisse et HHF35) sont constamment absents.

- ***L'ultrastructure :***

En microscopie électronique, les cellules tumorales ont les caractéristiques de la cellule de Schwann normale (109) : prolongements cytoplasmiques intriqués, cellules bordées par une néolame basale sans myofilaments, ni grains denses aux électrons de type neurosécrétoire.

1.2.6. LES FACTEURS PRONOSTIQUES DES TUMEURS STROMALES :

A travers de nombreuses études morphologiques, un des objectifs des pathologistes est d'évaluer au mieux l'évolutivité d'une tumeur stromale et de tenter d'apprécier son risque métastatique. Il n'est pas rare d'observer des tumeurs stromales, qui ne sont à l'évidence pas histologiquement malignes mais qui s'accompagnent déjà de métastases au moment de leur diagnostic ou au cours de leur évolution. Ultérieurement, pour mieux préciser le pronostic, des signes cliniques et histologiques (l'âge du patient, la localisation tumorale, le stade clinique, la taille tumorale, le pléomorphisme cellulaire, la nécrose tumorale, l'activité mitotique, l'infiltration de la muqueuse…) ont donc été corrélés à l'évolution des malades.

1.2.6.1. Les facteurs cliniques :

❖ **L'âge du patient :**

Quelques cas de tumeurs stromales avec métastases ont été rapportés chez des enfants et des adultes jeunes. Ces tumeurs avaient des signes d'agressivité peu évidents et ces patients ont eu une survie plus longue que des patients plus âgés (98, 124). A l'inverse, des tumeurs avec métastases survenant chez des patients âgés ont rapidement eu une évolution clinique péjorative (60). Les tumeurs stromales avec métastases semblent donc avoir une évolution péjorative plus rapide chez des patients âgés.

❖ **La localisation tumorale :**

Pour certains auteurs, les tumeurs stromales de localisation gastrique auraient un meilleur pronostic que celles de l'intestin grêle le plus souvent malignes et à risque métastatique élevé (58, 128). Pour d'autres, la localisation sur le tractus digestif n'influerait pas le pronostic (33).

❖ **Le stade clinique :**

Actuellement, aucun système reproductible n'existe permettant de déterminer le stade clinique d'une tumeur stromale. Cependant, Shiu et collaborateurs (114) ont mis en évidence qu'une infiltration des organes de voisinage au moment de l'exérèse chirurgicale était associée à un comportement très agressif de la lésion avec la mort assez rapide du patient dans tous les cas. D'autres études ont montré que des patients porteurs de tumeurs sans extension locale avaient une survie plus longue que ceux dont les lésions étaient infiltrantes ou avaient déjà données des métastases au moment du diagnostic initial (2, 74).

❖ **La taille tumorale :**

De nombreuses études ont démontré que la taille tumorale était un facteur pronostique pour les tumeurs stromales. La valeur critique au delà de laquelle les tumeurs sont potentiellement malignes varie entre 4 et 6 cm (4, 7, 33, 36, 60, 65, 114, 118).

1.2.6.2. Les signes histologiques :

❖ **Les atypies cellulaires :**

Le pléomorphisme nucléaire est fréquemment observé dans les tumeurs stromales malignes. Il correspond à une taille hétérogène et une forme irrégulière des noyaux. Il s'y associe une augmentation du rapport nucléo-cytoplasmique et une cellularité élevée (7, 118). L'appréciation de ces critères reste cependant très subjective et variable selon les observateurs.

❖ **L'activité mitotique :**

Le compte des mitoses bien qu'imparfait, est souvent utilisé en anatomie pathologique pour le «grading» des tumeurs. Pour les tumeurs stromales, il constitue un des critères prédictifs le plus souvent rapporté dans la littérature. Le nombre de mitoses et le nombre de champs à examiner est cependant variable selon les auteurs : pour certains il suffit de 10 champs au grossissement 400 (76, 118), pour d'autres 50 champs au même grossissement sont nécessaires (4, 54, 65, 80, 120, 128). Le seuil critique au delà duquel ces tumeurs sont considérées comme malignes est, pour certains, de 2 mitoses pour 10 champs au grossissement 400 (76, 118), de 5 mitoses au même grossissement, pour d'autres (4, 54, 65, 80, 120, 128).

Le compte des mitoses semble être un des moins mauvais indicateurs pronostiques, il reste néanmoins un critère imparfait et doit être corrélé à d'autres critères tels que la taille tumorale.

❖ **La nécrose tumorale :**

Les zones de nécrose tumorale sont considérées par certains auteurs (118) comme un paramètres histologique de malignité des tumeurs stromales. Cependant, les remaniements dégénératifs du collagène ne doivent pas être confondus avec de la nécrose, et seule la nécrose tumorale doit être prise en considération (118). Toutefois, de volumineuses tumeurs stromales bénignes peuvent être le siège de nécrose.

❖ **L'infiltration de la muqueuse :**

Pour certains auteurs, la présence d'une infiltration de la muqueuse sus-jacente à la tumeur semble démontrer que la lésion est déjà ou sera probablement agressive et métastatique (7,118).

Plusieurs schémas à visée pronostique proposés dans la littérature sont détaillés dans les tableaux suivants.

Tableau n°3 : Facteurs pronostiques des tumeurs stromales selon Lewin et collaborateurs (63)

Facteurs irrévocables de malignité	✹ Invasion des organes de voisinage ✹ Métastases
Facteurs de haut risque de malignité	✹ Taille tumorale > 5,5 cm dans l'estomac ✹ Taille tumorale > 4 cm dans l'intestin et le colon ✹ Mitoses > 5 pour 50 champs au grossissement x 400 ✹ Nécrose tumorale ✹ Pléomorphisme nucléaire ✹ Cellularité importante ✹ Invasion de la muqueuse digestive ou des structures vasculaires ✹ Cellules épithélioïdes ✹ Architecture alvéolaire

Tableau n°4 : Facteurs pronostiques des tumeurs stromales selon Amin et collaborateurs (4)

Bénignité	✹ 0 à 5 mitoses / 50 champs au fort grossissement ✹ Taille ≤ 5 cm
Potentiel malin incertain (Borderline)	✹ 0 à 5 mitoses / 50 champs au fort grossissement ✹ Taille > 5 cm
Malignité	✹ > 5 mitoses / 50 champs au fort grossissement ✹ quelle que soit la taille

Tableau n°5 : Facteurs pronostiques des tumeurs stromales selon Suster * (118)

✹ Taille de la lésion > à 5 cm de diamètre
✹ Infiltration des structures adjacentes
✹ Présence de nécrose tumorale
✹ Augmentation du rapport nucléo-cytoplasmique
✹ Nombre de mitoses > 1-5 pour 10 champs au fort grossissement
✹ Infiltration par la tumeur de la muqueuse

* La présence de deux de ces critères ou plus dans une même lésion indique un potentiel malin de la tumeur

A l'exception des facteurs cliniques irrévocables de malignité tels qu'un envahissement manifeste des organes de voisinage ou la présence de métastases, un seul paramètre histologique ne suffit pas à lui seul à déterminer la malignité d'une tumeur stromale. Les deux critères majeurs à prendre en compte sont la taille tumorale et le nombre de mitoses (4, 63, 118).

Pour la plupart des auteurs, une taille tumorale supérieure à 5 cm est un critère péjoratif. Par contre, le nombre de mitoses et le nombre de champs à considérer varient suivant les auteurs. La schéma pronostique proposé par Amin et collaborateurs est le plus couramment utilisé tant dans les différentes séries de la littérature que dans la pratique diagnostique quotidienne. Nous l'appliquerons par ailleurs dans notre étude personnelle.

La fiabilité de ces critères pour prédire l'agressivité d'une tumeur stromale est loin d'être satisfaisante et ceci quelles que soient les combinaisons utilisées. Il n'est en effet pas rare d'observer des tumeurs stromales gastro-intestinales qui ne sont pas à l'évidence histologiquement malignes et qui s'accompagnent de métastases au moment de leur découverte ou au cours de leur évolution (7, 118).

1.2.7. LES HYPOTHESES HISTOGENETIQUES

1.2.7.1. Rappels :

Dès l'introduction de la dernière classification de l'OMS des tumeurs des tissus mous (137), S. Weiss reconnaissait qu'il est impossible de déterminer l'histogenèse d'une tumeur sur la simple morphologie et propose de classer ces lésions en fonction du type cellulaire normal dont elles

se rapprochent le plus, définissant ainsi un «lignage de différenciation» (11). Cependant, cette classification comparative n'implique pas pour autant une filiation histogénétique (11).

Malgré tout, plusieurs hypothèses ont été avancées en ce qui concerne l'histogenèse des tumeurs stromales gastro-intestinales :

- ⇨ chaque type de tissu de substance conjonctive peut donner naissance à des tumeurs bénignes ou malignes plus ou moins bien différenciées,
- ⇨ une cellule mésenchymateuse indifférenciée voire embryonnaire, capable d'évoluer vers un ou plusieurs types de différenciations phénotypiques homogènes ou hétérogènes pourrait donner naissance à un type particulier de lésion (11).

En 1998, Kindblom et collaborateurs ont démontré que les tumeurs stromales gastro-intestinales avaient de nombreuses similitudes morphologiques et immunohistochimiques avec une population cellulaire particulière du tube digestif : les cellules interstitielles de Cajal. Ils ont donc avancé l'hypothèse que ces tumeurs pourraient être issues d'une cellule souche se différenciant par la suite vers le phénotype des cellules interstitielles de Cajal (54).

1.2.7.2. La cellule interstitielle de Cajal :

❖ Généralités :

L'existence de cellules interstitielles spécifiquement connectées aux nerfs et aux cellules musculaires lisses du tube digestif a été rapportée pour la première fois par **Santiago Ramon y Cajal,** célèbre neuroanatomiste espagnol du XIX^{e} siècle (16, 17). Ces cellules appelées par la suite, Cellules Interstitielles de Cajal ou ICC, forment un type cellulaire particulier, ayant une distribution caractéristique dans la paroi du tube digestif.

Bien que décrite il y a plus de 100 ans, leur mise en évidence reste difficile, leur origine embryologique incertaine, et leurs fonctions partiellement inconnues. La découverte du récepteur c-kit associé à ce type cellulaire a permis de mieux étudier cette cellule, notamment dans les tumeurs stromales.

❖ La mise en évidence de la cellule interstitielle de Cajal :

♦ *En microscopie optique :*

Les principales colorations pour mettre en évidence les cellules interstitielles de Cajal sont d'une part, le bleu de Méthylène, d'autre part, la méthode de Champy-Maillet et enfin, la coloration par la carbocyanine lipophilique ou DiI.

❑ *Le bleu de Méthylène*

Le bleu de Méthylène, colorant vital, a été utilisé pour la première fois par Cajal afin de visualiser le réseau que forme les ICC dans la paroi digestive. *In vitro,* certaines études ont permis de démontrer que le processus de photoactivation de ce colorant altérait les ICC. Cette altération cellulaire était responsable d'une disparition de l'activité ondulatoire lente du tube digestif (123).

❑ *La méthode de Champy-Maillet*

La méthode de Champy-Maillet consiste à plonger un fragment de tissu de petite taille dans un mélange de tétroxyde d'osmium et d'iodure de zinc (38). Ce mélange agit comme un fixateur et un milieu d'inclusion. Sur les coupes, les cellules apparaissent alors en noir sur fond jaune (38).

Très grossière, cette technique corrèle les données de la microscopie optique et celles de la microscopie électronique à transmission (MET) grâce aux dépôts denses aux électrons induits par le mélange. Elle permet de mettre en évidence les ICC et leurs relations avec les terminaisons nerveuses. Les fibroblastes et les autres cellules ne sont pas marqués avec cette méthode. Cependant, il convient de noter qu'une fixation par les aldéhydes des tissus abolit complètement la sélectivité de cette technique (34).

❑ *La carbocyanine lipophilique ou DiI*

La molécule de 1,1'- dioctadecyl-3,3,3',3'-tétraméthylindocarbocyanine perchlorate ou DiI est une substance fluorescente, de faible toxicité, qui diffuse à travers les membranes cellulaires (136). Elle permet de visualiser les ICC *in vivo* et sur des tissus fixés. Moins photosensible que le bleu de Méthylène, elle autorise aussi des études électrophysiologiques de ces cellules (41). La molécule de DiI peut être photo-oxydée et convertie en un produit de réaction, une diaminobenzidine stable, dense aux électrons permettant une analyse ultrastructurale (136).

♦ ***En immunohistochimie :***

Deux anticorps sont essentiellement utilisés pour la mise en évidence de la cellule interstitielle de Cajal : les anticorps anti c-kit et anti CD34.

❑ *L'anticorps anti c-kit :*

L'anticorps anti c-kit est actuellement très utilisé pour identifier les ICC sur des tissus frais (41) ou fixés, chez différentes espèces animales mais également chez l'homme (48, 54, 110, 131). De nombreuse études ultrastructurales ont démontré que les cellules c-kit positives étaient bien des ICC ; les fibroblastes et les cellules musculaires lisses étant c-kit négatives.

❑ *L'anticorps anti CD34 :*

Le CD 34 est un antigène, présent sur les cellules progénitrices hématopoïétiques. Récemment, il a été rapporté comme étant également un marqueur des ICC (48, 54). Cependant, certaines cellules CD34 positives ont été reconnues proches mais bien distinctes des ICC au niveau du tube digestif humain normal (131). En fait, il semble que seule une petite proportion des ICC soient CD34 positives (54).

♦ ***En microscopie électronique :***

La microscopie électronique est encore à l'heure actuelle l'outil indispensable pour l'identification formelle d'une ICC dans la paroi du tube digestif. Un ensemble de caractéristiques ultrastructurales permet de la définir et de la distinguer d'une cellule musculaire lisse ou d'un fibroblaste (34).

L'ICC chez l'homme (34) a un corps cellulaire fusiforme, allongé et un noyau nucléolé, ovoïde avec une chromatine condensée en périphérie. Le cytoplasme, relativement abondant, apparaît comme une bande périnucléaire qui s'épaissit à l'origine des prolongements primaires. Deux à cinq de ces prolongements, mesurant 100 µm ou plus, donnent naissance à de nombreux prolongements secondaires et tertiaires. Une lame basale présente mais souvent incomplète est en contact fréquent avec l'élastine extra-cellulaire.

Les principales caractéristiques cytoplasmiques de cette cellule sont :

⇨ des mitochondries, de forme allongée, nombreuses, dispersées dans tout le cytoplasme mais surtout accumulées à l'origine des prolongements primaires ;

⇨ des paquets de filaments fins localisés en périphérie de la cellule, un réseau intriqué de filaments intermédiaires comblant le corps et les prolongements cellulaires et de nombreux microtubules ;

⇨ de rares ribosomes libres et quelques citernes de réticulum endoplasmique granuleux ;

⇨ un riche système tridimensionnel d'interconnexions des citernes du réticulum endoplasmique lisse ;

⇨ de rares particules glycogéniques et quelques gouttelettes lipidiques et/ou de lipofuschine ;

⇨ un nombre variable de vésicules de pinocytose.

❖ **La distribution et la morphologie de la cellule interstitielle de Cajal au niveau du tube digestif :**

La distribution et la morphologie des ICC au niveau du tube digestif ont été respectivement étudiées en immunohistochimie et en microscopie électronique (131).

♦ ***La distribution de la cellule interstitielle de Cajal :***

Tout au long du tube digestif, les ICC sont localisées dans la région myentérique. Par les nombreuses interconnexions de leurs prolongements cytoplasmiques, elles forment un réseau dense autour des plexus d'Auerbach (131). En dehors de ces plexus, les ICC se répartissent de façon variable en fonction de la région examinée.

Dans l'œsophage et l'estomac, on retrouve ce type de cellules dans les septa interlamellaires des couches musculaires circulaire et longitudinale (131).

Au niveau de l'intestin grêle, les ICC sont observées dans la musculeuse circulaire mais pas dans le muscle longitudinal. Par ailleurs, ces cellules sont essentiellement localisées près des plexus musculaires profonds autour desquels elles s'organisent en un réseau moins dense que le réseau des plexus d'Auerbach (131). Ces plexus sont placés sous une mince bande de 1 à 5 cellules à la partie la plus interne de la couche musculaire circulaire (105).

Au niveau du colon, les ICC se répartissent autour des plexus sous muqueux (Plexus de Meissner). De nombreuses cellules sont également dispersées dans les deux couches musculaires.

♦ ***Les variations ultrastructurales des cellules interstitielles de Cajal selon leur localisation le long du tube digestif :***

Quelques caractéristiques ultrastructurales de l'ICC à différents niveaux du tube digestif sont détaillés dans le tableau suivant (**Tableau n°6**).

Tableau n°6: Les principales variations ultrastructurales des cellules interstitielles de Cajal selon leur localisation le long du tube digestif (34)

	Les ICC intramusculaires				***Les ICC des plexus myentériques***		
	Œsophage *(ICC-CM)*	Estomac *(ICC-CM)*	Intestin grêle *(ICC-DMP)*	Colon *(ICC-SMP)*	Estomac	Intestin grêle	Colon
REL*	+++	+++	++	+++	++	++	+
REG**	-	-	-	+/-	+/-	-	+/-
Mitochondries	++	++	++	++	++	+++	+
Filaments fins	+	+	+	++	+	+	+/-
Filaments intermédiaires	++	+++	+	+/-	+++	+++	+
Vésicules de pinocytose	+	+	+++	++	+	+	+
Lamina basale	Discontinue	Discontinue	Discontinue	Continue	Discontinue	Absente ou discontinue	Absente ou Discontinue

Légendes :

* Réticulum endoplasmique lisse

** Réticulum endoplasmique granuleux

- = absent ;

+/- = présence occasionnelle ;

+ ,++, +++ = présence constante avec une richesse croissante.

ICC-CM : cellules interstitielles de Cajal du muscle circulaire

ICC-DMP : cellules interstitielles de Cajal des plexus musculaires profonds

ICC-SMP : cellules interstitielles de Cajal des plexus sous muqueux

❖ L'origine embryologique de la cellule interstitielle de Cajal :

♦ *L'origine mésenchymateuse :*

Cajal pensait que les ICC étaient de nature neuronale, car comme les neurones, ces cellules pouvaient être colorées par le bleu de Méthylène ou être imprégnées par les colorations argentiques. Mais, bien qu'ayant des caractéristiques communes avec les cellules dérivées de la crête neurale (neurones et cellules ganglionnaires), les ICC sont vite apparues distinctes de cette famille cellulaire par des aspects ultrastructuraux et immunohistochimiques très différents (143).

Les études réalisées sur les chimères caille/poule ont confirmées cette hypothèse : Lecoin et collaborateurs en 1996 (59) ont été les premiers à démontrer, que dans l'intestin de ces oiseaux, les ICC ne provenaient pas de la crête neurale. Par la suite d'autres études, chez la souris, sont parvenues à la même conclusion (125).

Par ailleurs, quelques études (59, 143) ont montré que les ICC pouvaient se développer, soit sur des implants situés en dehors du tube digestif, soit dans un tube digestif dépourvu de cellules dérivées de la crête neurale, parvenant ainsi à démontrer que les ICC provenaient des cellules mésenchymateuses.

♦ ***La cellule interstitielle de Cajal et la cellule musculaire lisse :***

Dans le tube digestif de l'embryon et du nouveau né de la souris, l'étude des ARN messagers du récepteur c-kit et de la chaîne lourde de la myosine du muscle lisse a permis de mettre en évidence (125) :

⇨ une co-expression des deux ARNm dans des cellules situées dans la couche musculaire circulaire et dans la future couche musculaire longitudinale ;

⇨ puis, une diminution de l'expression de l'ARNm du récepteur c-kit dans les cellules musculaires de la couche circulaire et ensuite dans les cellules de la couche longitudinale alors que les ARNm de la chaîne lourde de la myosine du muscle demeuraient aux mêmes taux de détection ;

⇨ tandis que les cellules destinées à devenir des ICC diminuaient l'expression de l'ARNm de la chaîne lourde de la myosine du muscle lisse et continuaient leur expression de l'ARNm du récepteur c-kit.

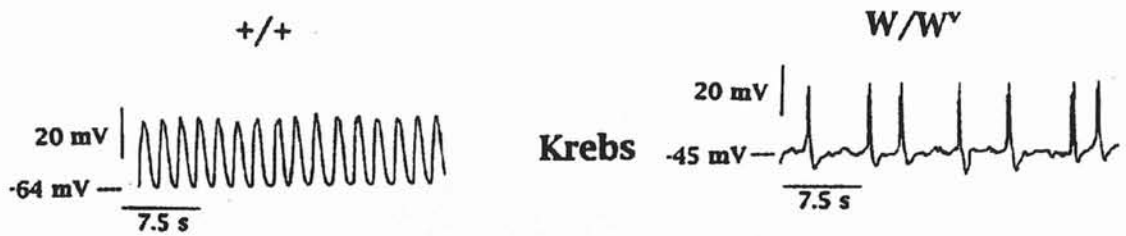
Par ailleurs, le blocage du récepteur c-kit par des anticorps spécifiques chez la souris fait disparaître presque toutes les ICC. Cependant, aucun signe d'apoptose n'est mise en évidence. Certaines cellules c-kit positives bloquées développent des aspects ultrastructuraux similaires aux cellules musculaires lisses alors que d'autres restent à des stades indifférenciés (126).

Ces études permettent donc de suggérer que les ICC et les cellules musculaires lisses ont un précurseur commun et qu'il existe une certaine «plasticité» entre ces deux types cellulaires.

❖ **Les fonctions de la cellule interstitielle de Cajal :**

Chez les souris mutantes W/W^v, le nombre des ICC est très diminué et leur organisation en réseau est absent. En utilisant des microélectrodes, une différence de potentiel d'action a été mis en évidence chez ces souris et chez des souris normales (**figure n°6**) (51).

Figure n°6 : Différence des potentiels d'action chez une souris normal et chez une souris mutante W (51)



Ces études électrophysiologiques ont permis de démontrer que l'absence d'ICC consécutive à un défaut d'expression du gène *c-kit*, était associée à une disparition de l'activité ondulatoire lente du tube digestif confirmant ainsi le rôle essentiel des ICC dans l'activité «pacemaker» digestive.

Leur possible fonction de neurotransmission au niveau du tube digestif a également été rapportée à leurs nombreuses connexions avec les terminaisons nerveuses et les cellules musculaires lisses mais également à la présence de nombreux récepteurs sur les ICC : récepteur c-kit, récepteur de la tachykinine1r, récepteur à la somatostatine... (34, 132).

❖ La cellule interstitielle de Cajal lors de maladies gastro-intestinales :

Les ICC sont impliquées dans de nombreuses pathologies et en particulier dans les désordres de la motilité gastro-intestinale (34). Nous rappellerons ici les connaissances actuelles de quelques-unes d'entre elles.

♦ *L'achalasie :*

L'achalasie est caractérisée par une hypertonie du sphincter œsophagien inférieur et une relaxation inadaptée de ce dernier après l'ingestion alimentaire. Elle peut être idiopathique ou secondaire à un une maladie auto-immune systémique, à des manifestations paranéoplasiques. Dans cette pathologie, on observe fréquemment, en microscopie optique et en électronique, une absence ou une réduction importante des plexus nerveux ainsi qu'une altération des ICC au niveau du sphincter œsophagien inférieur (131).

♦ *La sténose hypertrophique du pylore de l'enfant :*

Cette pathologie se caractérise par un allongement de la vidange gastrique consécutive à une hypertrophie de la couche musculaire interne du pylore. Dans cette couche musculaire hypertrophique, les ICC sont absentes. Ceci provoquerait des interférences avec la propagation des ondes lentes ce qui entraînerait une incoordination antro-pylorique. Le lien entre l'absence des ICC et l'hypertrophie musculaire lisse dans cette pathologie reste à élucider. (131).

♦ *La pseudo-obstruction chronique intestinale :*

La pseudo-obstruction chronique intestinale se caractérise par une constipation chronique sévère et une dilatation intestinale segmentaire nécessitant parfois une nutrition parentérale pendant des périodes plus ou moins longues (131).

Dans cette pathologie grave, certaines auteurs rapportent une diminution des ICC (18, 52) voire leur absence autour des plexus myentériques (18, 141). Cependant, le lien entre des ICC défectueuses et cette pathologie est encore inconnu (131).

- ***La maladie de Hirschsprung :***

La maladie de Hirschsprung se caractérise par une absence, dans la partie distale du tube digestif, du système nerveux entérique intrinsèque. Ceci entraîne un syndrome d'obstruction ou une constipation sévère avec une absence d'activité ondulatoire lente dans les segments aganglionnaires (131).

Certains auteurs rapportent que la densité des ICC est considérablement réduite sur les segments aganglionnaires (140) et que leur organisation en réseau est interrompue (130) alors que d'autres ne mettent pas en évidence de différence entre les sujets normaux et ceux atteints de la maladie de Hirschsprung (50).

- ***Les malformations ano-rectales :***

La constipation est fréquemment rencontré après une chirurgie réparatrice d'une malformation ano-rectale (22, 131). Une étude a rapporté des anomalies de densité et de distribution des ICC au niveau du colon chez des patients porteurs de malformations ano-rectales hautes, contribuant à l'installation d'une constipation réfractaire (53).

1.2.8. SYNTHESE DES INFORMATIONS COLLIGEES :

En définitive, les tumeurs stromales constituent le groupe le plus important des tumeurs gastro-intestinales non épithéliales. Pouvant se développer sur toute la longueur du tube digestif, elles se localisent préférentiellement dans la paroi gastrique. Leurs signes cliniques, peu spécifiques, sont le plus souvent des manifestations hémorragiques. Fréquemment unique, de taille variable, elles sont principalement constituées, histologiquement, soit de cellules fusiformes se disposant en faisceaux, soit de cellules «épithélioïdes» agencées en amas. Leurs profils immunohistochimiques sont variables. Les facteurs histopronostiques qui semblent actuellement les plus fiables sont la taille de la tumeur et l'indice mitotique ; seuls quelques signes cliniques tels que l'envahissement des organes de voisinage et/ou la présence de métastases signent, avec certitude, la malignité de ces tumeurs dont l'évolution est parfois surprenante. Leur traitement chirurgical consiste en une exérèse large. L'efficacité de la

radiothérapie et de la chimiothérapie n'est pas encore démontrée pour les tumeurs stromales malignes.

Récemment, des caractéristiques immunohistochimiques, en particulier avec l'anticorps anti c-kit, et ultrastructurales communes aux cellules des tumeurs stromales et aux cellules interstitielles de Cajal (ICC) ont été mis en évidence. L'origine mésenchymateuse de l'ICC a été confirmée ; une cellule mésenchymateuse primitive, indifférenciée donnerait naissance à l'ICC et à la cellule musculaire lisse. Il existerait, par ailleurs, une certaine «plasticité» entre ces deux types cellulaires. Sur ces différentes constations, l'hypothèse que les tumeurs stromales dériveraient de la cellule mésenchymateuse indifférenciée donnant naissance en fonction de signaux moléculaires variés à l'ICC ou à la cellule musculaire lisse, a été émise.

Le récepteur c-kit a été mis en évidence dans de nombreuses cellules normales ou pathologiques mais les cellules des tumeurs stromales semblent l'exprimer de façon préférentielle et des mutations du gène *c-kit* ont même été retrouvées dans ces tumeurs. Nous avons donc juger intéressant d'entreprendre une étude anatomo-clinique et immunohistochimique à partir d'une série de 62 tumeurs stromales afin de savoir si le c-kit peut être considéré comme un marqueur spécifique de ces tumeurs.

DEUXIEME PARTIE :

Mise en évidence du récepteur c-kit

et

Etude anatomo-clinique de notre série

2.1. MATERIEL ET METHODES :

2.1.1. MISE EN EVIDENCE IMMUNOHISTOCHIMIQUE DU RECEPTEUR C-KIT :

En préambule à notre travail, nous avons tenté de définir les conditions les plus favorables à la détection de cet antigène sur coupes de tissus fixées dans du formol. Ces essais ont porté, tout d'abord, sur les modalités de réalisation du démasquage antigénique et sur les méthodes d'amplification du signal. De façon à mieux localiser l'antigène dans la cellule, nous avons, de plus, tenté de détecter ce dernier sur des coupes semi-fines de tissus inclus dans un plastique hydrosoluble (Unicryl™) ou dans de l'alcool polyvinylique.

Les mises au point méthodologique ont été réalisées sur des coupes de fragments de paroi digestive (colique ou grêle) prélevés le plus rapidement possible après la fin de l'intervention chirurgicale et fixés dans du formol à 4% (m/v) dilué dans un tampon phosphate 0,1M, pH 7,4. Au niveau de cet organe, en effet, deux populations cellulaires sont constamment marquées par cet anticorps, à savoir les mastocytes et les cellules interstitielles de Cajal (8, 56, 71, 127). L'anticorps a également été testé sur de nombreux tissus normaux et quelques variétés de tumeurs (séminome testiculaire, carcinome à petites cellules, etc....)

2.1.1.1. Méthode immunohistochimique en trois couches faisant appel au couple streptavidine-biotine et à une inversion de la fixation formolée par hydrolyse à chaud dans un tampon citrate chauffé à l'autocuiseur. Méthode de référence :

La composition des différents tampons, du diluant des anticorps primaires, des milieux de montage, des différents substrats, etc.... utilisés pour cette étude immunohistochimique est indiquée en **annexes**.

L'anticorps anti c-kit commercialisé par Dako (Référence A4502) est un anti-sérum préparé chez le lapin par injections répétées d'un petit peptide long de 14 acides aminés localisé à la partie C terminal (résidus 963 à 976) de la protéine (127). Le peptide seul n'étant pas immunogène est couplé à de la thyroglobuline de lapin. L'anti-sérum est purifié par chromatographie d'affinité.

Cette technique immunohistochimique, employée en routine au laboratoire, se pratique de la façon suivante :

Les coupes sont tout d'abord étalées sur des lames Superfrost™ recouvertes d'eau distillée puis séchées à l'étuve à +37°C pendant deux heures. Elles sont ensuite déparaffinées dans trois bains successifs de toluène, réhydratées par passage dans des bains d'alcool de concentration décroissante et finalement immergées dans de l'eau distillée.

Un pré-traitement des coupes visant à inverser la fixation formolée est nécessaire. Les lames sont rangées sur un support métallique et immergées dans deux litres de tampon citrate 10mM, pH 6,0, porté à ébullition dans une cocotte minute dont le couvercle a été refermé. Lorsque la vapeur s'échappe par la soupape, un temps de 7 minutes est décompté ; l'autocuiseur restant sur la source de chaleur pendant ce même temps.

Les lames sont ensuite immédiatement plongées, pendant une minute, dans de l'eau courante pour les refroidir puis dans un tampon phosphate contenant du NaCl et du Tween, pH 7,6, (tampon PBS-Tween).

Chaque image est encerclée par un film de silicone (Dakopen™), afin de limiter l'écoulement des solutions d'incubation, responsable d'un dessèchement des tissus.

Tous les rinçages sont réalisés à la pissette avec un tampon PBS-Tween.

L'anticorps anti c-kit, dilué au 1/300 dans un diluant d'anticorps, est déposé et incubé en chambre humide à 4°C pendant une nuit.

Après rinçage, les coupes sont recouvertes, pendant une heure, en chambre humide, d'une solution d'anticorps biotinylé anti IgG de lapin, préparé chez la chèvre (réactif Dako E432), dilué au 1/200ème dans du tampon PBS-Tween.

Après un nouveau rinçage, l'inhibition de l'activité peroxydasique endogène est réalisée par l'incubation des coupes pendant 15 minutes dans une solution de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) à 6% (v/v) dans de l'eau déminéralisée.

Après rinçage, les coupes sont incubées une heure à température ambiante dans une solution de streptavidine peroxydase (réactif Dako P 397) diluée au 1/200ème dans du tampon PBS-Tween.

Après un nouveau rinçage, l'activité peroxydasique est enfin révélée par la technique classique au tétrahydrochlorure de di-aminobenzidine (DAB Aldrich 26.189-0). Le milieu de révélation est préparé en dissolvant successivement 6 mg de DAB, 200 µL de «MR 50X peroxydase» et 15 µL d'H_2O_2 à 6% (v/v) dans 10 mL d'un tampon PBS sans Tween, pH 7,6. La révélation est contrôlée au microscope et arrêtée par immersion de la lame dans l'eau courante.

Les coupes sont contre-colorées à l'hématéine de Harris, diluée au ½, pendant 45 secondes puis rincées à l'eau courante et bleuies dans de l'eau ammoniaquée.

Après déshydratation dans l'éthanol et passage dans le toluène, les lamelles sont montées à l'Eukitt™ (Labonord).

Dans certains cas, la révélation de l'activité peroxydasique a également été réalisée en utilisant le 3-amino-9-éthylcarbazole -AEC, (Zymed), qui donne lieu à un précipité plus fin que le précipité de la DAB et dont la couleur rouge contraste bien avec le bleu des noyaux. La technique est moins sensible que celle faisant appel à la DAB et impose un montage en milieu non organique, à savoir une solution d'alcool polyvinylique à 13% (m/v) dans du Tris-HCl 0,1M, pH 8,5, sans déshydratation préalable.

2.1.1.2. Méthode immunohistochimique en trois couches faisant appel au couple streptavidine-biotine. Réalisation de la technique sans inversion préalable de la fixation formolée ou après tentative d'hydrolyse à chaud dans un tampon chauffé au bain marie

- **Absence de pré-traitement :**

Après séchage à l'étuve à +37°C pendant deux heures, les coupes sont déparaffinées dans trois bains successifs de toluène, réhydratées par passage dans des bains d'alcool de concentration décroissante, puis dans de l'eau distillée.
Les lames sont ensuite immergées dans un tampon PBS-Tween, pH 7,6. La suite de la méthode est identique à ce qui a été décrit précédemment.

❖ **Inversion de la fixation formolée par un pré-traitement thermique au bain marie :**

Dans ce cas, l'inversion de la fixation formolée est réalisée dans un tampon citrate chauffé au bain marie, à 72°C pendant une heure. Pour ce faire, après déparaffinage, les lames sont immergées dans un coplin, contenant un tampon citrate 10 mM pH 6,0, coplin lui-même placé dans un bain marie à 72°C pendant 1 h. Les lames sont ensuite refroidies à l'eau distillée (1 minute) puis plongées dans un tampon PBS-Tween, pH 7,6.

2.1.1.3. Méthode immunohistochimique en trois couches faisant appel au couple streptavidine-biotine. Réalisation de la technique après démasquage antigénique à la trypsine :

Dans ce cas, l'étape de démasquage thermique est remplacée par une protéolyse ménagée de la coupe. Pour ce faire, après déparaffinage et réhydratation, les coupes sont immergées dans une solution de trypsine à 0,1% (m/v), 200 U FIP (Fédération internationale)/g, dans de l'eau distillée, pH 7,8, contenant 0,4% (m/v) de $CaCl_2$; le reste de la technique demeurant inchangé.

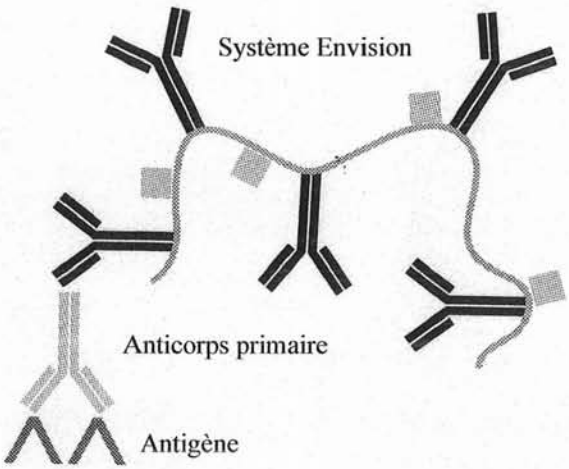
2.1.1.4. Méthodes immunohistochimiques faisant appel à un système d'amplification :

❖ **Méthode faisant appel à l'amplification par le système Envision™ (DAKO) :**

Pour essayer d'obtenir un signal plus intense que celui observé avec le montage classique précédemment décrit, nous avons testé le système Envision™ (**figure n°7**) de Dako, réputé amplifier le signal des réactions immunohistochimiques. Ce système est constitué par un antisérum de chèvre anti IgG de lapin (réactif Dako E 4), sur lequel est greffé un squelette de dextran hydrophile lui même porteur de nombreuses molécules de peroxydases. La synthèse de ce composé, vecteur de molécules d'enzymes et d'anticorps secondaires, comporte plusieurs étapes. La première consiste en une activation du dextran par le divinyle sulphone. Cette étape est suivi par la conjugaison de molécules de peroxydase (50 à 500) sur la molécule de dextran. Le conjugué obtenu est purifié par chromatographie d'exclusion. Dans une dernière étape, des immunoglobulines anti-Igs de lapin (10 à 50) sont couplées au réactif précédent puis le conjugué final est purifié. Toutes ces étapes s'effectueraient sans perte de l'activité enzymatique

ou de l'avidité de l'anticorps pour l'antigène. Ce conjugué est utilisé comme anticorps secondaire dans une technique en deux couches.

Figure n°7 : Principe du système Envision™ (Dako)



Après incubation de l'anticorps primaire pendant la nuit, le système Envision™ est déposé sur les coupes soit pur pendant 30 min, soit dilué au ½ dans un tampon PBS-Tween pendant 1 heure. La révélation de l'activité peroxydasique est effectuée avec la méthode classique au DAB ; le reste de la méthode étant inchangé.

- **Méthode immunohistochimique en trois couches faisant appel au couple streptavidine-biotine avec amplification des réactions immunologiques par dépôt catalytique de dérivés de tyramine aux sites de la réaction :**

  - ***Principe et intérêt :***

Afin d'essayer d'obtenir un signal plus intense, nous avons jugé intéressant de tester la technique d'amplification à la tyramine, considérée, actuellement, comme la plus sensible des techniques immunohistochimiques. Cette technique est parfois de mise en œuvre délicate. Elle utilise la peroxydase, portée par un anticorps secondaire ou tertiaire ou la streptavidine pour catalyser le dépôt de tyramine biotinylée au niveau des sites de la réaction immunohistochimique. La réaction impliquerait non seulement une polymérisation des résidus tyramine mais également le couplage covalent de ces derniers à des acides aminés (tyrosine, tryptophane) présents dans les protéines situées au niveau du site de la réaction. Ce couplage ferait appel à un mécanisme radiculaire.

- ***Méthode :***

Le déparaffinage des coupes et l'inversion de la fixation formolée est identique à ce qui a été précédemment décrit **page 80**. Tous les rinçages sont également réalisés à la pissette avec un tampon PBS-Tween.

Après rinçage, les coupes sont incubées pendant 20 minutes dans une solution d'albumine bovine à 3% (m/v) non cristallisée dans un tampon PBS-Tween qui sera ensuite égouttée afin d'éviter une dilution de l'anticorps primaire.

L'anticorps primaire anti c-kit dilué au 1/2000 dans un diluant d'anticorps est déposé sur les coupes. L'incubation se fait en chambre humide à 4°C pendant une nuit.

Après rinçage, les coupes sont incubées pendant 30 minutes à température ambiante dans une solution d'albumine bovine à 0,5% (m/v) dans un tampon PBS-Tween afin de fournir le dépôt protéique nécessaire à la fixation de la tyramine activée aux sites de la réaction immunologique. Les coupes sont ensuite égouttées afin d'éviter la dilution de l'anticorps secondaire.

Les coupes sont recouvertes, pendant 45 minutes en chambre humide, d'une solution d'anticorps secondaire conjugué à de la biotine (chèvre anti-IgG de lapin, réactif Dako E 432). Cet anticorps secondaire est dilué au 1/200ème dans du tampon PBS-Tween.

Après rinçage, l'inhibition de l'activité peroxydasique endogène est réalisée par l'incubation des coupes pendant 15 minutes dans une solution de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) à 6% (v/v) dans de l'eau déminéralisée.

Après un nouveau rinçage, les coupes sont incubées 30 minutes à température ambiante dans une solution de streptavidine peroxydase (réactif Dako P 397) diluée au 1/200ème dans un tampon PBS-Tween.

Après rinçage, les coupes sont incubées pendant 10 min dans une solution de tyramine biotinylée diluée au 1/50ème dans un tampon TRIS HCl 200mM, pH 8,8 / IMIDAZOLE 10mM en présence de 5µL d'H_2O_2 à 6 % (v/v).

✓ *La tyramine biotinylée est synthétisée préalablement de la manière suivante :*
5 mL d'une solution 8,8 mM d'ester de succinimide de biotine (Pierce) dans du tampon borate de sodium pH 8,0 sont mélangés à un volume équivalent d'une solution de tyramine - HCl (Sigma) 7,4mM dans le même tampon.
Les esters de succinimide sont solubilisés dans un volume de 1 mL de diméthylformamide anhydre avant la mise en solution dans du tampon borate. Les mélanges sont agités pendant 16 heures à l'obscurité, à température ambiante, lyophilisés et remis en solution dans 10mL d'éthanol à 85%.

Après rinçage, les coupes sont incubées 30 minutes à température ambiante dans une solution de streptavidine peroxydase (réactif Dako P 397) diluée au 1/200ème dans du tampon PBS-Tween.

Après un nouveau rinçage, l'activité peroxydasique est révélée par la technique classique au DAB, suivie au microscope et arrêtée en plongeant les lames sous l'eau courante.

Les coupes sont contre-colorées à l'hématéine de Harris non alcoolisée, diluée au ½, pendant 45 secondes puis rincées à l'eau courante et bleuies de l'eau ammoniaquée. Après déshydratation dans l'éthanol et passage dans le toluène, les lamelles sont montées à l'Eukitt™ (Labonord)

- ***Modifications de la technique de base :***
  - *Etude de variations portant sur la durée de l'étape de polymérisation et sur la concentration modifiée de la tyramine :*

La longueur des polymères obtenues est très dépendante des conditions de la réaction. En effet, une oxydation brutale conduit à la formation de dimères . En revanche, si cette oxydation est plus lente, des polymères de longueur variées sont obtenus. C'est pourquoi nous avons testé une durée de polymérisation plus longue tout en diminuant la concentration du substrat.
Les lames ont donc été incubées dans une solution de tyramine biotinylée diluée au 1/100ème dans un tampon TRIS HCl 200mM, pH 8,8 / IMIDAZOLE 10mM en présence de 5µL d'H_2O_2 à 6 % (v/v), soit pendant 1 heure soit pendant 2 x 30 minutes avec entre les deux, un rinçage au PBS-Tween. Le reste de la méthode est inchangé.

- *Modification de la concentration de l'albumine bovine avant l'incubation de l'anticorps primaire :*

Cette étape a pour but non seulement de limiter le bruit de fond par inhibition de l'accrochage non spécifique des anticorps sur la coupe tissulaire mais également d'apporter les acides aminés nécessaires à l'accrochage covalent des polymères au site de la réaction immunohistochimique. Ces variations interviennent donc, non seulement, sur l'intensité du signal spécifique mais aussi sur celle du bruit de fond. Les concentrations suivantes d' albumine bovine ont donc été testées: 5 % , 2 % et 0 % ; le reste de la méthode étant inchangé.

- *Rinçage au PBS-Tween chaud après polymérisation :*

Certains auteurs (135) ayant récemment rapporté qu'une étape de rinçage des coupes par le PBS-Tween chaud après incubation par la tyramide améliore le signal, sans perte de spécificité mais avec une diminution significative du bruit de fond. Nous avons testé cette méthode en effectuant un rinçage des coupes par le PBS-Tween chaud (95°C) pendant 1 à 2 mn après incubation pendant 1 heure par la tyramide dilué au 1/100^{éme} ; le reste de la méthode demeurant inchangé.

2.1.1.5. Mise en évidence de l'antigène c-kit sur coupes semi-fines. Essais d'inclusion en Unicryl™ ou en alcool polyvinylique :

La pratique de réactions immunohistochimiques sur coupes semi-fines permet l'obtention de documents plus aisément analysables, en terme de localisation cellulaire et sub-cellulaire, tout en ne modifiant que peu l'intensité du signal. Nous avons donc tenter d'adapter les techniques immunohistochimiques à la détection du récepteur c-kit après inclusion de prélèvements tissulaires fixés de façon habituelle dans un plastique hydrosoluble (Unicryl™) ou dans de l'alcool polyvinylique.

- **Inclusion des tissus en Unicryl™:**

Après une fixation de 16 heures, les prélèvements de petite taille (1 mm de coté) sont rincés plusieurs fois pendant 5 minutes dans du PBS sans Tween. Ils sont, ensuite, déshydratées dans des bains d'alcool de concentration croissante (alcool 70°, 90°, 96°,absolu) pendant 3 x 20 mn. Les prélèvements sont pré-imprégnées de la façon suivante :

⇨ 2/3 alcool absolu et 1/3 Unicryl™ : 2 heures

⇨ 1/3 alcool absolu et 2/3 Unicryl™ : 2 heures

⇨ Unicryl™ 1 nuit (16 heures)

⇨ Unicryl™ 8 heures

⇨ Unicryl™ 1 nuit (16 heures)

L'inclusion des prélèvements est effectuée dans des capsules Beem™ avec de l'Unicryl™ frais. La polymérisation est réalisée par les ultraviolets (2 x 8 watts). Pour ce faire, les échantillons sont placés à 10 cm de la source lumineuse , en chambre froide à 4°C, pendant 5 jours.

Ils sont ensuite débitées à l'ultramicrotome au couteau de verre en coupes de 0,8 à 2 µm d'épaisseur, coupes qui sont recueillies à l'aiguille et étalées sur des lames Superfrost™ recouvertes d'eau distillée. Sur les coupes ainsi obtenues ont été testées, la méthode immunohistochimique classique en trois couches sans pré-traitement ou avec pré-traitement en cocotte minute dans un tampon citrate pendant 7 min. Les autres procédés expérimentés en paraffine n'ont pas été testés sur les coupes de tissus inclus dans cette masse d'inclusion par manque de matériel.

❖ **Inclusion des tissus en alcool polyvinylique selon la technique de North A.J. et Small V. (95) :**

Les avantages de l'alcool polyvinylique par rapport à d'autres produits d'inclusion sont :

⇨ sa solubilité dans l'eau qui permet l'inclusion sans passage dans les solvants organique,

⇨ la relative facilité de la préparation des échantillons et de la réalisation des coupes.

Le milieu d'inclusion peut enfin être éliminé aisément par immersion des coupes dans un tampon. L'inconvénient de la méthode tient principalement dans la longueur de la procédure d'inclusion.

Les prélèvements de petite taille, fixés pendant 16 heures puis rincés au PBS (3 fois 5 minutes), sont placés, sous agitation continue, dans une solution d'alcool polyvinylique à 20% dans l'eau pendant 3 heures. Ils sont ensuite déposés dans une boîte de Pétri de 35 mm de diamètre et recouvert d'une fine couche de PVA. Cette couche doit être fine (2 à 3 mm) de façon à éviter la formation de bulles pendant le durcissement. Ce dernier est réalisé à température ambiante ou à l'étuve à 37°C. La première couche, une fois durcie, est recouverte d'une petite quantité de solution d'alcool polyvinylique qui est mise à polymériser. Le processus est répété plusieurs fois jusqu'à obtention du résultat souhaité en terme d'épaisseur du bloc et de dureté de la masse d'inclusion. Trois semaines sont, en règle générale, nécessaires. Au terme de l'inclusion, les prélèvements sont débités à l'ultramicrotome au couteau de verre ou de diamant en coupes de

0,6 à 0,7 µm d'épaisseur. Les coupes sont récupérées à l'aiguille et étalées sur une goutte de méthanol pur déposée sur des lames Superfrost™. Sur les coupes ainsi obtenues ont été testées la méthode classique en trois couches avec une inversion par hydrolyse à chaud (autocuiseur) de la fixation formolée ainsi que la méthode d'amplification à la tyramine modifiée.

2.1.1.6 : Méthodes immunohistochimiques appliquées à notre série :

Au vu de tous ces essais, tous les cas de notre série ont bénéficié de la méthode de référence : méthode immunohistochimique en trois couches faisant appel au couple streptavidine-biotine et à une inversion de la fixation formolée par hydrolyse à chaud dans un tampon citrate chauffé à l'autocuiseur. L'application de cette méthode nous a permis de comparer nos résultats à ceux de la littérature.

Puis devant le grand nombre de cas négatifs avec certains anticorps (actine musculaire lisse, desmine, HHF35, PS100), nous avons appliqué la méthode immunohistochimique en trois couches faisant appel au couple streptavidine-biotine avec amplification des réactions immunologiques par dépôt catalytique de dérivés de tyramine aux sites de la réaction. Cette méthode, actuellement la plus sensible a été précédé par une inversion de la fixation au bain marie afin de préserver au maximum les sites antigéniques et la morphologie tissulaire.

Les autres procédés expérimentés n'ont pas été testés sur les cas de notre série par manque de matériel. La réalisation de coupes semi-fines n'a pas été réalisé, les blocs de tissus étant inclus en paraffine.

2.1.2. L'ETUDE DES OBSERVATIONS PERSONNELLES :

2.1.2.1. Le groupe étudié :

Le groupe est constitué des patients atteints de tumeurs gastro-intestinales non épithéliales examinées dans le service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques (Messieurs les Professeurs Floquet et Plénat) du CHU de Brabois à Nancy entre 1983 et 2000. Les tumeurs d'origine fibroblastique, vasculaire, adipeuse ont été exclues et seules les pièces d'exérèse chirurgicales ont été retenues.

Au total, 62 patients ont été inclus dans notre étude. Parmi eux, 59 ont été opérés dans le service de chirurgie C (Monsieur le Professeur Boissel) du CHU de Brabois à Nancy. Un cas provenait de l'Hôpital Général Jean Monnet à Epinal, un autre cas de la Clinique de Saint Dié, le dernier cas a été recueilli à l'occasion d'un prélèvement multi-organes.

2.1.2.2. Méthodes :

❖ **Le recueil des données cliniques :**

Le dossier clinique de chaque patient a été réétudié et pour chaque cas, ont été répertoriés (**Tableau n°10**) :

- ⇨ le sexe et l'âge au moment du diagnostic,
- ⇨ les symptômes ayant permis la découverte de la tumeur,
- ⇨ la localisation digestive de la tumeur et sa taille,
- ⇨ la date et la nature du traitement chirurgical.

Pour l'ensemble des patients, les renseignements concernant l'évolution clinique des lésions ont été recherchés. Nous avons, de plus, tenu compte des éventuelles récidives et de l'apparition de métastases, de la survenue du décès lié ou non à la pathologie digestive. Pour chiffrer l'évolution, la date du décès ou celle des dernières nouvelles du patient ont été retenues. (**Tableau n°10**)

❖ **L'étude macroscopique :**

Les pièces opératoires sont parvenues au laboratoire d'Anatomie Pathologique à l'état frais dans un délai allant de quelques minutes à quelques heures. Après réalisation des différentes

mesures, les pièces sont fixées en totalité. Une partie des prélèvements réalisés de 1983 à 1995 soit 38 cas a été fixé dans du liquide de Bouin alcoolique. Le reste des prélèvements effectués pendant cette période (3 cas) et les prélèvements réalisés par la suite c'est à dire entre 1996 et 2000 (22 cas), soit 25 cas au total, ont quant à eux été fixés dans du formol à 4% (m/v) dilué dans un tampon phosphate 0,1M, pH 7,4. Dans 35 cas, plusieurs fragments de la tumeur ont été prélevés pour une étude ultrastructurale et fixés dans du glutaraldhéhyde à 2,5 % préparé à partir d'une solution mère EM Grade (TAAB™) à 25% diluée dans un tampon Cacodylate 0,1M, pH 7,2.

❖ **L'étude histologique :**

Après une fixation de 16 heures, un échantillonnage de la lésion a été réalisé : prélèvements étagés environ tous les centimètres, des zones de couleur variable et au niveau des limites d'exérèse chirurgicales repérées par de l'encre de Chine. Ils ont été ensuite inclus dans de la paraffine dans un automate de type V.I.P. (Tissue-Tek™), puis débités en coupes de 5 µm d'épaisseur qui sont ensuite étalées soit sur des lames ordinaires recouvertes d'eau albumineuse, soit sur des lames Superfrost™ recouvertes d'eau distillée. Après séchage à l'étuve à +37°C pendant deux heures, les coupes ont été déparaffinées dans trois bains successifs de toluène, hydratées par passage dans des bains d'alcool de concentration décroissante, puis dans de l'eau courante et enfin colorées à l'H.E.S. (Hématéine-Eosine-Safran) avant le montage de la lamelle à l'Eukitt™ (Labonord).

Les 62 tumeurs ont fait l'objet d'une relecture. Pour chaque cas, ont été répertorié : (**Tableau n°11**)

⇨ l'existence ou non de foyers de nécrose ;

⇨ le type cellulaire prédominant : fusiforme, épithélioïde, association de ces deux types cellulaires ;

⇨ le pléiomorphisme nucléaire : estimé absent, faible, modéré ou important ;

⇨ le compte mitotique évalué sur 50 champs au grossissement 400 (F.G.).

Les mitoses ont été comptées dans les zones les plus mitotiques, les plus cellulaires situées à distance des foyers de nécrose et d'ulcération. Les figures douteuses de mitoses et les images d'apoptose n'ont pas été retenues.

Les 62 tumeurs ont été ensuite classées histologiquement en trois groupes selon les critères d'Amin et collaborateurs (**Tableau n°4, paragraphe 1.2.6.2.**)

❖ **L'étude de la différenciation des cellules des tumeurs stromales gastro-intestinales :**

♦ ***L'étude immunohistochimique :***

Neuf anticorps dont les caractéristiques sont détaillés ci-dessous (**Tableau n°7**) ont été testés pour chaque cas.

Tableau n°7 : Les caractéristiques des anticorps utilisés dans notre étude

Anticorps primaires	Monoclonal Polyclonal	Référence du produit	Dilution	Prétraitement
Desmine	M	Dako	1/200	C.M. 7 minutes
AML	M	Dako	1/400	C.M. 7 minutes
HHF35	M	Dako	1/1500	-
Vimentine	M	Dako	1/200	C.M. 7 minutes
CD34	M	Immunotech	1/1000	C.M. 7 minutes
PS100	P	Dako	1/1600	-
NSE	M	Dako	1/1600	C.M. 7 minutes
CGA	P	Dako	1/2000	-
c-kit	P	Dako	1/300	C.M. 7 minutes

Abréviations :
AML : actine musculaire lisse
HHF35 : actine musculaire
NSE : neurone énolase spécifique
CGA : chromogranine A
M/P : Monoclonal/Polyclonal
CM : Cocotte minute
- : Pas de pré-traitement

□ *Méthode immunohistochimique en trois couches faisant appel au couple streptavidine-biotine :*

La méthode décrite au **paragraphe 2.1.1.1.** est appliquée.

Pour certains anticorps, un prétraitement des coupes, à la cocotte minute, visant à inverser la fixation a été nécessaire.

Les anticorps primaires dilués dans un diluant d'anticorps sont déposés aux concentrations citées dans le **tableau n°7** et incubés en chambre humide à 4°C pendant une nuit.

Après rinçage, les coupes sont recouvertes, pendant une heure en chambre humide, d'une solution d'anticorps secondaire conjugué à la biotine (chèvre anti-IgG de souris, réactif Dako E 433 pour les anticorps monoclonaux et chèvre anti-IgG de lapin, réactif Dako E 432 pour les anticorps polyclonaux). Ces anticorps secondaires sont dilués au 1/200ème dans du tampon PBS-Tween.

L'activité peroxydasique est révélée par la technique classique au DAB qui est déposé sur les coupes pendant 10 min et arrêté en plongeant les lames dans l'eau courante.

- *Méthode immunohistochimique en trois couches faisant appel au couple streptavidine-biotine avec amplification des réactions immunologiques par dépôt catalytique de dérivés de tyramine aux sites de réaction :*

Devant des résultats négatifs pour certains anticorps dirigés contre les cellules musculaires lisses (AML, HHF35 et Desmine) ou nerveuses (PS100), nous avons jugé intéressant de tester la technique d'amplification à la tyramine afin de tenter de mettre en évidence une différenciation musculaire ou nerveuse qui n'aurait pas été révélée par la méthode en trois couches faisant appel au couple streptavidine-biotine.

La méthode utilisée est celle décrite au **paragraphe 2.1.1.2**. La fixation des tissus a été inversée par un pré-traitement thermique au bain marie à 72° pendant 1 heure.

Les anticorps primaires dilués dans un diluant d'anticorps sont déposés aux concentrations respectives de 1/3200 pour l'anticorps anti actine musculaire lisse, 1/7500 pour l'HHF35, 1/1000 pour l'anticorps anti desmine et 1/9600 pour l'anticorps anti PS100. L'incubation se fait en chambre humide à 4°C pendant une nuit.

Les coupes sont recouvertes, pendant 45 minutes en chambre humide, d'une solution d'anticorps secondaire conjugué à la biotine (chèvre anti-IgG de souris, réactif Dako E 433 pour les anticorps monoclonaux et chèvre anti-IgG de lapin, réactif Dako E 432 pour les anticorps polyclonaux). Ces anticorps secondaires sont dilués au 1/200ème dans du tampon PBS-Tween.

L'activité peroxydasique est révélée par la technique classique au DAB et arrêtée en plongeant les lames sous l'eau courante.

- ***L'expression des résultats :***

En fonction du nombre de cellules marquées, le résultat est exprimé de manière semi-quantitative :

⇨ + : moins de 25% de cellules marquées

⇨ ++ : 25 à 75 % de cellules marquées

⇨ +++ : plus de 75 % de cellules marquées.

Le caractère focal du marquage est également pris en compte .

❖ **L'étude ultrastructurale :**

Elle a été réalisée dans 35 de nos cas à la recherche d'une éventuelle différenciation musculaire lisse ou nerveuse des cellules tumorales.

2.2. RESULTATS :

2.2.1. MISE EN EVIDENCE IMMUNOHISTOCHIMIQUE DU RECEPTEUR C-KIT :

2.2.1.1. Méthode immunohistochimique en trois couches faisant appel au couple streptavidine peroxydase-biotine :

Au niveau de l'intestin, cette méthode, appliquée sans inversion de la fixation formolée ne donne lieu à aucun signal. Après hydrolyse à chaud des liaisons méthyléniques, par immersion des lames dans un tampon citrate porté à ébullition dans un autocuiseur, les mastocytes et les cellules interstitielles de Cajal sont colorés. Le signal, strictement localisé au niveau des membranes plasmique, est de bonne intensité, aisément analysable. Lorsque l'inversion de la fixation est pratiquée au bain marie dans les conditions précisées ci-dessus, l'intensité du signal est amélioré, cette positivité s'accompagnant, de plus, d'une réduction du bruit de fond et d'une meilleure conservation des structures cellulaires et tissulaires. En revanche, une protéolyse trypsique ménagée réalisée avant l'application des anticorps se révèle sans effet, la technique immunohistochimique dans ce cas, ne donnant lieu à aucun signal.

Après inversion de la fixation formolée par hydrolyse, l'application de cette méthode à différents tissus sains, permet de démontrer que l'anti-sérum utilisé reconnaît non seulement les cellules interstitielles de Cajal et les mastocytes intestinaux, mais également les mastocytes cutanés, les mélanocytes, les ovocytes, et les spermatocytes (**Planche photographique n°2 , photos A – B – C – D - E - F**). L'anticorps reconnaît également les mastocytes tumoraux, les cellules tumorales de tumeurs séminomateuses et de carcinome à petites cellules, au moins dans les cas étudiés (**Planche photographique n°3 , photos B – C - D**).

2.2.1.2. Méthodes immunohistochimiques faisant appel à un procédé d'amplification:

Le procédé d'amplification faisant appel au système Envision™ (Dako) ne donne lieu à aucun signal quel que soit le pré-traitement des coupes réalisé. En revanche, l'utilisation du système faisant appel à la polymérisation radicalaire de dérivés de la tyramine, permet l'obtention d'une amplification significative du signal. Les différents paramètres intervenant dans la qualité du signal et l'intensité du bruit de fond ont été adaptés de façon à obtenir une qualité optimale. Cette dernière est obtenue avec une durée de polymérisation d'une heure lorsque la tyramine biotinylée est diluée au 1/100 et que la concentration albuminique au début de la technique est de 3% m/v . Aucune différence significative n'a été observée lors des polymérisation d'une heure, lorsque le milieu réactionnel est changé à la 30ème minute. Le passage des coupes dans du PBS-Tween chaud, après l'étape de la polymérisation de la tyramine, améliore discrètement le bruit de fond sans améliorer l'intensité du signal voire en l'abolissant parfois. Quelles que soient les modifications apportées à la technique, nous n'avons pas pu éliminer totalement le bruit de fond (**Planche photographique n°4 , photos A - B**).

2.2.1.3. Inclusion des tissus en Unicryl™ ou en alcool polyvinylique :

Après inclusion des tissus en Unicryl™, une étude immunohistochimique en trois couches, non amplifiée, faisant appel au couple streptavidine peroxydase/biotine avec ou sans inversion de la fixation formolée à la cocotte minute n'a pas permis l'obtention de signaux sur les multiples prélèvements analysés.

En revanche, cette méthode immunohistochimique a donné des résultats positifs sur les coupes semi-fines de tissus inclus dans l'alcool polyvinylique. En dépit de la finesse des coupes, l'intensité du signal est de bonne qualité. L'intérêt de la méthode réside dans une meilleure résolution (**Planche photographique n°4 , photos C - D**).

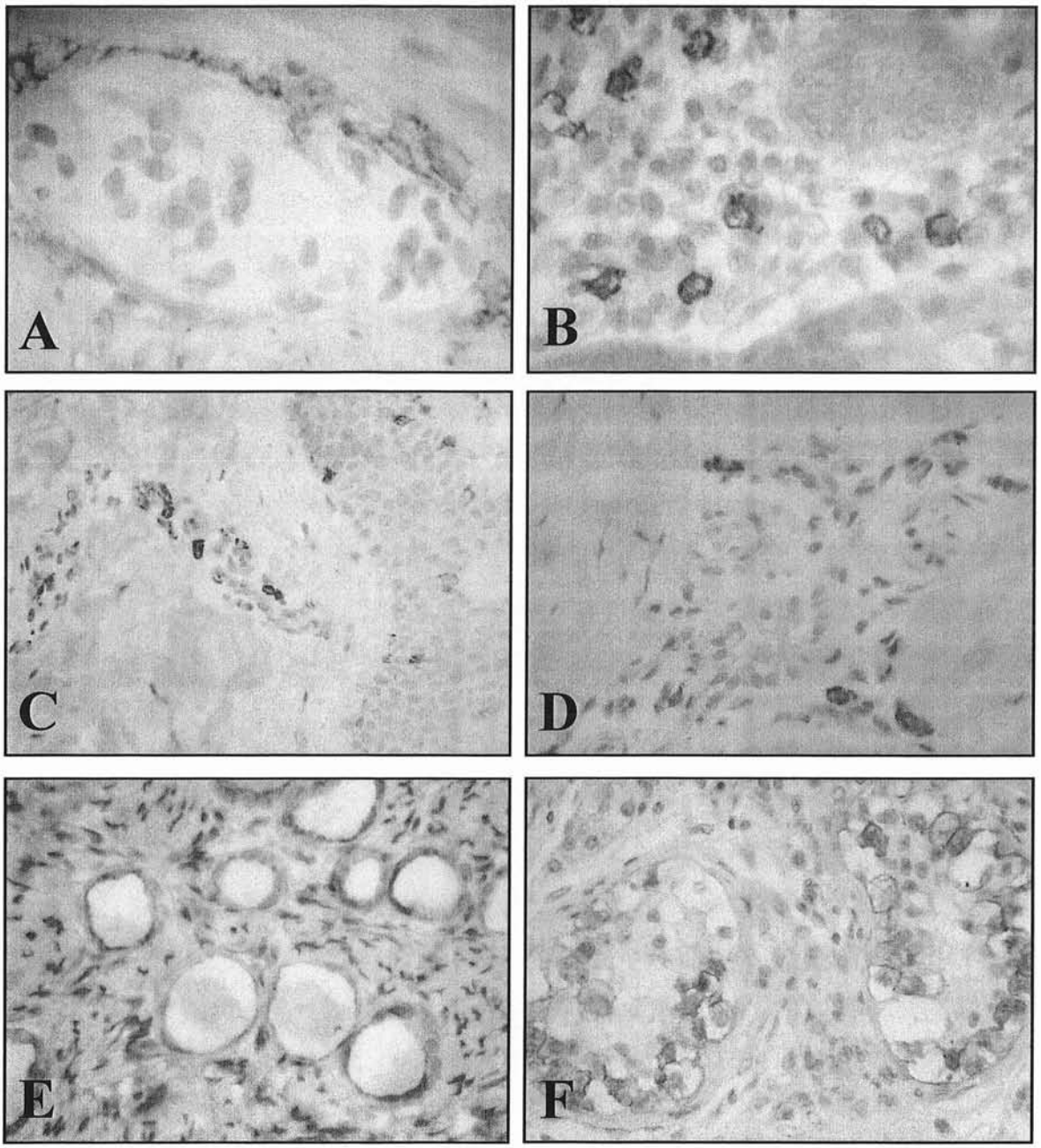


Planche photographique n°2 :
Mise en évidence par technique immunohistochimique
(méthode en trois couches faisant appel au couple streptavidine - biotine)
du récepteur c-kit sur quelques tissus normaux

A : Cellules interstitielles de Cajal (x400)
B : Mastocytes de la muqueuse digestive (x400)
C : Mastocytes et mélanocytes (x200)
D : Mastocytes cutanés (x400)
E : Ovocytes (x400)
F : Spermatocytes (x400)

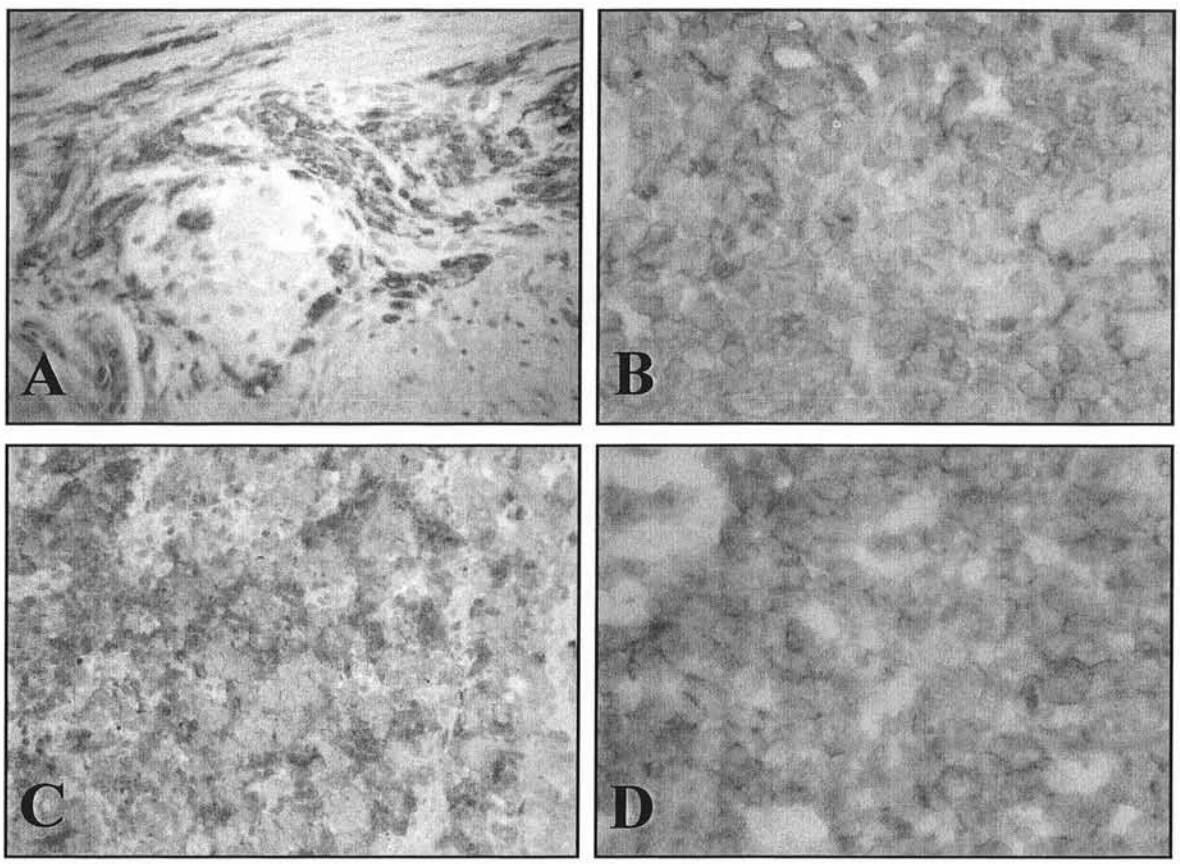


Planche photographique n°3 :
Mise en évidence par technique immunohistochimique
(méthode en trois couches faisant appel au couple streptavidine - biotine)
du récepteur c-kit sur quelques tissus pathologiques

A : Hyperplasie des cellules interstitielles de Cajal (x200)
B : Mastocytose cutanée (x400)
C : Carcinome à petites cellules du poumon (x200)
D : Séminome testiculaire (x400)

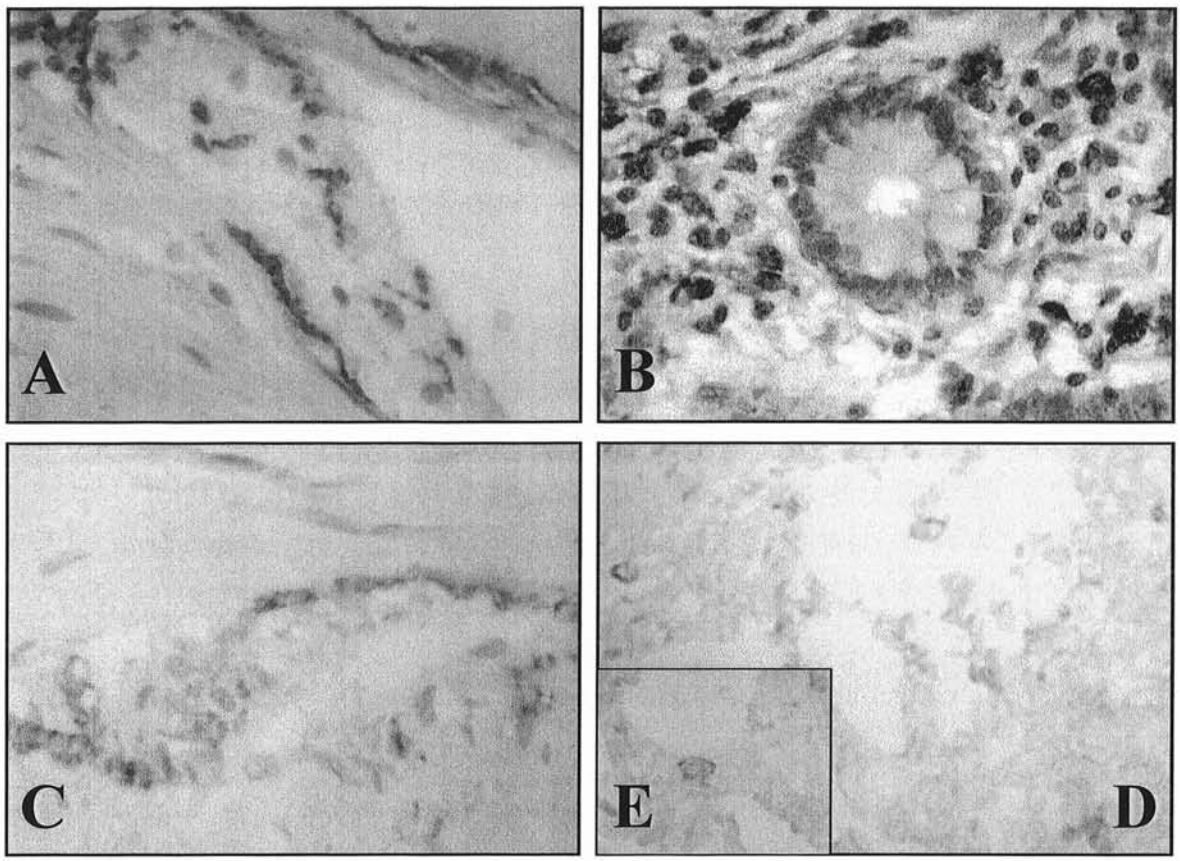


Planche photographique n°4 :
Mise en évidence par techniques immunohistochimiques du récepteur c-kit

A : Mise en évidence de cellules interstitielles de Cajal par méthode immunohistochimique utilisant une amplification par la tyramine biotinylée après inversion de la fixation formolée par hydrolyse à chaud dans un bain marie (x400)

B : Mise en évidence de mastocytes digestifs par méthode immunohistochimique utilisant une amplification par la tyramine biotinylée après inversion de la fixation formolée par hydrolyse à chaud dans un bain marie (x400)

C : Mise en évidence de cellules interstitielles de Cajal par méthode immunohistochimique en trois couches faisant appel au couple streptavidive-biotine sur coupes semi-fines (tissu inclus en alcool polyvinylique) (x400)

D : Mise en évidence de mastocytes digestifs par méthode immunohistochimique en trois couches faisant appel au couple streptavidive-biotine sur coupes semi-fines (tissu inclus en alcool polyvinylique) (x200)

E : Détail d'un mastocyte (x400)

2.2.2. L'ETUDE DES OBSERVATIONS PERSONNELLES :

2.2.2.1 Les caractéristiques cliniques :

❖ **Le sexe :**

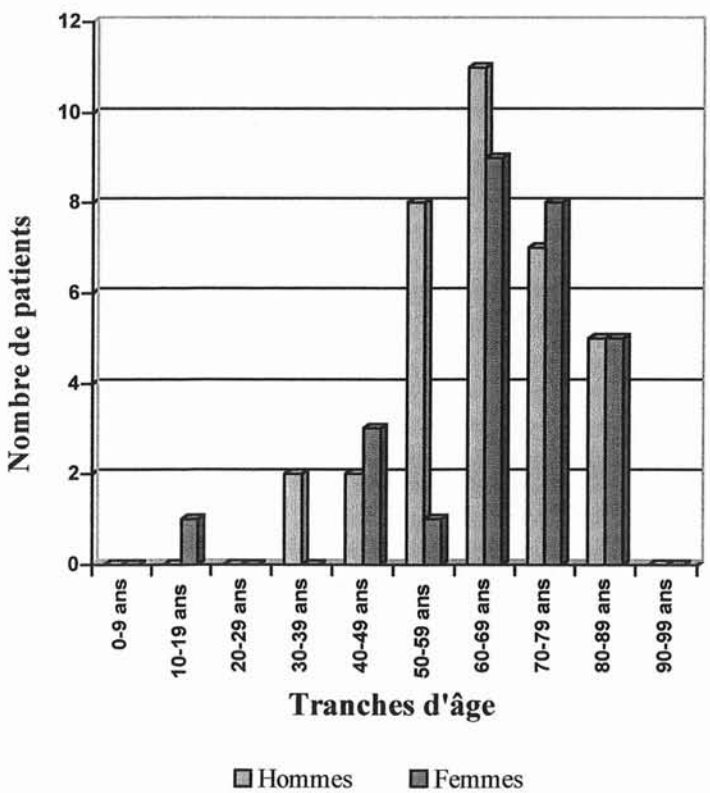
Notre série de 62 tumeurs stromales comportent 35 hommes et 27 femmes soit un sex ratio de 1,3 : 1.

❖ **L'âge :**

L'âge moyen au moment du diagnostic est de 65 ans. Le patient le plus jeune a 17 ans (observation n°33) et le plus âgé 88 ans (observation n°5).

La moyenne d'âge chez les patientes de sexe féminin est de 66,6 ans tandis que celle des patients de sexe masculin est de 63,7 ans.

Graphique n°1 : La répartition des 62 tumeurs stromales gastro-intestinales selon l'âge et le sexe



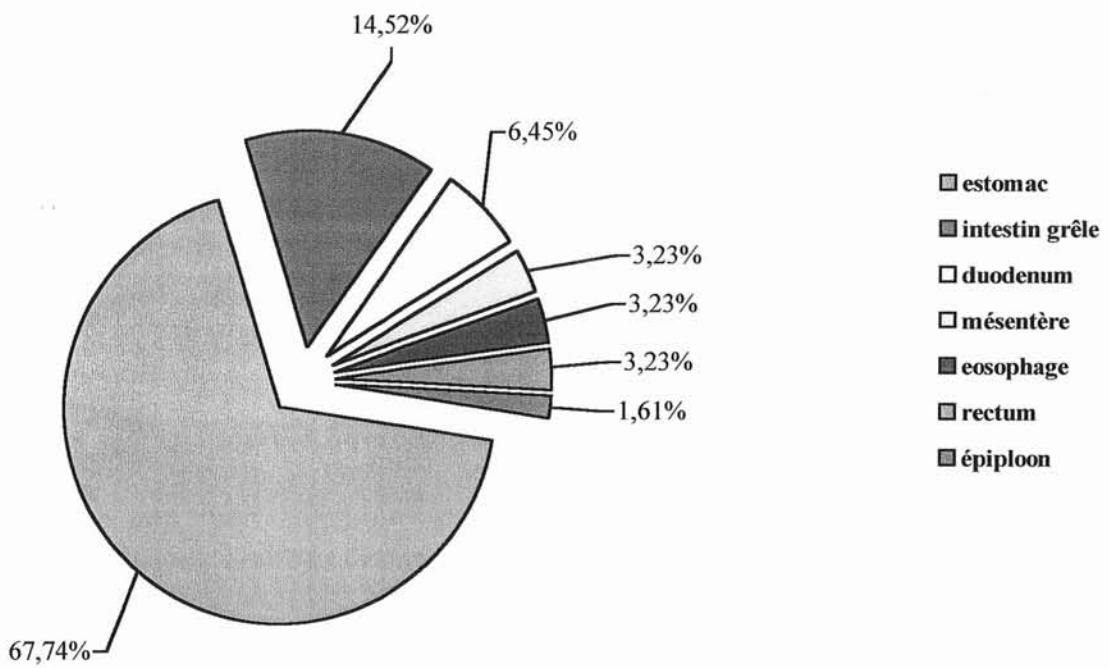
❖ **La localisation dans le tube digestif :**

Les 62 tumeurs se répartissent de la façon suivante dans le tube digestif (**Tableau n°8, Graphique n°2**).

Tableau n°8 : La répartition des tumeurs stromales en fonction de leur localisation dans le tube digestif

Localisation dans le tube digestif	*Nombre de cas*
Œsophage	2
Estomac	42
Intestin grêle	9
Duodénum	4
Rectum	2
Mésentère	2
Epiploon	1

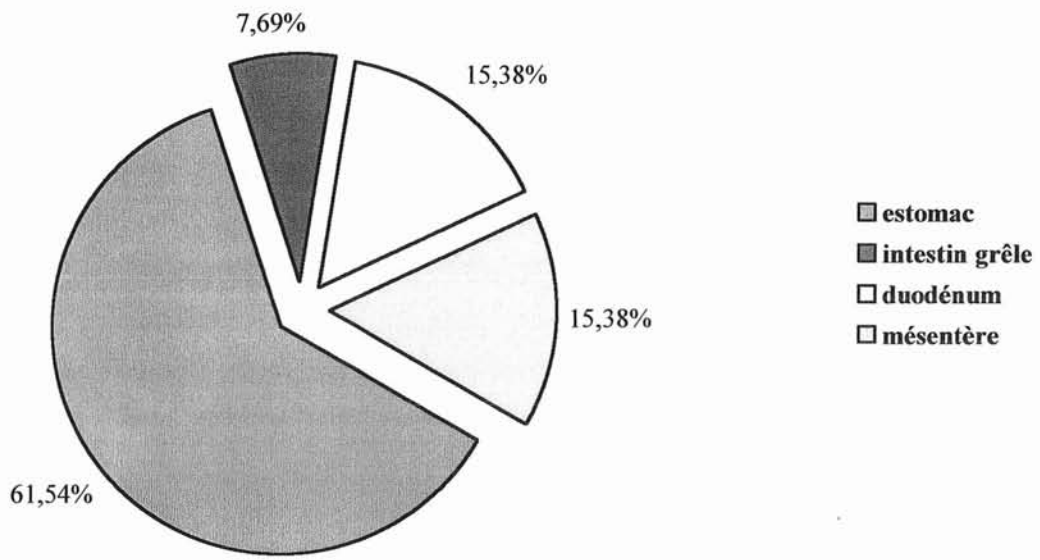
Graphique n°2 : La localisation des 62 tumeurs dans le tube digestif



Les 13 tumeurs d'évolution maligne (survenue de métastases et/ou d'extension péritonéale, récidive loco-régionale, décès secondaire dû à l'évolution tumorale) correspondent à 8 tumeurs gastrique (61,54 %), à 1 tumeur intestinale grêle (7,69 %), à 2 tumeurs duodénales (15,38 %) et à 2 tumeurs mésentériques (15,38 %) (**Graphique n°3**).

Les 49 tumeurs d'évolution bénigne se répartissent dans l'œsophage (2 cas soit 4,08 %), dans l'estomac (34 cas soit 69,34 %), dans l'intestin grêle (8 cas soit 16,33 %), dans le duodénum (2 cas soit 4,08 %), dans le rectum (2 cas soit 4,08 %) et dans l'épiploon (1 cas soit 2,04 %).

Graphique n°3 : La localisation des tumeurs malignes dans le tube digestif



❖ **Le mode de découverte :**

Les différents modes de découverte sont détaillés dans le **tableau n°9**.

La présence d'une hématémèse et/ou d'un méléna était le symptôme le plus fréquemment rencontré. Une anémie consécutive à une hémorragie occulte était également assez fréquente. Des douleurs abdominales pouvaient accompagner ces hémorragies ou être le symptôme principal.

Parfois ces lésions étaient découvertes au cours d'une intervention chirurgicale pour une autre lésion ou au cours d'un examen systématique pour le suivi d'une autre affection.

Pour trois de nos patients (observations n° 16, 35,48), les symptômes révélateurs de la tumeur ne sont pas connus.

Tableau n°9 : Les symptômes révélateurs des 62 tumeurs stromales gastro-intestinales

	Série complète (n = 62)	Œsophage (n = 2)	Estomac (n = 42)	Duodénum (n = 4)	Intestin grêle (n = 9)	Rectum (n = 2)	Mésentère/Epiploon (n = 3)
Saignement	30 (48 %)	-	21 (50 %)	3 (75 %)	5 (55 %)	1 (50%)	-
Douleurs abdominales	16 (26 %)	-	12 (29 %)	-	2 (22 %)	-	2 (66 %)
Anémie	15 (24 %)	-	10 (24 %)	-	3 (33 %)	1 (50%)	1 (33 %)
Chirurgie «autre lésion»	5 (8 %)	-	3 (7 %)	-	1 (11 %)	1 (50%)	-
Examen	5 (8 %)	1 (50 %)	2 (5 %)	1 (25 %)	1 (11%)-	-	-
Obstruction	3 (5 %)	-	2 (5 %)	-	-	-	1 (33 %)
Autres	13 (21 %)	1 (50 %) dysphagie	7 (17%)*	2 (50 %) malaise, AEG	2 (22 %) perforation, fistule	-	1 (33 %) AEG

* Malaise, tumeur palpable, AEG, régurgitations, dyspepsie.

❖ Le traitement chirurgical :

Les différents traitements chirurgicaux sont résumés dans le **tableau n°10**.

Six patients (9,7 %) ont bénéficié, dans notre étude, d'une intervention chirurgicale palliative (laparotomie), compte tenu de la présence de métastases hépatiques (observations n°13, 23, 53) et/ou d'une extension péritonéale (observations n° 10, 13, 21) ou de l'existence préalable d'une autre lésion néoplasique (observation n°9 ; cancer ORL). La taille des tumeurs traitées palliativement étaient en moyenne de 14 cm.

Les 56 autres patients (90,3 %) ont quant à eux bénéficié d'une intervention chirurgicale à visée curatrice :

⇨ soit par excision large (marge de sécurité > 2 cm) pour 27 patients (48,2 %) ;

⇨ soit par excision locale (marge de sécurité de 1 à 2 cm) pour 29 patients (51,8 %).

L'exérèse radicale large a été réalisée pour des tumeurs dont le diamètre moyen était de 6,5 cm alors que le diamètre moyen des tumeurs enlevées par excision locale était de 5,9 cm.

Ces deux types d'intervention radicale ont été réalisés pour la plupart de patients au cours d'une laparotomie (47 patients). Les deux tumeurs œsophagiennes (observations n° 7 et 40) ont été abordées par thoracotomie. Sept patients ont pu bénéficier d'une résection sous cœlioscopie de leur lésion (observations n° 31, 43, 46, 51, 54, 55, 60).

Un curage ganglionnaire a été réalisé dans de rares cas : patient n° 32 pour lequel un diagnostic préopératoire d'adénocarcinome gastrique avait été posé ; patient n°44 pour lequel était

suspecté un léiomyosarcome ; patient n°45 : curage effectué dans le cadre d'un carcinome épidermoïde œsophagien.

❖ **L'évolution clinique :**

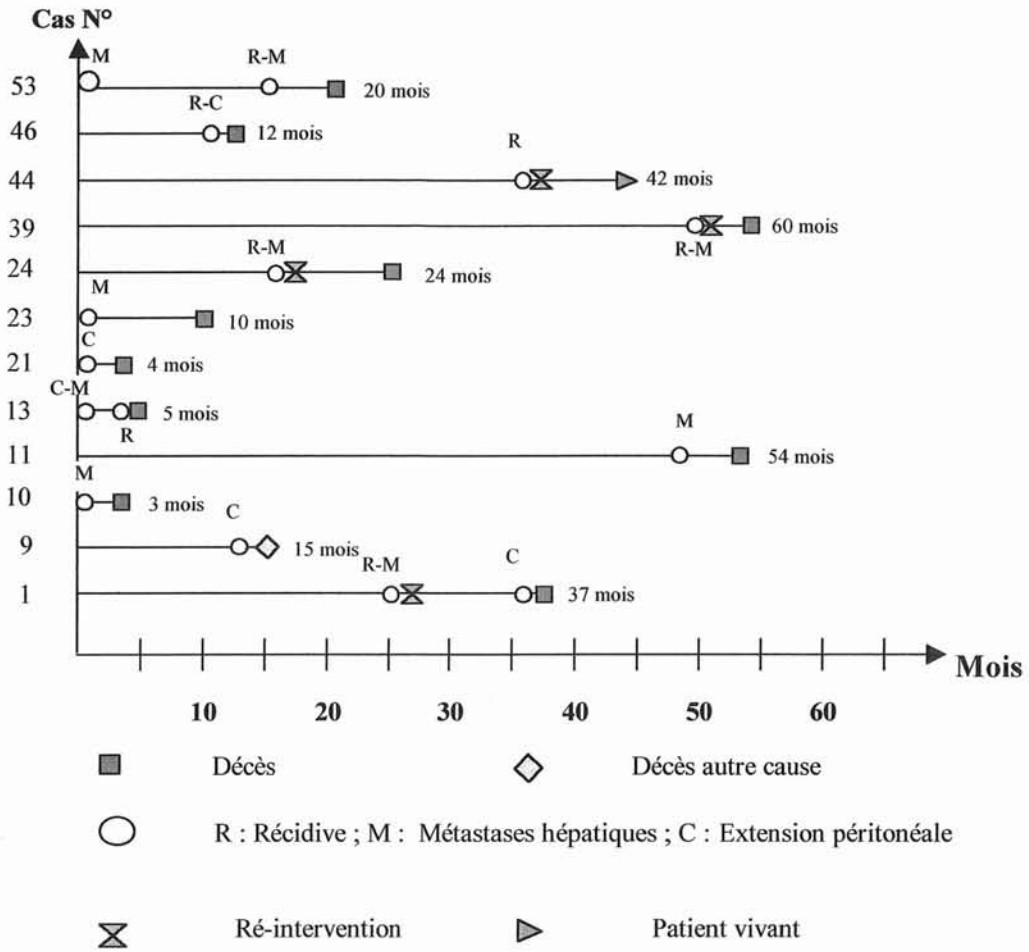
Nous avons suivi l'évolution clinique de 60 patients. Deux patients n'ont pas été suivi : le patient n°28 a été perdu de vue, la tumeur du patient n° 20 a été découverte au cours d'un prélèvement multi-organes.

Trois décès (3,2 %) sont survenus en post-opératoire immédiat :

- ⇨ patient n°4 : à J6 des suites d'une embolie pulmonaire massive,
- ⇨ patient n°37 : à J9, des suites d'un choc toxi-infectieux ; ce patient avait des métastases mésentériques au moment de l'intervention.
- ⇨ patient n°45 : à J8 des suites d'une médiastinite à Candida Albicans.

Douze patients (19,35 %) ont eu une évolution clinique défavorable dans un délai de 3 à 48 mois : survenue de métastases et/ou d'extension péritonéale, récidive loco-régionale, décès secondaire dû à l'évolution tumorale (**Graphique n°4**).

Graphique n°4 : Les tumeurs d'évolution maligne



Le patient n° 44 est toujours en vie actuellement. Le patient n° 9 est décédé d'un cancer ORL métastatique.

Cinq patients (41,6%) avaient des métastases hépatiques et/ou une extension péritonéales au moment de l'intervention initiale. Une récidive loco-régionale et/ou la survenue de métastases (toutes de siège hépatiques sauf dans un cas de siège hépatique et ganglionnaire) est retrouvée chez 8 patients dont 4 ont bénéficié d'une ré-intervention. Dix de ces 12 patients sont décédés de leur tumeur dans un délai de 3 à 60 mois.

La moyenne de survie de ces patients est donc de 24,6 mois. On observe 33 % de survivants à 2 ans, 17 % à 4 ans et 8% à 5 ans. Ce groupe de tumeurs d'évolution maligne comporte 4 femmes (moyenne de survie de 25,3 mois) et 8 hommes (moyenne de survie de 16,5 mois).

Quarante deux patients ont eu une évolution clinique favorable de leur tumeur digestive. Cependant, quatre patients sont décédés d'une autre pathologie sans relation apparente avec la lésion digestive : sarcome utérin (observation n°5), syndrome démentiel avec dénutrition (observation n° 17), œdème aigu du poumon (observation n°19), infarctus du myocarde (observation n°26).

Tableau n°10 : Les caractéristiques anatomo-cliniques des 62 tumeurs stromales gastro-intestinales

Cas n°	Sexe	Age	Mode de découverte	Date de la 1ère intervention	Localisation tumorale	Traitement	Evolution clinique
1	F	76	Hémorragies digestives distillantes	14.10.1983	Duodénum	Duodéno-pancréatectomie céphalique – ***R. L.***	**R-M** à 25 mois, **C** à 36 mois, **DSM** à 37 mois
2	F	65	Hémorragies digestives	03.01.1986	Estomac	Gastrectomie atypique ***R.loc.***	**VSR** à 15 ans
3	F	53	Echographie systématique	17.06.1986	Duodénum	Duodéno-pancréatectomie céphalique – ***R.L.***	**VSR** à 14,5 ans
4	F	60	Anémie Hémorragies digestives	17.09.1986	Estomac	Gastrectomie totale ***R.L.***	**DPO** à 6 jours
5	F	88	Chirurgie pour récidive du sarcome utérin	31.10.1986	Rectum	Résection rectale segmentaire ***R.L.***	**DAC** à 16 mois
6	F	47	Anémie Méléna	01.12.1986	Estomac	Gastrectomie atypique ***R.loc.***	**VSR** à 14 ans
7	F	64	Gêne thoracique haute Dysphagie aux solides	30.06.1987	Œsophage	Enucléation par thoracotomie - **R.loc.**	**VSR** à 13,5 ans
8	M	63	Epigastralgies	17.09.1987	Estomac	Gastrectomie des 2/3 ***R.L.***	**VSR** à 13,5 ans
9	M	51	Hémorragies digestives	19.10.1987	Estomac	Gastrectomie totale ***P***	**C** à 13 mois **DAC** à 15 mois
10	M	65	Douleurs abdominales	24.02.1988	Estomac	Gastrectomie totale et splénectomie - **C** ***P***	**DSM** à 3 mois
11	M	76	AEG Anémie	11.03.1988	Mésentère	Résection de la 2e anse jéjunale et de la tumeur ***R.loc.***	**M** à 48 mois, **DSM** : 4,5 ans
12	F	63	Péritonite purulente Perforation tumorale	06.05.1988	Intestin grêle	Résection de la 2e anse grêle - ***R.loc.***	**VSR** à 12,5ans
13	M	83	Dysphagie sévère haute-Tumeur palpable	17.11.1988	Estomac	Gastrectomie élargie à la rate - ***C*** et ***M – P***	**R** à 4 mois **DSM** à 5 mois
14	M	66	Chirurgie pour cancer recto-sigmoïdien	28.10.1989	Estomac	Gastrectomie atypique ***R.loc.***	**VSR** à 2 ans
15	F	82	Hémorragies digestives Epigastralgies	04.12.1989	Estomac	Gastrectomie atypique ***R.loc.***	**VSR** à 11 ans
16	M	58	Inconnue	16.01.1990	Estomac	Gastrectomie atypique – ***R.L.***	**VSR** à 11 ans
17	F	85	Chirurgie pour ADK	27.01.1990	Estomac	Gastrectomie atypique ***R.loc.***	**DAC** à 12 mois
18	M	56	Hémorragies digestives distillantes – Anémie	06.12.1990	Estomac	½ gastrectomie ***R.L.***	**VSR** à 10 ans
19	M	77	Régurgitations Gène post prandiale	19.07.1991	Estomac	Gastrectomie des 2/3 ***R.L.***	**DAC** à 24 mois
20	M	42	Prélèvement multi-organes	30.12.1991	Estomac	Enucléation ***R.loc.***	**DAC** : PMO
21	M	82	Syndrome occlusif Anémie	28.02.1992	Estomac	Gastrectomie élargie au pancréas et à la rate, **C** – ***P***	**DSM** à 4 mois
22	M	66	Epigastralgies Méléna	28.02.1992	Estomac	Gastrectomie atypique ***R.loc.***	**VSR** à 9 ans
23	F	64	Rectorragies Méléna	17.04.1992	Intestin grêle	Résection segmentaire d'intestin grêle, **M- *P***	**DSM** à 10 mois

Cas n°	Sexe	Age	Mode de découverte	Date de la 1ère intervention	Localisation tumorale	Traitement	Evolution clinique
24	M	56	Epigastralgies	02.02.1993	Estomac	Gastrectomie partielle ***R.L.***	**R, M** à 16 mois **DSM** à 24 mois
25	M	35	Malaise – Méléna	03.07.1992	Duodénum	Résection duodénale et de la 1ère anse grêle - ***R.L.***	**VSR** à 5 ans
26	M	86	Méléna	10.12.1993	Estomac	Enucléation - ***R.loc***	**DAC** à 21 mois
27	F	78	Echographie de contrôle	31.01.1994	Estomac	Gastrectomie atypique ***R.L.***	**VSR** à 7 ans
28	F	76	Rétablissement de continuité digestive	27.05.1994	Intestin grêle	Résection segmentaire de grêle ***R.loc.***	Suivi non réalisable
29	M	72	Douleurs abdominales Rectorragies	17.08.1994	Estomac	Gastrectomie atypique ***R.loc.***	**VSR** à 6,5 ans
30	M	50	Méléna Malaise	29.01.1994	Estomac	Gastrectomie atypique ***R.loc.***	**VSR** à 6 ans
31	M	70	Bilan d'angiocholite récente	28.09.1994	Estomac	Résection par cœlioscopie ***R.loc.***	**VSR** à 6 ans
32	F	75	Anémie	15.11.1994	Estomac	Gastrectomie des 4/5 élargie et curage -***R.L.***	**VSR** à 6 ans
33	F	17	Hémorragies digestives basses – Anémie	07.12.1994	Intestin grêle	Résection segmentaire de grêle et de la tumeur- ***R.L.***	**VSR** à 6 ans
34	F	74	Hémorragies digestives Douleurs abdominales	28.03.1995	Intestin grêle	Résection segmentaire de grêle - ***R.L.***	**VSR** à 1,5 ans
35	M	69	Inconnue	12.05.1995	Estomac	Gastrectomie atypique ***R.loc.***	**VSR** à 5,5 ans
36	M	69	Hématémèse Méléna – Anémie	03.07.1995	Estomac	Gastrectomie partielle distale - ***R.L.***	**VSR** à 5,5 ans
37	M	74	AEG – Méléna Hématémèse	06.07.1995	Duodénum	Duodéno-pancréatectomie céphalique - ***R.L.***	**DPO** à 9 jours
38	M	52	Douleurs abdominales Hémorragies digestives	09.10.1995	Estomac	Gastrectomie partielle atypique - ***R.L.***	**VSR** à 5 ans
39	M	81	Hémorragies digestives	08.02.1991	Estomac	Gastrectomie partielle ***R.L.***	**R, M** à 48 mois **DSM** à 5 ans
40	F	43	Gastroscopie pour antécédent d'ulcère	02.05.1996	Œsophage	Enucléation par thoracotomie ***R.loc.***	**VSR** à 4,5 ans
41	M	80	Hématémèse Méléna	08.11.1996	Estomac	Enucléation ***R.loc.***	**VSR** à 4 ans
42	F	77	Douleurs abdominales	29.01.1997	Estomac	Gastrectomie atypique ***R.loc.***	**VSR** à 4 ans
43	F	63	Douleurs abdominales	11.04.1997	Estomac	Résection par cœlioscopie - ***R.loc.***	**VSR** à 3,75 ans
44	F	68	Douleurs abdominales Tumeur palpable	08.07.1997	Estomac	Gastrectomie totale et curage élargi - ***R.L.***	**R** à 3 ans Vivant à 3,5 ans
45	M	56	Chirurgie pour cancer de l'œsophage	25.07.1997	Estomac	Oesogastrectomie et curage- ***R.L.***	**DPO** à J8
46	F	77	Douleurs abdominales Occlusion aiguë du grêle	01.08.1997	Mésentère	Résection de grêle sous cœlioscopie ***R.L.***	**R, C** à 11 mois **DSM** à 12 mois
47	F	62	Anémie Méléna	14.01.1998	Intestin grêle	Résection de la première anse grêle - ***R.loc.***	**VSR** à 3 ans
48	M	74	Inconnu	09.06.1998	Estomac	Gastrectomie atypique ***R.loc.***	**VSR** à 2,5 ans

Cas n°	Sexe	Age	Mode de découverte	Date de la 1ère intervention	Localisation tumorale	Traitement	Evolution clinique
49	M	51	Fistule digestive du grêle	04.08.1998	Intestin grêle	Résection de la 2è anse grêle - ***R.L.***	**VSR** à 2,5 ans
50	M	68	Rectorragies – Anémie Douleurs abdominales	05.11.1998	Intestin grêle	Résection segmentaire courte du jéjunum - ***R.loc.***	**VSR** à 2 ans
51	M	61	Méléna Malaise	12.11.1998	Estomac	Résection par cœlioscopie ***R.loc.***	**VSR** à 2 ans
52	M	38	Hémorragies digestives Méléna Anémie aiguë	23.12.1998	Estomac	Antrectomie atypique ***R.L.***	**VSR** à 2 ans
53	M	71	Hémorragies distillantes	13.02.1999	Estomac	Gastrectomie atypique, ***M – P***	**R, M** à 16 mois **DSM** à 20 mois
54	F	82	Epigastralgies Anémie – Dyspepsie	22.04.1999	Estomac	Résection par cœlioscopie - ***R.loc.***	**VSR** à 20 mois
55	F	65	Douleurs abdominales - Méléna – AEG	15.07.1999	Estomac	Résection par cœlioscopie - ***R.loc.***	**VSR** à 18 mois
56	F	70	Méléna – Anémie	21.07.1999	Estomac	Gastrectomie des 2/3 ***R.L.***	**VSR** à 17 mois
57	M	60	Anémie	04.10.1999	Estomac	Gastrectomie atypique ***R.loc.***	**VSR** à 14 mois
58	F	40	Douleurs abdominales basses	20.10.1999	Epiploon	Omemtectomie partielle - ***R.L.***	**VSR** à 13 mois
59	M	45	Rectorragies – Anémie	13.09.2000	Rectum	Résection segmentaire courte colo-rectale ***R.L***	**VSR** à 2 mois
60	F	84	Méléna	21.09.2000	Estomac	Résection par cœlioscopie - ***R.loc.***	**VSR** à 2 mois
61	M	61	Hémorragies digestives hautes	29.09.2000	Estomac	Gastrectomie atypique ***R.loc.***	**VSR** à 2,5 mois
62	M	64	Surveillance d'une Maladie de Von Recklinghausen	25.10.2000	Intestin grêle	Résection segmentaire de grêle ***R.L.***	**VSR** à 1,5 mois

Abréviations :
AEG : Altération de l'état général
C : Carcinomatose péritonéale
M : Métastases secondaires à la lésion digestive
DAC : décès «autre cause»
PMO : prélèvement multi-organe
R.loc. : Chirurgie radicale locale
ADK : adénocarcinome
R : Récidive de la maladie
MAC : métastases «autre cause»
DPO : Décès post opératoire
R.L : Chirurgie radicale élargie
P : chirurgie palliative.

2.2.2.2. Les caractéristiques macroscopiques et microscopiques :

La taille de la tumeur et les caractéristiques microscopiques des 62 tumeurs gastro-intestinales de notre étude sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau n°11 : Les caractéristiques macroscopiques et microscopiques des 62 tumeurs stromales gastro-intestinales

Cas n°	*Localisation*	*Taille tumorale en cm*	*Compte mitotique (50 champs FG)*	*Type cellulaire*	*Nécrose*	*Pléiomorphisme nucléaire*
1	Duodénum	6	5	E	0	++
2	Estomac	7	9	E	+	+
3	Duodénum	6	0	F	0	+
4	Estomac	5	3	F	0	+
5	Rectum	7	2	F	0	+
6	Estomac	7	4	F	0	0
7	Œsophage	5	5	F	+	0
8	Estomac	6	1	F+E	+	0
9	Estomac	5	30	E	+	+++
10	Estomac	14	36	F+E	+	+++
11	Mésentère	18	12	F	+	++
12	Intestin grêle	15	2	F	+	+
13	Estomac	20	30	F+E	0	+
14	Estomac	4	2	F	0	0
15	Estomac	6	4	F	0	+
16	Estomac	6	1	F	0	++
17	Estomac	5	1	F	0	+
18	Estomac	3	5	E	0	++
19	Estomac	12	1	F	0	+
20	Estomac	4	3	F	0	0
21	Estomac	18	15	F+E	0	++
22	Estomac	5	5	F	0	+
23	Intestin grêle	18	30	E	+	++
24	Estomac	17	50	F	+	+
25	Duodénum	3	4	F	0	+
26	Estomac	4	4	F	+	0
27	Estomac	9	2	F+E	+	+
28	Intestin grêle	2	0	F	0	0
29	Estomac	6	0	F	0	0
30	Estomac	6	0	E	0	0
31	Estomac	5	1	E	0	+
32	Estomac	3	5	E	0	++
33	Intestin grêle	6	4	F	+	+
34	Intestin grêle	5	1	F	+	+
35	Estomac	6	2	F+E	0	+
36	Estomac	3	4	F	0	0
37	Duodénum	8	1	F	0	+
38	Estomac	5	3	F	0	+
39	Estomac	7	28	F	0	+
40	Œsophage	13	0	F	0	+
41	Estomac	2,5	0	E	+	+
42	Estomac	5,5	2	F	+	+
43	Estomac	7	0	F	0	+

Cas n°	*Localisation*	*Taille tumorale en cm*	*Compte mitotique (50 champs FG)*	*Type cellulaire*	*Nécrose*	*Pléiomorphisme nucléaire*
44	Estomac	8	11	F+E	+	++
45	Estomac	2,5	0	F	0	+
46	Mésentère	7	2	E	+	++
47	Intestin grêle	3	0	F	0	+
48	Estomac	1,5	2	F	0	++
49	Intestin grêle	6,5	1	F	0	+
50	Intestin grêle	5,5	1	F	0	++
51	Estomac	5,5	2	F	+	+
52	Estomac	15	1	F+E	+	+
53	Estomac	9	8	F	+	+
54	Estomac	5,5	0	F	0	+
55	Estomac	4	1	F	0	+
56	Estomac	7	3	F	0	+
57	Estomac	5	3	F	0	+
58	Epiploon	3	5	F	+	+
59	Rectum	2,5	2	F	0	+
60	Estomac	3,5	1	F	0	++
61	Estomac	5	4	E	0	+++
62	Intestin grêle	6	1	F	0	++

Abréviations et légende:

FG : fort grossissement(x 400)
E : épithélioïde
Absence de nécrose : 0
Pléiomorphisme absent : 0
Pléiomorphisme modéré : ++
F : fusiforme
F+ E : fusiforme + épithélioïde
Présence de nécrose : +
Pléiomorphisme discret : +
Pléiomorphisme important : +++

❖ La taille de la tumeur :

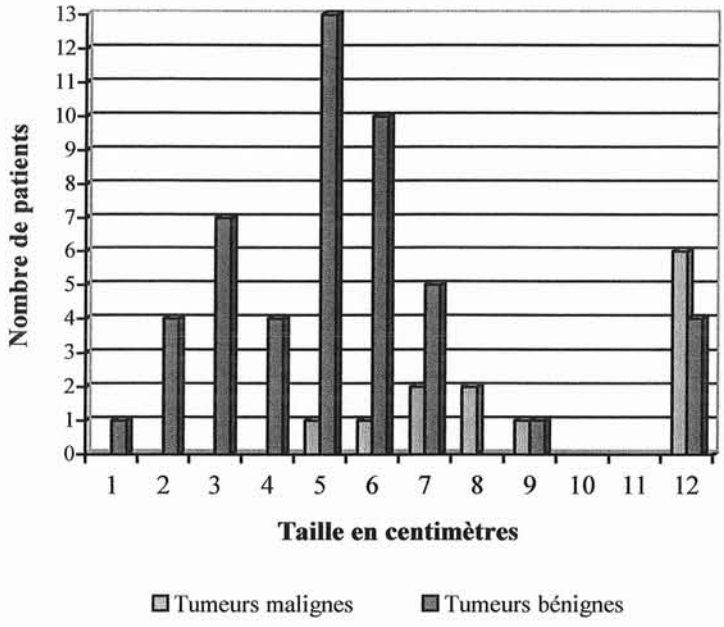
La plus grande dimension des tumeurs stromales variait de 1,5 à 20 cm avec un diamètre moyen de 6,9 cm. La taille tumorale était variable en fonction de la localisation de la lésion sur le tube digestif : les tumeurs les plus volumineuses étaient retrouvées dans le mésentère et les plus petites dans le rectum et l'épiploon. Ces lésions de petite taille ont été découvertes au cours d'une intervention chirurgicale pour une autre affection ou recherchées à l'occasion de rectorragies (**Tableau n°12**).

Tableau n°12 : La répartition des tumeurs stromales gastro-intestinales en fonction de leur taille

Localisation dans le tube digestif	*Taille moyenne des lésions*
Œsophage	9 cm
Estomac	6 cm
Intestin grêle	7,5 cm
Duodénum	5,75 cm
Rectum	4,75 cm
Mésentère	12,5 cm
Epiploon	3 cm

La taille était également très différente en fonction de l'évolution clinique : la taille moyenne des tumeurs d'évolution maligne était de 12,15 cm avec alors celle des tumeurs d'évolution bénigne n'était que de 5,6 cm (**Graphique n°5**).

Graphique n°5 : La taille tumorale en fonction de l'évolution maligne ou bénigne



❖ **Les aspects microscopiques :**

♦ ***L'aspect histologique général et le type cellulaire :***

Les tumeurs analysées lors de notre étude sont essentiellement constituées de cellules fusiformes (69,35 %). Les cellules épithélioïdes sont observées dans 11 cas (17,75 %). L'association de ces deux types cellulaires est retrouvée dans 8 cas (12,90 %). L'architecture des tumeurs à cellules fusiformes est le plus souvent fasciculée, plus rarement storiforme avec parfois des aspects palissadiques. Les tumeurs à cellules épithélioïdes ont une architecture compacte parfois en petits amas. Les tumeurs associant les 2 types cellulaires sont souvent composées de faisceaux de cellules fusiformes juxtaposées ou mêlées à des amas de cellules épithélioïdes.

Les tumeurs à cellules fusiformes se répartissent par ordre de fréquence décroissante dans :

⇨ l'œsophage (100 %)

⇨ le rectum (100 %)

⇨ l'intestin grêle (88,8 %)

⇨ le duodénum (75 %)

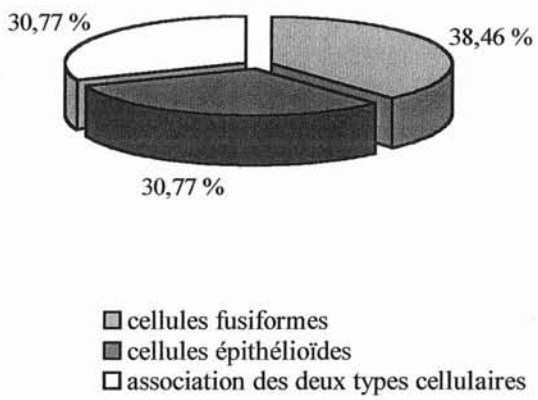
⇨ le mésentère et l'épiploon (66 %)

⇨ l'estomac (61,9 %)

Par contre, les tumeurs à cellules épithélioïdes prédominent dans l'estomac (19,05 %) ; il en est de même pour les tumeurs constituées d'une association de cellules fusiformes et épithélioïdes (19,05 %).

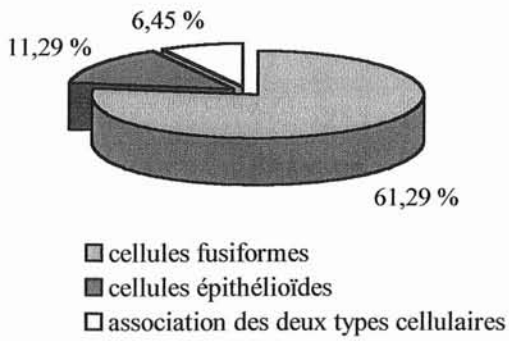
Aucun type cellulaire ne prédomine dans les tumeurs malignes (**Graphique n°6**). Elles sont constituées de cellules fusiformes dans 5 cas (38,46 %), de cellules épithélioïdes dans 4 cas (30,77 %) et d'une association de ces deux types cellulaires dans 4 cas (30,77 %)

Graphique n°6 : Le type cellulaire dans les tumeurs malignes



En revanche dans les tumeurs bénignes, les tumeurs à cellules fusiformes sont majoritaires (38 tumeurs soit 61,29 %). Une minorité de lésions est constituée de cellules épithélioïdes (7 tumeurs soit 11,29 %) ou de l'association des deux types cellulaires (4 tumeurs soit 6,45 %) (**Graphique n°7**).

Graphique n°7 : Le type cellulaire des tumeurs bénignes



- ***La nécrose :***

Certaines tumeurs (21 lésions soit 33,87 %) contenaient des foyers de nécrose de coagulation macroscopiques ou microscopiques. Cette nécrose était observée dans 8 tumeurs malignes (61,54 %) et dans 13 tumeurs bénignes (26,53 %).

- ***Le pléiomorphisme des cellules tumorales :***

Dans la majorité des tumeurs, le pléiomorphisme cellulaire est discret (58,06 %). Puis, il est par ordre de fréquence décroissante : modéré (20,97 %), absent (16,13 %) et rarement important (4,84 %).

Dans les tumeurs malignes, le pléiomorphisme cellulaire est, par contre, le plus souvent modéré ou important (8 tumeurs soit 61,54 %) et discret (5 tumeurs soit 38,46 %). En revanche, dans les tumeurs bénignes, il est discret dans 31 lésions (63,27 %), absent dans 10 (20,40 %), important ou modéré dans 8 (16,33 %).

- ***Le compte des mitoses :***

Le compte des mitoses des tumeurs de notre étude évalué sur 50 champs au fort grossissement (x 400) varie de 0 à 50 avec une valeur moyenne de 6.

Les tumeurs bénignes ont un indice mitotique presque toujours inférieur à 6 ; la tumeur du patient n° 2 a toutefois un compte de mitoses à 9. En revanche, les tumeurs malignes ont, en majorité, un indice mitotique élevé, supérieur à 8. Cependant, deux cas de tumeurs malignes de

siège duodénal (observations n° 1 et 37) et un cas de siège mésentérique (observation n°46) ont un compte de mitoses bas, inférieur ou égal à 5 (**Tableau n°13**).

Tableau n°13 : Le compte des mitoses en fonction de la malignité et de la localisation des tumeurs dans le tube digestif.

		C.M. ≤ 5 / 50 champs F.G		C.M. > 5 / 50 champs F.G	
	N	T.B.	T.M.	T.B.	T.M.
Oesophage	2	2	0	0	0
Estomac	42	33	0	1	8
Duodénum	4	2	2	0	
Intestin grêle	9	8	0	0	1
Rectum	2	2	0	0	
Mésentère	2	0	1	0	1
Epiploon	1	1	0	0	0

Abréviations :
n : nombre de tumeurs C.M. : Compte Mitotique F.G. : fort grossissement
T.B. : Tumeurs bénignes T.M. : tumeurs malignes

❖ **La classification des tumeurs selon les critères d'Amin et collaborateurs :**

Nous avons classé les tumeurs de notre série en fonction des critères d'Amin et collaborateurs décrits dans le **tableau n°4, paragraphe 1.2.6.2** :

⇨ 25 tumeurs bénignes,

⇨ 26 tumeurs de malignité incertaine (borderline),

⇨ 11 tumeurs malignes (**Tableau n°14**).

Tableau n°14 : La classification des tumeurs stromales gastro-intestinales selon les critères d'Amin et collaborateurs (4)

Cas n°	*Classification selon Amin et al*	*Evolution clinique*
1	Borderline	Maligne
2	Maligne	Bénigne
3	Borderline	Bénigne
4	Bénigne	Bénigne
5	Borderline	Bénigne
6	Borderline	Bénigne
7	Bénigne	Bénigne
8	Borderline	Bénigne
9	Maligne	Maligne
10	Maligne	Maligne
11	Maligne	Maligne
12	Borderline	Bénigne
13	Maligne	Maligne
14	Bénigne	Bénigne
15	Borderline	Bénigne
16	Borderline	Bénigne
17	Bénigne	Bénigne
18	Bénigne	Bénigne
19	Borderline	Bénigne
20	Bénigne	Bénigne
21	Maligne	Maligne
22	Bénigne	Bénigne
23	Maligne	Maligne
24	Maligne	Maligne
25	Bénigne	Bénigne
26	Bénigne	Bénigne
27	Borderline	Bénigne
28	Bénigne	Bénigne
29	Borderline	Bénigne
30	Borderline	Bénigne
31	Bénigne	Bénigne
32	Bénigne	Bénigne
33	Borderline	Bénigne
34	Bénigne	Bénigne
35	Borderline	Bénigne
36	Bénigne	Bénigne
37	Borderline	Maligne
38	Bénigne	Bénigne
39	Maligne	Maligne
40	Borderline	Bénigne
41	Bénigne	Bénigne
42	Borderline	Bénigne
43	Borderline	Bénigne
44	Malin	Maligne
45	Bénigne	Bénigne
46	Borderline	Maligne
47	Bénigne	Bénigne
48	Bénigne	Bénigne
49	Borderline	Bénigne
50	Borderline	Bénigne
51	Borderline	Bénigne
52	Borderline	Bénigne
53	Maligne	Maligne
54	Borderline	Bénigne
55	Bénigne	Bénigne
56	Borderline	Bénigne
57	Bénigne	Bénigne
58	Bénigne	Bénigne
59	Bénigne	Bénigne
60	Bénigne	Bénigne
61	Bénigne	Bénigne
62	Borderline	Bénigne

En comparant ces résultats à l'évolution clinique, on constate que :

⇨ les 25 tumeurs classées comme bénignes n'ont pas eu d'évolution clinique péjorative avec un recul allant de 2,5 mois à 13,5 ans ;

⇨ parmi les 26 tumeurs classées «borderline», 23 ont eu une évolution clinique favorable. Les trois autres ont eu une évolution clinique péjorative :

- patient n°1 : récidive loco-régionale et métastases à 25 mois, carcinomatose péritonéale à 36 mois et décès secondaire à la pathologie digestive à 37 mois;
- patient n° 37 : décès post opératoire à J9 avec métastases mésentériques au moment de l'intervention ;
- patient n° 46 : récidive loco-régionale et carcinomatose péritonéale à 11 mois, décès secondaire au néoplasme à 12 mois.

⇨ et que parmi les 11 tumeurs malignes : 10 ont eu une évolution péjorative avec la survenue soit d'une récidive loco-régionale soit de métastases ou du décès secondaire à l'évolution prévisible de la tumeur ; la tumeur du patient n°2 a eu une évolution clinique favorable avec un recul de 15 ans.

❖ **La différenciation des cellules tumorales (Tableau n°15) :**

♦ ***L'étude immunohistochimique :***

❑ *Méthode immunohistochimique en trois couches faisant appel au couple streptavidine-biotine :*

Dans cette étude immunohistochimique, aucune tumeur n'exprime la chromogranine.
50 tumeurs (80,65 %) expriment le c-kit et 12 (19,35 %) ne l'expriment pas.

✓ Parmi les 12 tumeurs dont les cellules ne sont pas marquées par l'anticorps anti c-kit, on retrouve :

⇨ six tumeurs qui expriment au moins un marqueur musculaire lisse : l'actine musculaire lisse est exprimée dans tous les cas (100 %) et dans un cas uniquement (cas n°9), de manière focale. L'expression de l'actine musculaire lisse est associée à celle de la desmine dans 5 cas (83,3 %) et dans 3 cas à celle de l'HHF35 (50 %). L'association des trois marqueurs musculaires est observée dans 3 tumeurs (cas n°**28-29-40**) (**Planche photographique n°5 , photos B - C - D**).

Ces lésions sont essentiellement composées de cellules fusiformes (observations n°**5-28-29-40-45**) et ont eu une évolution bénigne (**Planche photographique n°5 , photo A**). La tumeur du patient n°**9** est constituée de cellules épithélioïdes et a eu une évolution maligne.

⇨ deux tumeurs qui expriment la PS100 associée à la vimentine et à la NSE (**Planche photographique n°6 , photos E - F**). Ces deux lésions (observations n°**16** et **52**) sont

marquées intensément par l'anticorps anti PS100 et sont composées respectivement de cellules fusiformes et d'une association de cellules fusiformes et de cellules épithélioïdes (**Planche photographique n°6, photos A - B - C - D**). Leur évolution est bénigne (recul de 11 ans et 2 ans).

⇨ quatre tumeurs ne montrent pas de différenciation (observations n°**10-17-41-49**). Elles expriment plus ou moins intensément la vimentine dans tous les cas (100 %) associées dans deux cas au CD34 (50%). Ces lésions sont composées soit de cellules fusiformes (2 cas), soit de cellules épithélioïdes (1 cas) ou d'une association des deux types cellulaires (1 cas).

✓ Parmi les 50 tumeurs qui expriment le c-kit :

⇨ vingt quatre lésions (48 %) n'expriment aucun marqueur musculaire ni nerveux (**Planche photographique n°7, photos F - G - H**) :

- 14 expriment la vimentine et le CD34 (58,33%) plus ou moins la NSE : observations n°**6-19-21-25-27-30-34-36-39-43-44-48-54-55**;
- 7 expriment seulement le CD34 (29,16 %) : observations n°**1-14-15-31-33-35-56** ;
- 2 expriment seulement la NSE (8,34 %) : observations n°**13-32** ;
- 1 exprime la vimentine et la NSE (4,17 %) : observation n°**23**.

⇨ vingt quatre tumeurs (48 %) expriment au moins un marqueur musculaire lisse :

- les 24 lésions expriment l'actine musculaire lisse (100%) : observations n°**2-3-4-7-8-11-12-18-20-22-24-26-38-42-46-47-50-51-53-57-58-59-60-61** ; dans 2 tumeurs (observations n°**22** et **46**) l'expression cellulaire de cet anticorps est focale ;
- 5 tumeurs expriment 2 marqueurs musculaire lisse (20,83 %):
  - dans 4 cas (observations n°**8-53-58-61**), l'actine musculaire lisse est co-exprimée avec la desmine ; le marquage de cette dernière étant focale ;
  - dans 1 cas (observation n°**11**), l'actine musculaire lisse est co-exprimée avec l'HHF35 ;

⇨ deux tumeurs (4 %) coexpriment un marqueur musculaire lisse (actine musculaire lisse) et un marqueur nerveux (observations n°**37-62**). Dans une de ces tumeurs l'expression cellulaire de l'actine musculaire lisse est focale (observation n°**37**).

Ces tumeurs qui sont marquées par l'anticorps anti c-kit sont composées soit de cellules fusiformes, soit de cellules épithélioides soit d'une association de ces deux types cellulaires (**Planche photographique n°7, photos A - B - C - D**). Parfois, un pléiomorphisme marqué et de nombreuses mitoses sont observées dans les tumeurs d'évolution maligne (**Planche photographique n°7, photos E**).

- *Méthode immunohistochimique en trois couches faisant appel au couple streptavidine-biotine avec amplification des réactions immunologiques par dépôt catalytique de dérivés de tyramide aux sites de la réaction :*

Après amplification, seules deux tumeurs ont montré un changement du signal avec l'anticorps anti actine musculaire lisse :

⇨ observation n°9 : l'intensité du signal ainsi que le nombre de cellules marquées est augmenté ;

⇨ observation n°56 : apparition d'un marquage focal, d'intensité modéré, d'un petit groupe de cellules tumorales.

Les autres anticorps (desmine, HHF35, PS100) n'ont pas montré de variation ni dans l'intensité de signal, ni dans le nombre de cellules marquées.

- ***L'étude ultrastructurale :***

Trente cinq tumeurs de notre série ont fait l'objet d'une étude ultrastructurale (56,45 %).
Pour 4 d'entre elles (observations n°**9-10-12-53**), cet examen n'a pas été contributif du fait d'une autolyse trop importante liée à un retard de fixation et de phénomènes de nécrose.

✓ Des caractères de différenciation musculaire lisse le plus souvent discret ont été retrouvés dans 25 cas :

⇨ dans 13 cas, l'étude ultrastructurale a permis de confirmer la différenciation musculaire lisse mise en évidence en immunohistochimie : observations n°**8-11-18-20-38-42-50-51-53-57-59-60-61** ;

⇨ dans 12 cas de tumeurs indifférenciées en immunohistochimie, une différenciation musculaire lisse est observée : observations n°**14-19-23-27-30-32-33-34-35-36-39-41** ;

✓ Dans un cas (observation n°**62**) d'immunophénotype mixte (musculaire lisse et nerveux), seuls les caractères musculaire lisse sont présents en microscopie électronique.

✓ La lésion du patient n°**13** s'est révélée être une tumeur issue du système nerveux autonome en ultrastructure (**Planche photographique n°8 , photos A - B - C - D - E - F**).

✓ Trois lésions sont indifférenciées (observations n°**44-49-56**) en microscopie électronique.

Tableau n°15 : Les caractéristiques immunohistochimiques et ultrastructurales des 62 tumeurs stromales gastro-intestinales

	Immunohistochimie									Ultrastructure		
Cas n°	*Desm*	*AML*	*HHF35*	*Vim*	*CD34*	*PS100*	*NSE*	*GCA*	*c-kit*	*# ML*	*# Sch*	*Autre*
1	-	-	-	-	+	-	-	-	++			
2	-	+	-	++	-	-	++	-	+focale			
3	-	+++	-	-	+	-	-	-	++			
4	-	+	-	+	+++	-	++	-	+++			
5	+focale	++	-	-	-	-	-	-	-			
6	-	-	-	++	+++	-	-	-	++			
7	-	+	-	-	+++	-	-	-	+++			
8	+focale	+++	-	+	+	-	-	-	+	+		
9	-	+focale	-	-	-	-	-	-	-			NC
10	-	-	-	+	-	-	-	-	-			NC
11	-	++	+	++	-	-	+	-	++	+		
12	-	+	-	+	+++	-	-	-	++			NC
13	-	-	-	-	-	-	+	-	++			GANT
14	-	-	-	-	++	-	-	-	+++	+		
15	-	-	-	-	+++	-	+	-	+++			
16	-	-	-	++	-	+++	+	-	-		+	
17	-	-	-	+focale	+	-	-	-	-			
18	-	+	-	++	-	-	-	-	+	+		
19	-	-	-	+	++	-	++	-	+++	+		
20	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+++		
21	-	-	-	+	+++	-	+	-	+++			
22	-	+focale	-	-	+++	-	+	-	+++			
23	-	-	-	+	-	-	+	-	+++	+		
24	-	+	-	+	+++	-	-	-	+++			
25	-	-	-	+focale	+++	-	+	-	+++			
26	-	+	-	+	+++	-	+focale	-	+			
27	-	-	-	++	++	-	-	-	++	+		
28	+++	++	+	-	-	-	-	-	-			
29	+++	++	+	-	-	-	-	-	-			
30	-	-	-	++	++	-	-	-	+	+		
31	-	-	-	-	+	-	-	-	+			
32	-	-	-	-	-	-	+focale	-	+++	+		
33	-	-	-	-	+	-	-	-	+	++		
34	-	-	-	++	+	-	-	-	++	+++		
35	-	-	-	-	+++	-	-	-	+	+		
36	-	-	-	+	+++	-	-	-	++	+		
37	-	+focale	-	++	-	+	+focale	-	++			
38	-	+	-	+++	+++	-	-	-	++	+		
39	-	-	-	+	+++	-	-	-	+++	+		
40	+++	++	+++	-	-	-	-	-	-			
41	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+		
42	-	+	-	++	++	-	+	-	++	+		
43	-	-	-	+++	+++	-	++	-	+++			
44	-	-	-	+++	+++	-	+++	-	++			in#
45	+++	++	-	-	-	-	-	-	-			
46	-	+focale	-	-	-	-	+	-	+++			
47	-	++	-	+	-	-	-	-	+++			
48	-	-	-	+++	++	-	-	-	++			
49	-	-	-	+++	-	-	-	-	-			in#
50	-	+	-	+++	-	-	-	-	+++	+		
51	-	+	-	+++	+++	-	+	-	+++	+		

Cas n°	*Desm*	*AML*	*HHF35*	*Vim*	*CD34*	*PS100*	*NSE*	*GCA*	*c-kit*	*# ML*	*# Sch*	*Autre*
52	-	-	-	+++	-	+++	++	-	-		+	
53	+focale	+++	-	+++	-	-	-	-	+			NC
54	-	-	-	+	+	-	-	-	++			
55	-	-	-	+++	+	-	++	-	++			
56	-	-	-	-	++	-	+	-	+++			in#
57	-	+	-	++	+++	-	-	-	++	+		
58	+focale	+++	-	+	++	-	+	-	+++			
59	-	+	-	+++	+++	-	-	-	++	+		
60	-	+++	-	+++	+++	-	-	-	+++	+		
61	+focale	+	-	+++	-	-	-	-	++	+		
62	-	++	-	+++	+++	+	++	-	+++	+		

Légendes :
+ : moins de 25% de cellules marquées
++ : 25 à 75 % de cellules marquées
+++ : plus de 75 % de cellules marquées.
+ focale : positivité focale
NC : non contributif
in# : indifférenciée

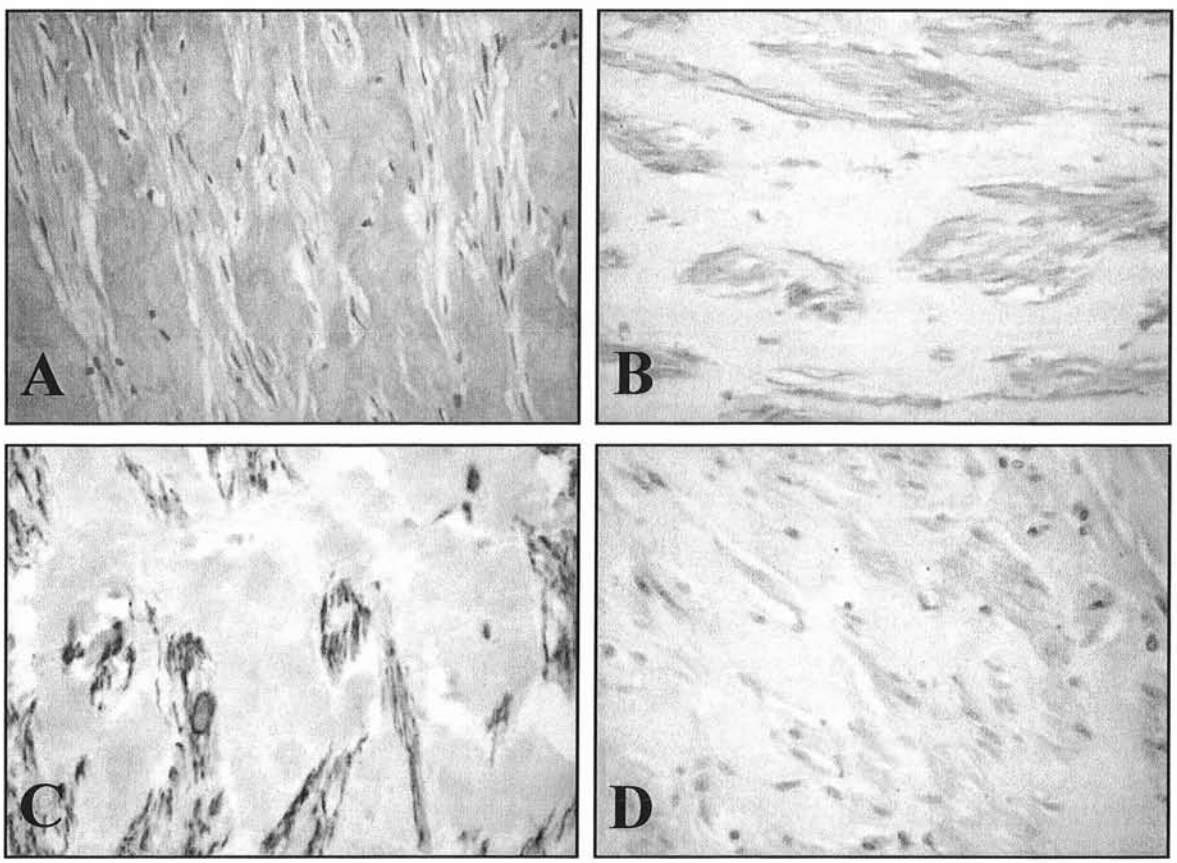


Planche photographique n°5 :
Le léiomyome digestif

A : Aspect morphologique (H.E.S x200)
B : Immunomarquage par l'anticorps anti actine musculaire lisse (x200)
C : Immunomarquage par l'anticorps anti desmine (x 200)
D : Immunomarquage par l'anticorps anti HHF35 (x200)

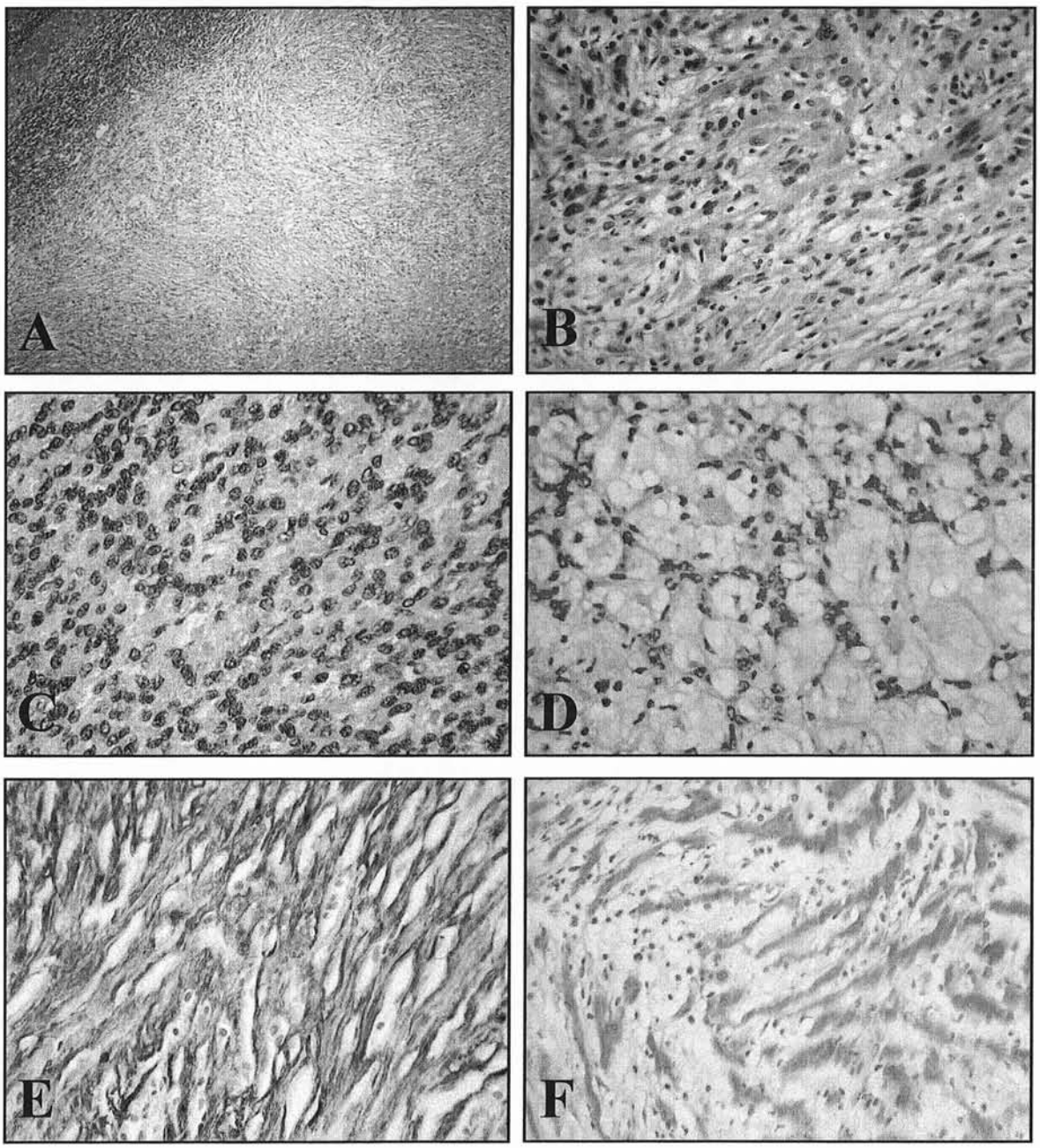


Planche photographique n°6 :
Le schwannome digestif

A : Liseré lymphoïde en périphérie de la tumeur (H.E.S x40)
B : Pléomorphisme nucléaire parfois marqué (H.E.S x200)
C : Zone cellulaire (H.E.S x200)
D : Zone myxoïde (H.E.S x200)
E : Immunomarquage par l'anticorps anti PS100 (x200)
F : Immunomarquage par l'anticorps anti NSE (x200)

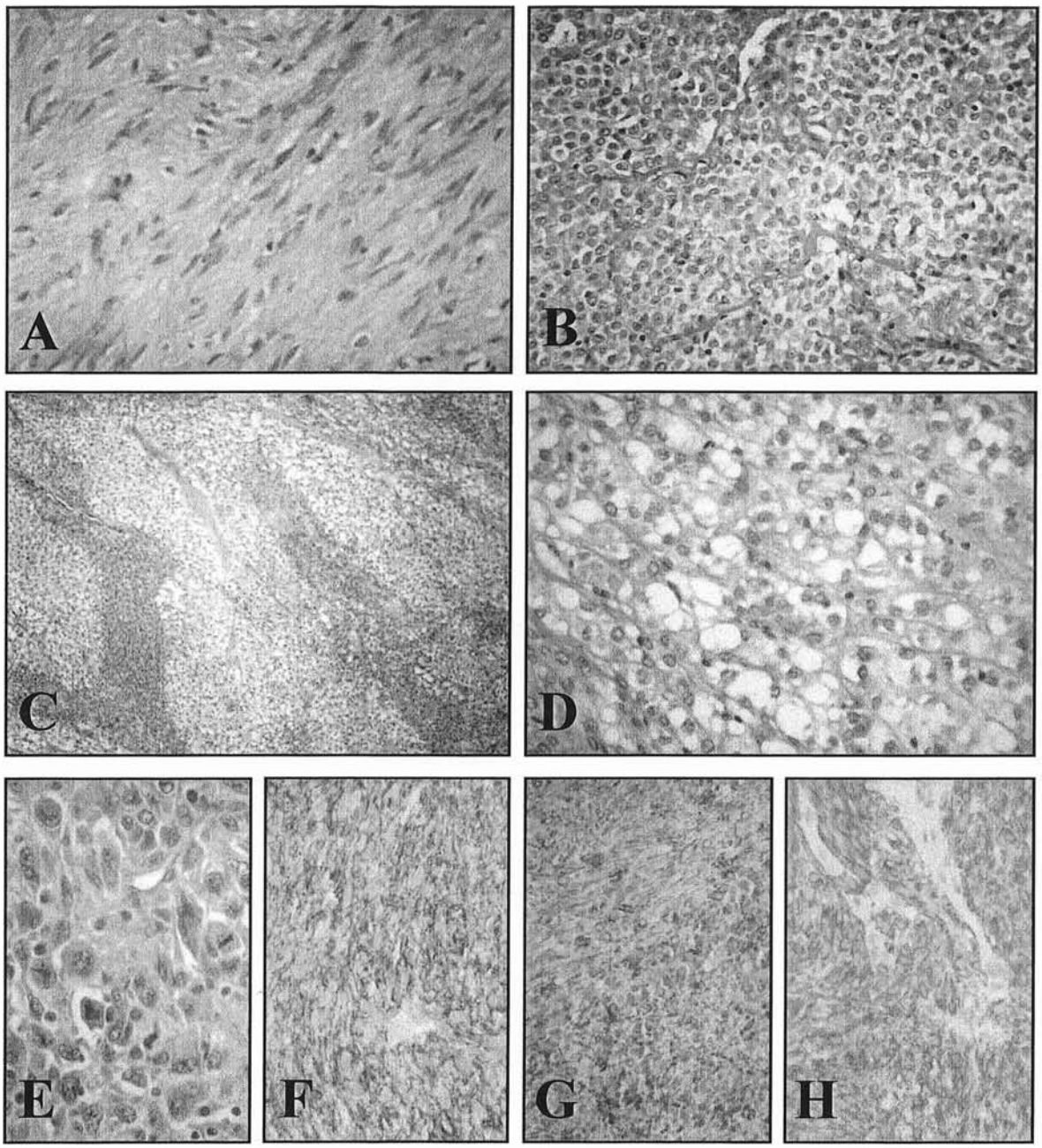


Planche photographique n°7 :
Quelques aspects morphologiques et immunohistochimiques des tumeurs stromales

A : Tumeur stromale à cellules fusiformes (H.E.S x200)
B : Tumeur stromale à cellules épithélioïdes (H.E.S x200)
C : Tumeur stromale à cellules fusiformes et à cellules épithélioïdes (H.E.S x200)
D : Pseudo-vacuoles au niveau de cellules d'une tumeur stromale secondaires à la fixation formolée (H.E.S x200)
E : Pléiomorphisme nucléaire important et nombreuses mitoses dans une tumeur stromale maligne (H.E.S x200)
F - G - H : Immunomarquage par les anticorps anti CD34, anti vimentine et anti c-kit (x200)

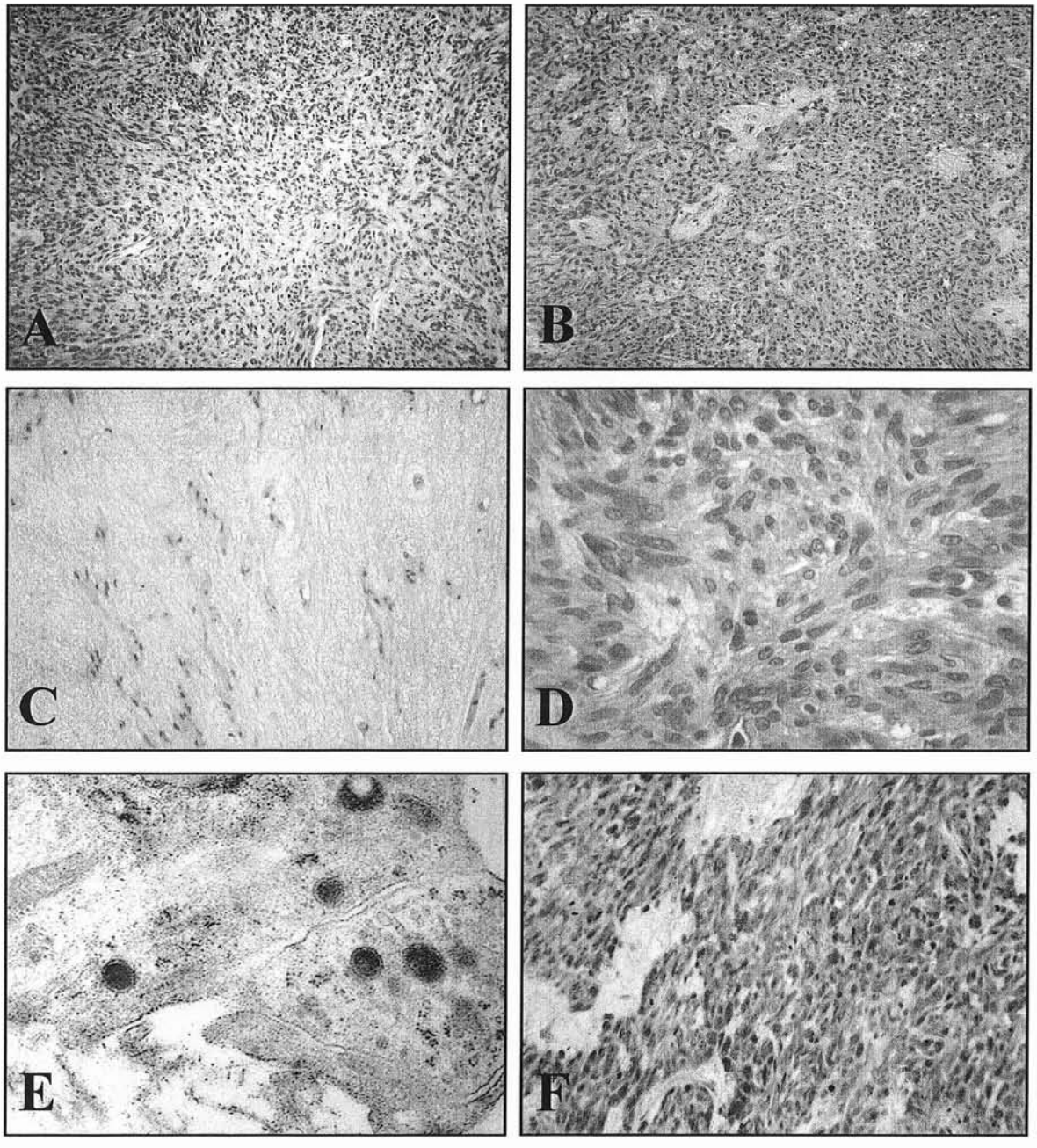


Planche photographique n°8 :
Tumeur stromale issue du système nerveux autonome gastro-intestinal (GANT)

A - B - C : Cellularité variable selon les champs examinés (H.E.S x100)
D: Pléiomorphisme nucléaire discret. Présence de quelqes mitoses (H.E.S x400)
E : Aspect évocateur d'une synapse et grains neurosécrètoires (x15500)
F : Immunomarquage intense par l'anticorps anti c-kit (x200)

TROISIEME PARTIE :

Discussion

3.1. LES CARACTERISTIQUES CLINIQUES ET ANATOMO-PATHOLOGIQUES DES TUMEURS STROMALES DE NOTRE SERIE:

Les caractéristiques cliniques des patients de notre série étaient superposables à celles d'autres études publiées dans la littérature médicale. Les patients étaient âgés de 17 à 88 ans et il existait une discrète prépondérante masculine (sex ratio : 1,3), rapportée dans d'autres séries (7, 60). L'âge moyen au moment du diagnostic était de 65 ans. Il était plus élevé que dans la plupart des autres études : 51,2 ans dans la série de Ueyama (128), 57 ans dans celle de Kindblom (54), 56 ans pour celle de Tazawa (120). La moyenne d'âge de nos patients de sexe féminin (66,6 ans) était supérieure à celle de nos patients de sexe masculin (63,7 ans). Comme dans la littérature, l'atteinte du sujet de moins de 20 ans reste rare (notre patient le plus jeune avait 17 ans). Nous avons retrouvé, dans une de nos observations, l'existence de tumeurs stromales multiples. Ce patient était porteur d'une maladie de Von Recklinghausen comme cela a été rapporté dans quelques études (39, 111).

Les tumeurs stromales de notre série existaient sur toute la longueur du tube digestif avec, cependant, une localisation préférentielle dans l'estomac et l'intestin ce qui concorde avec les données de la littérature (7, 26, 54, 60, 114, 120). L'œsophage était peu touché (79) ainsi que la rectum (43). Aucune des tumeurs de notre série n'était localisée dans le colon où ces lésions sont peu fréquentes (81). En revanche, nous avons observé quelques lésions dans le mésentère et l'épiploon qui sont deux localisations rarement rapportées (26, 77). Les tumeurs d'évolution maligne de notre série étaient également préférentiellement localisées dans l'estomac et l'intestin grêle (120), mais aussi dans le mésentère. En revanche, aucune ne siégeait dans l'épiploon comme le rapportait Miettinen (77).

Comme dans la plupart des études (9, 61), les manifestations hémorragiques aiguës ou chroniques constituaient le signe d'appel clinique principal chez de nombreux patients de notre série. Elles s'accompagnaient parfois de douleurs abdominales qui pouvaient être par ailleurs le seul symptôme présent. Cependant, une proportion non négligeable de ces tumeurs stromales (16 % dans notre étude) était découverte de façon fortuite au cours d'une intervention chirurgicale pour une autre pathologie ou lors d'un examen morphologique (15 % pour la série de Barrier (9)). D'autres signes tels qu'une altération de l'état général, un syndrome obstructif, une perforation étaient plus rarement retrouvés.

Tous nos patients ont bénéficiés, en première intention, d'une résection chirurgicale plus ou moins large et plus ou moins complète de leur tumeur. Son étendue était fonction du siège de la lésion, de sa taille, de l'existence éventuelle d'une invasion des organes de voisinage et/ou de la présence de métastases.

La chirurgie palliative (9,7 % dans notre étude) a été réalisée pour des tumeurs volumineuses (moyenne de 14 cm dans notre série,) qui s'accompagnaient, le plus souvent, au moment du diagnostic de métastases hépatiques et/ou d'une extension péritonéale.

Une résection complète à visée curatrice a été possible dans 90,3 % des cas de notre série (97 % pour celle de Barrier (9), 86 % pour celle de De Matteo (26)). Elle a été réalisée par excision large dans 48,2 % ou par excision locale dans 51,8 % des cas. La taille moyenne des tumeurs ayant bénéficié de ces deux types d'intervention chirurgicale était sensiblement les mêmes (respectivement 5,9 cm et 6,5 cm). Dans quelques études, il a été rapporté que la survie était indépendante du type de résection curatrice (9), seule une résection tumorale complète est rapportée comme étant un bon facteur pronostique (9, 26).

Sept de nos patients ont pu bénéficier d'une exérèse par cœlioscopie. Cette technique encore peu répandue pour ce type de tumeurs (9, 26) a été réalisée pour des lésions de petite taille (taille moyenne de 4,5 cm) de siège gastrique, intestinale grêle ou mésentérique.

Le curage ganglionnaire préconisé par certains, n'a toujours pas prouvé son efficacité sur la survie (9). En effet, ces métastases ganglionnaires sont des événements rares, rapportés dans 2 % à 16 % des tumeurs malignes (26). Nous n'avons qu' une observation qui s'accompagnait de métastases ganglionnaires dans notre groupe de tumeurs malignes (7,7 %). Les curages effectués chez trois autres de nos patients avaient été motivés par des diagnostics pré-opératoires d'une autre variété de tumeurs malignes (adénocarcinome gastrique, léiomyosarcome gastrique, carcinome épidermoïde œsophagien).

Bien que l'évolution des tumeurs stromales malignes soit le plus souvent fatale, des survies prolongées après récidive ou métastases sont parfois rapportées dans la littérature (9, 98). Les tumeurs malignes de notre série comportaient parfois au moment du diagnostic initial soit un envahissement des organes de voisinage (23 %), soit des métastases hépatiques et/ou une extension péritonéale (46 %). L'évolution clinique était, par ailleurs, fréquemment caractérisée par une récidive loco-régionale associée ou non à la survenue de métastases hépatiques (53,9 %) avec un intervalle libre après l'exérèse allant de 4 à 48 mois. Le taux de récidive des tumeurs stromales varient de 19 % à 59 % dans la littérature (61).

L'évolution lente de certaines de ces tumeurs semble justifier une attitude chirurgicale agressive. En effet, un de nos patients (observation n°2) a eu une évolution clinique favorable déjà rapporté dans quelques études (9, 60) : cette patiente porteuse d'une tumeur stromale maligne est toujours en vie actuellement sans récidive tumorale, ni métastases 15 ans après l'exérèse.

Cependant, cette évolution lente nécessite une surveillance clinique et radiologique prolongée même pour des tumeurs histologiquement bénignes, qui peuvent récidiver ou métastaser plusieurs années après le diagnostic initial. Appelman et collaborateurs (7) rapportent le cas d'une tumeur gastrique «bénigne» ayant métastasée 8,5 ans après le diagnostic et ayant entraîné le décès 2,5 ans plus tard. D'autres auteurs décrivent des récidives et/ou l'apparition de métastases, de tumeurs d'apparence bénigne, plus de 30 ans après la première résection tumorale (85, 134).

La survie de nos patients porteurs de tumeurs malignes, en dehors des décès opératoires était de 33 % à 2 ans et de 8 % à 5 ans. Les taux de survie à 5 ans rapportés dans différentes études étaient plus élevés que celle de notre série avec des écarts allant de 20 à 74 % (61).

3.2. L'EXPRESSION DU RECEPTEUR C-KIT :

3.2.1. LA MISE EN EVIDENCE IMMUNOHISTOCHIMIQUE DU RECEPTEUR C-KIT :

Dans un travail préliminaire, nous avons tenté de définir les conditions optimales d'utilisation des anticorps utilisés dans notre travail pour définir les phénotypes tumoraux.

Pour l'anticorps C-kit, les variations testées ont été multiples. L'obtention des meilleurs résultats avec la technique d'amplification à la tyramine n'est pas pour surprendre puisque l'on sait qu'avec la plupart des anticorps, l'amplification obtenue avec ce système est 1000 à 10 000 fois plus importante que celle observée avec une technique classique en trois couches faisant appel au couple anticorps secondaire biotinylé/streptavidine peroxydase. En dépit de multiples essais, nous n'avons pu nous débarrasser totalement du bruit de fond. La persistance de ce dernier pourrait s'expliquer par l'utilisation, au cours de la technique, d'albumine non cristallisée.

En effet, les albumines ordinaires sont connues pour pouvoir contenir de la biotine. Pour la mise en évidence de cet antigène, les techniques d'inversion de la fixation formolée sont indispensables. Les conditions de l'hydrolyse à l'autocuiseur ne donnent pas les résultats les meilleurs et il est préférable d'utiliser des conditions thermiques plus douces. Dans un travail récent portant sur la détection de chromogranine A, de l'actine musculaire lisse, de la protéine S100 et de la kératine à large spectre (KL1) respectivement au niveau du pancréas, du colon, du sein et du placenta, Volante et collaborateurs (135) ont rapporté qu'un rinçage de quelques minutes dans une solution de PBS-tween chaud (100°C) réalisé après l'étape de la polymérisation de la tyramine modifiée diminuait non seulement le bruit de fond mais améliorait également le signal. Les mécanismes en causes ne sont pas connus. Pour la mise en évidence de TrkA sur des coupes de lymphomes folliculaires inclus dans de la paraffine, Mme Onnoughene au laboratoire, a pu vérifier ces résultats. Ces derniers ne semblent cependant pas généralisables puisque dans notre travail ce procédé non seulement n'a pas conduit à une amélioration mais bien au contraire a entraîné une baisse de sensibilité.
L'absence de gain de sensibilité avec le système Envision™ (Dako) n'est pas pour surprendre. En effet, comparé à une méthode immunohistochimique en trois couches faisant appel au système streptavidine peroxydase/ anticorps secondaire biotinylé, le système Envision™ s'est avéré dans les multiples essais réalisés au laboratoire moins sensible. Une amplification n'est observé que lorsque le conjugué est utilisé comme troisième couche ce qui dans certaines circonstances peut s'avérer intéressant mais, compte tenu du prix de vente du dérivé, augmente de façon significative le coût de la réaction immunohistochimique.

La négativité de la détection de l'actine musculaire lisse (30 cas), de la desmine (53 cas), de l'HHF35 (58 cas) et de la protéine S100 (58 cas), dans certaines observations, nous a conduit à tester la technique d'amplification à la tyramine pour la mise en évidence de ces antigènes. Le gain de sensibilité s'est révélé faible. En effet, dans une observation seulement l'actine musculaire lisse a pu être détectée alors qu'elle n'était pas mise en évidence par les techniques classiques. Dans une autre observation, la mise en œuvre de la technique a permis de détecter un pourcentage plus élevée de cellules exprimant cette protéine. Le gain s'est révélé nul pour les autres marqueurs

Pour améliorer la résolution et par conséquent mieux définir la localisation cellulaire de l'antigène C-kit nous avons tenté de réaliser sa mise en évidence sur coupes semi-fines. Dans la mesure où pour beaucoup d'antigènes, la réaction immunohistochimiques se réalise à la

surface des coupes, l'intensité des signaux n'est pas significativement diminuée par rapport à une technique en paraffine et le gain de résolution est net. Dans notre travail nous n'avons pu obtenir de résultat après inclusion en Unicryl™. Cette négativité pourrait s'expliquer par la destruction ou le masquage de l'antigène recherché pas les rayons UV utilisées pour polymériser le plastique. Une polymérisation thermique pourrait être tentée. Nous avons, en revanche obtenu, de bons résultats avec l'alcool polyvinylique. La technique est cependant délicate notamment dans son étape d'inclusion. Nous travaillons actuellement à son amélioration.

3.2.2. L'EXPRESSION DU RECEPTEUR C-KIT DANS NOTRE SERIE :

En immunohistochimie, l'expression du récepteur c-kit a été retrouvée dans 50 tumeurs de notre série, 12 d'entre elles n'exprimant pas ce récepteur.

3.2.2.1. Le groupe des tumeurs n'exprimant pas le récepteur c-kit :

Parmi ces tumeurs, différents phénotypes ont été retrouvés :

✓Phénotype musculaire lisse :

Un immunophénotype de type musculaire lisse était observé dans 6 tumeurs de notre série (observations n°**5-9-28-29-40-45**). Les cellules tumorales étaient marquées par au moins un anticorps musculaire lisse et trois de ces tumeurs co-exprimaient fortement l'actine musculaire lisse, l'HHF35 et la desmine. En revanche, dans tous ces cas, le marquage par les anticorps anti CD34, anti vimentine et anti PS100 s'est avéré négatif.

Ces lésions de localisation variée (une œsophagienne, 3 gastriques, une grêle et une rectale), en majorité constituées de cellules fusiformes, ont eu une évolution bénigne pour 5 d'entre elles.

L'une d'elles (observation n°**9**), de petite taille (5 cm), possédait des critères histologiques (compte de mitoses de 30 pour 50 champs au fort grossissement, pléiomorphisme nucléaire, nécrose) et cliniques (extension péritonéale secondaire) de malignité.

Dans les nombreuses séries (54, 79, 81, 120) rapportant cet immunophénotype musculaire en l'absence d'expression du récepteur c-kit, les auteurs classent ces tumeurs parmi les

léiomyomes, pour les lésions d'évolution bénigne et parmi les léiomyosarcomes, pour les lésions d'évolution maligne.

Dans deux études récentes, Miettinen (79, 81) a fait ressortir quelques caractéristiques cliniques, histologiques, immunohistochimiques et moléculaires qui pourraient permettre de différencier les léiomyomes et léiomyosarcomes, des tumeurs stromales.

Les léiomyomes survenaient en général chez des patients jeunes (inférieur à 40 ans) (79), avec une prédominance masculine comme pour les tumeurs stromales. Au niveau des études histologiques, sur les coupes colorées à l' HES au faible grossissement, les léiomyomes apparaissaient trés éosinophiles du fait de leur faible cellularité, alors que les tumeurs stromales cellulaires apparaissaient, à l'inverse, basophiles. L'étude immunohistochimique différait également : les cellules des léiomyomes exprimaient constamment les marqueurs des cellules musculaires lisses (actine musculaire lisse et desmine). Par contre, elles étaient négatives avec les anticorps anti c-kit et anti CD34, à l'inverse, des cellules des tumeurs stromales qui les exprimaient dans tous les cas. Aucune mutation de l'exon 11 du gène *c-kit*, fréquemment observée dans les tumeurs stromales, n'a été mise en évidence dans les tumeurs classées parmi les léiomyomes. De plus, l'évolution clinique de ces tumeurs n'a jamais été péjorative.

Les léiomyosarcomes digestifs semblaient moins fréquents que les tumeurs stromales (79, 81). Ces lésions étaient plus souvent de grande taille et avaient un indice mitotique élevé. Les cellules tumorales exprimaient souvent des marqueurs musculaires lisses (actine musculaire lisse parfois focale comme dans notre observation n°**9**, desmine ou les deux), parfois le CD34. En revanche, la recherche avec l'anticorps anti c-kit était toujours négative. Par ailleurs, aucune mutation de l'exon 11 n'a été mis en évidence dans ces léiomyosarcomes. L'évolution clinique s'est toujours faite vers le décès rapide des patients.

✓ **Phénotype nerveux :**

Deux tumeurs de notre série (observations n° **16** et **52**) avaient un phénotype neuro-gliale caractérisé par une expression diffuse et intense de la PS100. Dans les deux cas, cette dernière était co-exprimée avec la vimentine et la NSE mais en l'absence d'expression des marqueurs musculaires lisses (actine musculaire lisse, desmine et HHF35), du récepteur c-kit et du CD34. De localisation gastrique, elles ont eu une évolution bénigne (recul de 11 et 2 ans). L'immunophénotype neuro-gliale a été confirmé, lors de l'étude ultrastructurale par la mise en évidence de structures schwanniennes.

Ces tumeurs semblent donc correspondre au schwannome digestif, bien défini par Daimaru et collaborateurs (24). Cette tumeur bénigne, peu fréquente (54, 101, 109, 120), se caractérise,

en histologie, par sa bonne limitation périphérique, avec toutefois une absence de capsule et la présence d'un infiltrat lymphoïde périphérique parfois nodulaire qui est alors très caractéristique. Ce dernier n'était observé que dans l'une de nos observations (cas n°**16**) En immunohistochimie, il existe toujours une forte positivité des cellules tumorales pour la protéine S100 (54, 101, 109, 120), parfois pour la vimentine (101) tandis que les marqueurs musculaires et le c-kit sont toujours négatifs (101, 120)

✓ **Phénotype «mésenchymateux»**

Les 4 dernières tumeurs (observations n°**10-17-41-49**) n'exprimant pas le c-kit ne comportaient ni différenciation musculaire lisse ni nerveuse. Toutes exprimaient la vimentine. Dans deux cas, elles co-exprimaient le CD34, focalement dans un cas. Trois de ces lésions (deux de localisation gastriques : observation n°**17** et **41** et une siégeant dans l'intestin grêle : observation n° **49**) ont eu une évolution clinique bénigne ; la dernière (observation n°**10**) une évolution clinique maligne.

Quelques études (81, 113, 120) ont rapporté des tumeurs indifférenciées n'exprimant ni le c-kit, ni la vimentine ou le CD34, ni les marqueurs musculaires ou nerveux. Certains auteurs les considéraient comme des tumeurs indifférenciées (113, 120) alors que Miettinen et collaborateurs (81) les intégraient dans le groupe des tumeurs stromales c-kit positives. Ils les considéraient comme une variante indifférenciée des tumeurs stromales. Cette théorie reposait sur la mise en évidence d'activations constitutionnelles de la protéine C-kit dans des tumeurs n'exprimant pas le récepteur c-kit en immunohistochimie (57).

En résumé , dans ce groupe de tumeurs n'exprimant pas le récepteur c-kit, nous avons pu individualiser 4 types de lésions : cinq léiomyomes, un léiomyosarcome, deux schwannomes et quatre tumeurs de phénotype «mésenchymateux».

3.2.2.2. Le groupe de tumeurs exprimant le récepteur c-kit :

Le récepteur c-kit a été retrouvé dans les cellules de 50 tumeurs de notre série.

✓ Tumeurs co-exprimant le récepteur c-kit et les marqueurs musculaires lisses :

Vingt cinq de ces tumeurs exprimaient au moins un marqueur musculaire lisse, le plus fréquent étant, comme dans la littérature (82) celui dirigé contre l'actine musculaire lisse (38,70% de nos observations). La co-expression du c-kit et de l'actine musculaire lisse est observée de façon variable dans différentes études (entre 12,5 à 44,9 % selon les séries) (54, 79, 81, 82, 120). La présence de l'antigène CD34 était également souvent associée (79, 81, 82, 120).

Dans cinq tumeurs de notre étude, l'actine musculaire lisse était co-exprimée avec un autre marqueur musculaire lisse : la desmine focalement dans 4 cas (observations n°**8-53-58-61**) et l'HHF35 dans un cas (observation n°**11**) avec environ ¼ des cellules tumorales marquées.

L'expression de la desmine dans les tumeurs c-kit positives est rapportée par certains auteurs (82, 113, 120), plus rarement, conjointement à l'actine musculaire lisse (82, 120). En revanche, aucune étude ne rapporte la co-expression du c-kit, de l'actine musculaire lisse et de l'HHF35 comme nous l'avons constaté dans notre observation n°**11**. Ceci peut probablement s'expliquer par le fait que l'HHF35 est un marqueur peu utilisé lors des études de ces tumeurs. Tazawa et collaborateurs (120) rapportaient de nombreuses tumeurs c-kit positives exprimant un à quatre marqueurs musculaires lisses (actine musculaire lisse, desmine, calponine et caldesmone).

L'expression des marqueurs musculaires lisses par les tumeurs stromales avait initialement été interprétée comme un signe de véritable différenciation musculaire des cellules tumorales, d'autant plus que ces cellules avaient des caractéristiques ultrastructurales de fibres musculaires lisses (32). D'autres auteurs (54, 110) ont suggéré que ces caractères immunohistochimiques et ultrastructuraux pourraient être en rapport avec certaines caractéristiques musculaire lisse de la cellule interstitielle de Cajal dérivant du même précurseur que les cellules musculaires lisses.

Lors d'une étude expérimentale récente, Torihashi (126) a démontré, dans le tube digestif de souris, que les ICC bloquées par des anticorps spécifiques n'entraient pas en apoptose. En revanche, elles développaient soit des aspects ultrastructuraux de cellules musculaires lisses, soit restaient indifférenciées. Cette «plasticité» entre ces deux types cellulaires, certaines similitudes ultrastructurales pourraient expliquer la co-expression du c-kit et des marqueurs musculaires lisses de notre série ainsi que la différenciation musculaire, le plus souvent discrète, retrouvée en microscopie électronique (25 observations).

✓ **Tumeurs co-exprimant le c-kit et le CD34 :**

Vingt trois tumeurs n'exprimait ni marqueur nerveux, ni marqueur musculaire. Mais par contre dans 87,5 % des cas (20 tumeurs) exprimaient le récepteur c-kit et le CD34 ce qui a été déjà rapporté par Kindblom dans 75,38 % des cas (54), par Tazawa dans 84, 48 % des cas (120) et par Miettinen dans 70 % des cas (82). Seules trois tumeurs de notre étude n'exprimaient que le récepteur c-kit (observations n°**13-23-32**).

Cette expression du CD34 par les cellules des tumeurs stromales est difficile à expliquer et a été longtemps l'objet de nombreuses discussions. Dans les années 90, ce marqueur était considéré, par certains auteurs, comme spécifique des tumeurs stromales. Originellement décrit comme un marqueur des cellules précurseurs hématopoïétiques, l'immunoréactivité du CD34 est retrouvée dans les cellules de nombreux tissus normaux et pathologiques les plus souvent marquées étant l'endothélium, les cellules des tumeurs vasculaires, des tumeurs des gaines nerveuses périphériques, des tumeurs fibreuses solitaires de sites variés, des dermatofibrosarcomes protuberans, des sarcomes épithélioïdes, etc... (133).

Les ICC exprimant de façon variable l'antigène CD34 (48, 54), il semble logique dans l'hypothèse où les tumeurs stromales dériveraient d'un précurseur donnant naissance aux ICC, que les cellules des tumeurs stromales puissent exprimer cet antigène de façon variable (103).

L'étude en microscopie électronique d'une de nos tumeur (observation n°**13**) a permis de porter le diagnostic d'une tumeur issue du système nerveux autonome gastro-intestinal (GANT). Nous avons retrouvé dans les cellules de cette tumeur, de localisation gastrique, des caractéristiques ultrastructurales décrites par Herrera et collaborateurs (45) ainsi que par Walker (138) : prolongements évoquant des boutons synaptiques renfermant des grains denses, neurosecrétoires en l'absence de caractère de différenciation musculaire lisse ou nerveuse. Aucune fibre skénoïde n'a été retrouvé tant en optique, qu'en électronique. En histologique, cette tumeur à cellules fusiformes et épithélioïdes n'avait aucune caractéristique spécifique. L'activité mitotique était élevé (30 mitoses pour 50 champs x 400). L'étude immunohistochimique a permis d'observer une forte positivité du récepteur c-kit associée à une expression discrète de la NSE ce qui a été déjà rapporté dans d'autres études (112). Le diagnostic formel de ces tumeurs issues du système nerveux autonome gastro-intestinal ne repose que sur les constations faites en microscopie électronique. Certains auteurs ont suggéré (54, 112) que les GANT pourraient également dériver des ICC. Cependant, les aspects ultrastructuraux des GANT rapportés par ces deux auteurs, correspondaient à des

caractéristiques de cellules nerveuses (contacts de type synapse-like, granules électron dense) jamais retrouvées dans les études de microscopie électronique des ICC (34, 131)

✓ **Tumeurs co-exprimant le récepteur c-kit, l'actine musculaire lisse et la PS100 :**

Deux tumeurs (observations n°**37-62**), localisées dans l'intestin grêle, co-exprimaient le c-kit, l'actine musculaire et la PS100. L'une d'elles a eu une évolution clinique maligne (cas n°**37**), l'autre une évolution clinique bénigne (cas n°**62** avec un recul de seulement 1,5 mois) au cours d'une maladie de Von Recklinghausen.

De rares études ont décrit cet immunophénotype particulier (120). Endo et collaborateurs (31) ont observé, chez le cochon d'Inde, des contacts très étroits entre les ICC, PS100 négatives, et les cellules entéro-gliales des plexus myentériques, PS 100 positives. Cet aspect a également été décrit chez l'homme (34). Tazawa et collaborateurs (120) ont alors suggéré que la différenciation nerveuse et musculaire, en immunohistochimie et en ultrastructurale, parfois observée dans les tumeurs stromales c-kit positives seraient expliquer d'une part par l'existence d'un précurseur commun aux ICC et aux cellules musculaires lisses, d'autre part, par le contact étroit entre les ICC et les cellules entéro-gliales. Ces contacts étroits entre ces deux cellules sont probablement dus au fait que les nerfs entériques sécrètent le ligand du récepteur c-kit. Cependant, dans certaines pathologies de la motilité gastro-intestinale telles que la maladie de Hirschsprung qui affectent l'innervation du tube digestif, les ICC sont présentes mais avec des fonctions altérées.

De par leur morphologie, leurs caractéristiques immunohistochimiques et la présence ou non du récepteur c-kit , la séparation entre d'une part les léiomyomes, les léiomyosarcomes et les schwannomes et d'autre part les tumeurs stromales semble possible. Les tumeurs de phénotype «mésenchymateux» constituent une entité à part ne pouvant être rattachée avec certitude à aucune autre. Les GANT, quant à elles, bien que morphologiquement et immunohistochimiquement très proches des tumeurs stromales, ont des caractéristiques ultrastructurales très différentes. De plus, aucune étude moléculaire, recherchant des mutations du gène *c-kit*, n'a été réalisée, à ce jour, permettant éventuellement de rattacher les GANT parmi les tumeurs stromales.

Ces tumeurs stromales semblent donc correspondre à une seule entité comportant une grande diversité d'aspects morphologiques et de multiples degrés de différenciation vers un phénotype de cellule interstitielle de Cajal.

3.3. LE RECEPTEUR C-KIT : APPORT POUR L'ORIGINE HISTOGENETIQUE DES TUMEURS STROMALES :

L'origine histogénétique des tumeurs stromales est longtemps demeurée obscure. Récemment, Kindblom et collaborateurs (54) ont suggéré que les tumeurs stromales pourraient naître d'une cellule mésenchymateuse indifférenciée donnant par la suite naissance aux ICC et aux cellules musculaires lisses (125). Depuis, de nombreuses études semblent étayer cette hypothèse.
Les cellules des tumeurs stromales partagent, comme nous l'avons en partie démontré dans notre travail, certaines caractéristiques immunohistochimiques et ultrastructurales avec les ICC et les cellules musculaires lisses (54, 82, 103, 115). Cependant, l'origine cellulaire de ces tumeurs demeure encore incertaine.

Une hyperplasie focale de cellules c-kit positives, dans la paroi musculaire, à proximité ou à distance des tumeurs est parfois rapportée (54). Il s'agirait soit d'une hyperplasie focale d'ICC, soit d'un état pré-néoplasique résultant de la prolifération de cellules précurseurs pouvant se différencier secondairement vers un phénotype d'ICC ou musculaire. L'existence d'atypies cyto-nucléaires à leur niveau appuierait la seconde hypothèse (54). Ceci expliquerait également la survenue de tumeurs multiples ou la récidive de tumeurs stromales à distance de la tumeur primaire (54). Un des patients de notre série (observation n°62) était porteur de tumeurs stromales multiples de siège intestinal. A proximité de petites lésions, nous avons pu mettre en évidence une hyperplasie de cellules c-kit positives au sein de la musculeuse. Ces différentes constations semblent corroborer l'hypothèse de Kindblom. Notre patient était porteur d'une maladie de Von Recklinghausen qui est rapportée par différents auteurs pour être un terrain favorisant de survenue de tumeurs stromales (39, 111). Cependant, actuellement, aucune étude ne rapporte d'association entre l'hyperplasie de cellules c-kit positives et la maladie de Von Recklinghausen.

Dans ce cadre et devant toute tumeur stromale, la réalisation d'une étude de biologie moléculaire par PCR serait intéressante et pourrait contribuer d'une part au diagnostic et

d'autre part à la recherche d'un terrain prédisposant au développement de ces tumeurs au cours d'une pathologie familiale. En effet, dans les cellules de ces tumeurs, des mutations du gène *c-kit* ont été identifiées ; ces mutations contribueraient à l'apparition mais également au développement des tumeurs stromales (57). Une même mutation étant retrouvée dans des tumeurs multiples et successives chez un même patient pourrait également être, par sa recherche, un outil de surveillance de l'évolutivité d'une tumeur (récidives, résidu tumoral) (57).

Les tumeurs stromales, tumeurs c-kit positives, semblent donc bien se développer à partir d'une cellule mésenchymateuse se différenciant ensuite vers un phénotype d'ICC ou de cellule musculaire plus ou moins mature. Un passage par un stade pré-néoplasique, sur le modèle des polypes coliques, est à envisager. La biologie moléculaire semble être l'outil indispensable permettant de poser un diagnostic formel de tumeurs stromales en recherchant les mutations du gène *c-kit*.

CONCLUSION

Le diagnostic, le traitement et le pronostic des tumeurs stromales gastro-intestinales restent complexes tant pour les pathologistes que pour les cliniciens. Les nombreuses études réalisées, jusqu'à ce jour, démontrent une grande diversité d'évolution, des aspects morphologiques et de la différenciation de ces tumeurs.

Le but de notre travail était de tenter de trouver un marqueur spécifique de ces tumeurs afin de pouvoir intégrer ces lésions dans une entité unique permettant de les distinguer des léiomyomes, des léiomyosarcomes et des schwannomes. La découverte du récepteur c-kit dans les cellules de ces tumeurs semble pouvoir servir à la définition de ces lésions.

Après avoir testé l'anticorps anti c-kit sur des tissus normaux et pathologiques à l'aide de différentes méthodes, une étude immunohistochimique a été réalisée sur notre série de 62 tumeurs. L'anticorps anti c-kit nous a permis de mettre en évidence deux groupes tumoraux distincts : 12 tumeurs ne l'exprimant pas, correspondant très probablement à des léiomyomes, des léiomyosarcomes, des schwannomes et des tumeurs de phénotype «mésenchymateux» comme l'ont prouvé les études avec les huit autres anticorps et 50 tumeurs exprimant cet anticorps. Ces dernières étaient marquées, par ailleurs, de façon variable par des anticorps dirigés contre les cellules musculaires ou nerveuses. Ces expressions pouvaient partiellement s'expliquer par le fait que les tumeurs stromales dériveraient d'un précurseur commun aux cellules interstitielles de Cajal et aux cellules musculaires. Nos résultats rejoignent la plupart des études publiées récemment dans la littérature.

La mise en évidence de caractéristiques immunohistochimiques et ultrastructurales communes aux cellules des tumeurs stromales, aux ICC et aux cellules musculaires lisses serait en faveur d'une origine commune de ces cellules. L'étude ultrastructurale réalisée dans notre série essentiellement pour la recherche de différenciation musculaire et nerveuse devrait, lors de futures études prospectives, s'orienter vers la recherche de certaines caractéristiques des cellules interstitielles de Cajal dans les tumeurs stromales. Il serait également intéressant de rechercher certaines mutations du gène *c-kit* et de les corréler à l'évolution anatomo-clinique des malades.

Enfin, les tumeurs stromales gastro-intestinales peuvent être définies comme des tumeurs c-kit positives pouvant subir des différenciations partielles proches des cellules interstitielles de Cajal ou des cellules musculaires lisses et beaucoup plus rarement des cellules nerveuses. Cette

définition bien que pouvant prêter à discussion a le mérite d'intégrer les tumeurs stromales dans une entité unique définie par un marqueur précis.

Cependant, le changement de dénomination de ces tumeurs par les acronymes GIPACT (GastroIntestinal Pacemaker Cells Tumor) ou ICCT (Tumors of Interstitial Cells of Cajal) semble prématuré. Il serait plus utile de maintenir, pour le moment, le terme de «tumeur stromale».

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. AHSMAN L. :
CD 117 (CD Guide)
In : KISHIMOTO T., KIKUTANI H., Von Dem BORNE A.E.G.K., GOYERT SM, MASON DY, MIYASAKA M, et al., eds. Leucocyte Typing VI, White Cell Differenciation Antigen.
New York : Garland Publishing, Inc., 1998 : 1191-1192.

2. AKWARI O.E., DOZOIS R.R., WEILAND L.H., BEAHRS O.H. :
Leiomyosarcoma of the small and the large bowel.
Cancer 1978 ; 42 : 1375-1384.

3. ANDRE C., HAMPE A., LACHAUME P.,MARTIN E., WANG X.P., MANUS V. HU W.X., GALIBERT F. :
Sequence analysis of two genomic regions containing the KIT and the FMS receptor tyrosine genes.
Genomics 1997 ; 39 (2) : 216-226.

4. AMIN M.B, MA C.K., LINDEN M.D., KUBUS J.J., ZARBO R.J. :
Prognostic value of proliferating cell nuclear antigen indice in gastric stromal tumors. Correlation wtih mitotic count and clinical outcome.
Am J Clin Pathol 1993 ; 100 : 482-432.

5. APPLEMAN H.D. :
Mesenchymal tumors of the gut : historical perspectives, new approaches, new results, and does it make any difference?
In : Gastrointestinal Pathology. United States and Canadian Academy of Pathology Monographs in Pathology. N° 31/ eds. GOLDMAN H., APPLEMAN HD., KAUFMAN N.
Baltimore. Williams & Wilkins, 1990 : 220-246.

6. APPLEMAN H.D. :
Stromal tumors of the œsophagus, stomach and duodenum.
In : Appleman HD, eds. Pathology of the œsophagus, stomach and duodenum.Comtemporary issues in surgical pathology.
New York. Churchill livingstone.1984.

7. APPLEMANN H.D., HELWIG E.B. :
Gastric epithelioid leiomyoma and leiomyosarcomas (leiomyoblastoma).
Cancer 1976 ; 38 : 708-728.

8. ARBER D.A., TAMAYO R., WEISS L.M. :
Paraffin section detection of the c-kit gene product (CD117) in human tissues : Value in diagnosis of mast cell disorders.
Hum Pathol 1998 ; 28 : 498-504.

9. BARRIER A., HUGUIER M. LEVARD H., MONTARIOL T., FAGNIEZ P.L., SAUVANET A. et les Associations françaises de recherche en chirurgie :
Tumeurs gastriques conjonctives. Résultats d'une étude multicentrique.
Chirurgie 1999 ; 124 : 494-502

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

11. BEDOSSA P., MARTIN E. :
Quoi de neuf sur les tumeurs conjonctives du tube digestif ?
Ann Pathol 1994 ; 14, n°5 : 350-356.

12. BEGNINI A., LARIZZA L., CAIROLI R., MORRA E. :
c-kit activating mutations and mast cell proliferation in human leukemia
Blood 1998 (Letter) ; 92 : 701-702.

13. BESMER P., MURPHY J. E., GEORGE P. C., QIU F.H., BERGOLD P. J, LEDERMAN L., SNYDER H W.Jr, BRODEUR D., ZUCKERMANN E. E., HARDY W. D. :
A new acute transforming retrovirus and relationship of its oncogene v-kit with the protein kinase gene family.
Nature 1986 ; 320 : 415-421.

14. BESMER P., MANOVA K., DUTTLINGER R., HUANG E.J., PACKER A., GYSSLER C., BACHVAROVA R.F. :
The kit-ligand (steel factor) and its receptor c-kit/W : pleitrophic roles in gametogenesis and melanogenesis.
Dev Suppl 1993 : 125-137.

15. BUHRING HJ, ASHMAN L, GATTEI V, KNIEP B, LARREGINA A, PINTO A, et al :
Stem-cell factor receptor (p145[c-kit]) summary report (CD 117).
In : SCHLOSSMAN SF , BOUMSELL L, GILKS W, HARLAN JM, KISHIMOTO T, MORIMOTO C et al., eds. Leucocyte Typing V, White Cell Differenciation Antigen.
Oxford, Oxford University Press ; 1995 : 1882-1888.

16. CAJAL S R :
Sur les ganglions et plexus nerveux de l'homme et des vertébrés.
C R Soc Biol (Paris). 1893 : 217-223.

17. CAJAL S R. :
Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés.
In : Grand sympathique. Vol 2.
Paris. Maloine ; 1911 : 891-942.

18. CAMPBELL F., HEWLETT B., HO J., HIZINGA J., RIDDELL R.H. :
Interstitial cells of Cajal (ICC) are absent or deranged in intestinal pseudo-obstruction.
Mod Pathol (Abstract) 1998 ; 11.

19. CARNEY J.A. :
The triad of gastric epithelioid leiomyosarcomas, pulmonary chondroma, and functioning extra-adrenal parganglioma : a five years review.
Medecine (Baltimore) 1983 ; 62 : 159-169.

20. CARNEY J.A., SHEPS S.G., GO V.L.W., GORDON H. :
The triad of gastric epithelioid leiomyosarcoma, functioning extra-adrénal parganglioma and pulmonary chondroma.
N Engl J Med 1977 ; 296 : 1517-1518.

21. CHADWICK E.Q., CONNOR E.J., HANSON C.S., JOSHI V.V., ABU-FARSAKH H., YOGEV R., McSHERRY G., McCLAIN K., MURPHY S.B. :
Tumors of smooth-muscle origin in HIV-infected children.
JAMA 1990 Jun 20 ; 263 (23) : 3182-3184.

22. CHAN J.K. :
Mesenchymal tumors of the gastrointestinal tract : a paradise for acronyms (STUMP, GIST, GANT, and now GIPACT), implication of c-kit in genesis; and yet another of the many emerging roles of the interstitial cell of Cajal in the pathogenesis of gastrointestinal diseases ?
Adv Anat Pathol 1999 ; Jan, 6 (1) : 19-40.

23. CHUI X., EGAMI H., YAMASHITA J., KURIZAKI T., OHMACHI H., YAMAMOTO S., OGAWA M. :
Immunohistochemical expression of the c-kit proto-oncogene product in human malignant and non-malignant breast tissues.
Br J Cancer 1996 May ; 73 (10) : 1233-1236.

24. DAIMARU Y., KIDO H., HASHIMOTO H., ENJOJI M. :
Begnin schwannoma of the gastrointestinal tract : a clinicopathologic and immunohistochemical study.
Hum Pathol 1988 ; 19 (3) : 257-264.

25. d'AURIOL L., MATTEI M. G., ANDRE C., GALIBERT F. :
Localization of the human c-kit protooncogene on the q11-q12 region of chromosome 4.
Hum Genet 1988 ; 78 : 374-376.

26. De MATTEO R.P., LEWIS J.J., LEUNG D., MUDAN S.S., WOODRUFF J.M., BRENNAN M.F. :
Two hundred gastrointesttinal stromal tumors. Recurrence patterns and prognostic factors for survival.
Ann Surg 2000 ; 231 (1), 51-58.

27. DOUMITH R., De GENNES J.L., CABANE P., ZYGELMAN N. :
Pituitary prolactinoma , adrenal aldostrone-producting adennomas, gastric schwannoma and colonic polyadenomas : a possible variant of multiple neoplasia (NEM) type I ;
Acta Endocrinol (Copenh) Jun 1982 ; 100 (2) : 189-195.

28. El OMAR M., DAVIES J., GUPTA S., ROSS H., THOMPSON R. :
Leiomyosarcoma in leiomyomatosis of the samll intestine.
Postgrad Med J 1994 ; 70 : 661-664.

29. ENZINGER F.M., LATTES R., TORLONI H. :
Histological typing of soft tissue tumors.
In : International histological classification of tumors, N°3 ;
Geneva, World Health Organization, 1969.

30. ENZINGER F.M., WEISS S.W. :
Leiomyosarcoma.
In : Soft Tissue Tumors. Third edition.
Saint Louis. Mosby, 1995 : 491-510.

31. ENDO Y., ENDO T., KOBAYASHI S. :
Electon microscopic study on S-100 protein-immureactive cells in the guinea pig duodenum, with special reference to the interstitial cells of Cajal.
Neurosci Lett 1987 ; 79 : 272-276.

32. ERLANDSON R.A., KLIMSTRA D.S., WOODRUFF J.M. :
Subclassification of gastrointestinal stromal tumors based on evaluation by electron microscopy and immunohistochemistry.
Ultrastruc Pathol 1996 ; 20 : 373-393.

33. EVANS H.L. :
Smooth muscle tumors of the gastrointestinal tract. A study of 58 cases followed for a minimun of 10 years.
Cancer 1985 ; 56 : 2242-2250.

34. FAUSSONE-PELLEGRINI M.S., THUNEBERG L. :
Guide to the identification of the interstitial cells of Cajal.
Microsc Res Tech 1999 ; 47 : 248-266.

35. FENOGLIO-PREISER C.M., NOFFSINGER A.E., STEMMERMANN G.N., LISTROM M.B., RILKE F.O. :
Gastrointestinal mesenchymal neoplams.
In : Gastrointestinal pathology. An atlas and text. Second Edition.
Lippincott-Raven , 1999 : 1169-1214.

36. FRANQUEMENT D.W., FRIERSON H.F. :
Muscle differenciation and clinicopathologic features of gastrointestinal stromal tumors.
Ann J Surg Pathol 1992 ; 16 : 947-954.

37. FURITSU T., TSUJIMURA T., TONO T., IKEDA H., KITAYAMA H., KOSHIMIZU U., SUGAHARA H., BUTTERFIELD J.H., ASHAMN L.K., KANAYAMA Y., MATSUZAWA Y., KITAMURA Y., KANAKURA Y. :
Identification of the mutations in the coding sequence of the proto-oncogene c-kit in a human mast cell leukemia cell line causing ligand independant activation of c-kit product.
J Clin Invest 1993 ; 92 : 1736-1744.

38. GABE M.
Techniques d'étude histologique du système nerveux.
In : Techniques histologiques
Paris. Masson et Cie, Editeurs ; 1968 : 901-968.

39. GENNATAS C.S., EXARHAHOS G., KONDI-PAFITI A., ATHANASSAS G. POLITI H.D. :
Malignant schwannomas of the stomach in a patient with neurofibromatosis.
Eur J Surg Oncol 1988 ; 14 : 261-264.

40. GIEBEL L.B., SPRITZ R.A. :
Mutation of the KIT (mast/stem cell growth factor receptor) protooncogène in human piebaldism.
Proc Nat Acad Sci 1991 ; 88 : 8696-8699.

41. HANANI M., BELZER V., RICH A., FAUSSONE-PELLIGRINI S.M. :
Visualization of the interstitial cells of Cajal in living, intact tissues.
Microsc Res Tech 1999 ; 47 : 336-343.

42. HASEGAWA S., SEMELKA R.C., NOONE T.C., WOOSLEY J.T., MARCOS H.B., KENNEY P.J., SIEGELMAN E.S. :
Gastric stromal sarcomas : Correlation of MR imaging and histopathologic findings in nine patients.
Radiology 1998 Sep ; 208 (3) : 591-595.

43. HAQUE S., DEAN P.J :
Stromal neoplasms of the rectum and canal anal.
Hum Pathol 1992 Jul ; 23 (7) : 762-767.

44. HENDRICKSON M.R., KEMPTON R.L. :
Smooth muscle tumors.
In : Gastrointestinal and Oesophageal Pathology/ed. par WHITEHEAD R. 1st ed.
Edinburg. Churchill Livingstone, 1989 : 619-628.

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

46. HERRERA G.A., CEREZO L., JONES J.E., SACK J., GRIZZLE W.E., POLLACK W.J. :
Gastrointestinal autonomic nerve tumors. «Plexosarcomas».
Arch Pathol Lab Med 1989 ; 113 : 846-853.

47. HIROKAWA M., TASHIRO T., HORIGUCHI H., WAKATSUKI S., KANAHARA T., MONOBE Y., SANO T. :
Gastrointestinal stromal tumor with skenoid fibers of the ileum.
Diagn Cytopathol 2000 Oct ; 23 (4) : 266-268.

48. HIROTA S., ISOZAKI K., MORIYAMA Y., HASHIMOTO K., NISHIDA T., ISHIGURO S., KAWANO K., HANADA M., KURATA A., TAKEDA M., MUHAMMAD TUNIO G., MATSUZAWA Y., KANAKURA Y., SHINOMURA Y., KITAMURA Y. :
Gain-of-function mutations of *c-kit* in human gastrointestinal stromal tumors.
Science 1998 ; 279 : 577-580.

49. HORIE K., FUJITA J., TAKAKURA K., KANZAKI H., SUGINAMI H., IWAI M., NAKAYAMA H., MORI T. :
The expression of c-kit protein in human adult ands fetal tissue.
Hum Reprod 1993 Nov ; 8 (11) : 1955-1962.

50. HORISAWA M., WANATABE Y., TORIHASHI S. :
Distribution of c-kit immunopositive cells in normal human colon and in Hirschsprung disease.
J Pediatr 1998 ; 33 : 1209-1214.

51. HUIZINGA J.D., THUNERBERG L., KLUPPEL M., MALYSZ J., MIKKELSEN H.B., BERNSTEIN A. :
W/kit gene required for intertitial cells of Cajal and for intestinal pacemaker activity.
Nature 1995 ; 373 : 347-349.

52. ISOZAKI K., HIROTA S., MIYAGAWA J., TANIGUCHI M., SHINOMURA Y., MATSUZAWA Y. :
Defiency of c-kit+ cells in patients with myopathic form of chronic idiopathic intestinal pseudo-obstruction.
Am J Gastroenterol 1997 ; 92 : 332-334.

53. KENNY S.E., CONNELL M.G., RINTALA R.J., VAILLANT C., EDGAR D.H., LLOYD D.A. :
Abnormal colonic interstitial cells of Cajal in children with anorectal malformations.
J Pediatr Surg 1998 ; 33 : 130-132.

54. KINDBLOM L.G., REMOTTI H.E., ALDENBORG F., MEIS-KINDBLOM J.M. :
Gastrointestinal pacemaker cell tumor (GIPACT) : gastrointestinal stromal tumors show phenotypic characteristics of the interstitial cells of Cajal .
Am J Pathol 1998 May; 152 (5) : 1259-1269.

55. KITAMURA Y., HIROTA S., NISHIDA T. :
Molecular pathology of *c-kit* proto-oncogene and development of gastrointestinal stromal tumors.
Ann Chir Gynaecol 1998 ; 87 (4) : 282-286.

56. LAMMIE A., DROBNJAK M., GERALD W., SAAD A.,COTE R., CORDON-CARDO C. :
Expression of c-kit and kit ligand proteins in normal human tissues.
J Histochem Cytochem 1994 ; 42 : 1417-1425.

57. LASOTA J., JASINSKI M., SARLOMO-RIKALA M., MIETTINEN M. :
Mutations in exon 11 of c-kit occur preferentially in malignant *versus* benign gastrointestinal stromal tumors and do not occur in léiomyomas ans leiomysarcomas.
Am J Pathol 1999 Jan (1) 154 : 53-60.

58. LAVINS P., HADJU S.I., FOOTE F.W. :
Gastric and extragastric leiomyoblastomas. Clinicopathologic study of 44 cases
Cancer 1972 ; 29 : 305-311.

59. LECOIN L., GABELLA G., Le DOUARIN N.M. :
Origin of the c-kit positive interstitiel cells in the avian bowel.
Development 1996 ; 122 : 725-733.

60. LEE J.S.Y., NASCIMENTA A.G., FARNELL M.B., CARNEY J.A., HARMSEN W.S., ILSTRUP D.M. :
Epithelioid gastric stromal tumors (leiomyoblastomas) : a study of fifty-five cases.
Surgery 1995 Oct ; 118 (4) : 653-661.

61. LEHNERT T. :
Gastrointestinal sarcoma (GIST) – A review of surgical management.
Ann Chir Gynaecol 1998 ; 87 (4) : 297-305.

62. LEVIN K.J., APPELMAN H.D. :
Mesenchymal tumors and tumor-like proliferations.
In : Atlas of the Tumors Pathology. Tumors of the Esophagus and Stomach.
Washington D.C. Armed Forces Institute of Pathology, 1995 ; 405-438.

63. LEWIN K.J., RIDDELL R.H., WEINSTEIN W.M. :
Mesenchymal tumors : in gastrointestinal pathology and its clinical implications.
New York, Igaku-Shoin ; 1992 : 284-341.

64. LONGLEY B.J., METCALFE D.D., THARP M., WANG X., TYRRELL L., LU S-Z., HEITJAN D., MA Y. :
Activation and dominant inactivating c-KIT catalytic mutations in distinct clinical forms of human mastocytosis.
Proc Nat Acad Sci 1999 ; 96 : 1609-1614.

65. MA C.K., AMIN M.B., KINTANAR E., LINDEN M.D., ZARBO R.J. :
Immunohistologic characterization of gastrointestinal stromal tumors : A study of 82 cases compared with 11 cases of leiomyomas.
Mod Pathol 1993 Mar ; 6 (2) : 139-144.

66. MAEDA H., YAMAGATA A., NISHIKAWA S., YOSHINAGA K., KOBAYASHI S., NISHI K., NISHIKAWA S.I. :
Requirement of c-kit for development of interstitial pacemaker system.
Development 1992 ; 116 : 369-375.

67. MARGULIES K.B, SHEPS S.G. :
Carney's triad : guidelines for management.
Mayo Clin Proc 1988 ; 63 : 496-502.

68. MARTIN JF., BAZIN P., FERROLDI J., CABANNE F. :
Tumeurs myoïdes intra-murales de l'estomac. Considérations microscopiques. A propos de 6 cas.
Ann Anat Pathol 1960 ; 5 : 484-497.

69. MARSHALL J.B., DIAZ-ARIAS A.A., BOCHNA G.S., VOGELE K.A. :
Achalasia due to diffuse esophageal leiomyomatosis and inherited as an autosomal dominant disorder.
Gastroenterology 1990 ; 98 : 1358-1365.

70. MATTEI M. G., d'AURIOL L., ANDRE C.,PASSAGE E., MATTEI J. F, GALIBERT F. :
Assignment of the human c-kit proto-oncogene to the q11-q12 region of chromosome 4, using in situ hybridation. (Abstract)
Cytogenet Cell Genet 1987 . 46 : 657.

71. MATSUDA R., TAKAHASHI T., NAKAMURA S., SEKIDO Y., NISHIDA K., SETO M., SEITO T., SUGIURA T., ARIYOSHI Y., TAKAHASHI T., UEDA R. :
Expression of the c-kit protein in human solid tumors and in corresponding fetal and adult normal tissues.
Am J Pathol 1993 ; 142 (1) : 339-346.

72. MATSUMOTO K., YAMADA N., ASANO G. :
Gastrointestinal autonomic nerve tumors : immunohistochemical and ultrastructural studies in cases of gastrointestinal stromal tumor.
Pathol Int 1997 May ; 47 (5) : 308-314.

73. MAZUR M.T., CLARK H.B. :
Gastric stromal tumors . Reappraisal of histogenesis.
Am J Surg Pathol 1983 ; 7 : 507-519.

74. McGRATH P.C., NEIFELD J.P., LAWRENCE W. :
Gastrointestinal sarcomas.
Ann Surg 1987 ; 206 : 706-710.

75. MIETTINEN M. :
Gastrointestinal stromal tumors. An immunohistochemical study of cellular differenciation.
Am J Clin Pathol 1988 ; 89 : 601-610.

76. MIETTINEN M., SARLOMO-RIKALA M., LASOTA J. :
Gastrointestinal stromal tumors.
Ann Chir Gynaecol 1998 ; 87 (4) : 278-281.

77. MIETTENEN M., MONIHAN J.M., SARLOMO-RIKALA M., KOVATICH A.J., CARR N.J., EMORY T.S., SOBIN L.H. :
Gastrointestinal stromal tumors / Smooth muscle tumors (GISTs) primary in the omemtum and mesentery. Clinicopathologic and immunohistochimical study of 26 cases.
Am J Surg Pathol 1999 ; 23 (9) : 1109-1118.

78. MIETTENEN M., SARLOMO-RIKALA M., LASOTA J. :
Gastrointestinal stromal tumors : Recent advances in understanding of their biology.
Hum Pathol 1999 ; 30 : 1213-1220.

79. MIETTENEN M., SARLOMO-RIKALA M., SOBIN L.H., LASOTA J. :
Esophageal stromal tumors. A clinicopathologic, immunohistochemical and molecular genetic study of 17 cases and comparaison with esophageal leiomyomas and leiomyosarcomas.
Am J Surg Pathol 2000 ; 24 (2) : 211-222.

80. MIETTENEN M.,SOBIN L.H, SARLOMO-RIKALA M. :
Immunohistochemical spectrum of GISTS at different sites and their differential diagnosis with a reference to CD117.
Mod Pathol 2000 Oct ; 13 (10) 1134-1142.

81. MIETTENEN M., SARLOMO-RIKALA M., SOBIN L.H., LASOTA J. :
Gastrointestinal stromal tumors and léiomyosarcomas in the colon. A clinicopathologic, immunohistochemical and molecular genetic study of 44 cases.
Am J Surg Pathol 2000 ; 24 (10) : 1339-1352.

82. MIETTINEN M., LASOTA J. :
Gastrointestinal stromal tumors : definition, clinical, histological, immunohistochemical and molecular genetic features and differential diagnosis.
Virchows Arch 2001 Jan ; 438 : 1-12.

83. MIGNON F., JULIE C., IZZILLO R.,LUCIANI A., GUICHOUX F., MESUROLLE B., EL HAJAM M., QANADLI S.D., CHAGNON S., LACOMBE P. :
Imagerie des tumeurs stromales gastriques : Corrélation radio-anatomopathologiques. A propos de quatre cas.
J Radiol 2000 ; 81 : 874-881.

84. MIKHAEL A.I., BACCHI C.E. , ZARBO R.J., et al :
CD34 expression in stromal tumors of the gastrointestinal tract.
Appl Immunohistochem 1994 ; 2 : 89-93.

85. MILLER K.A., RUBNITZ M.E., ROTH S.I. :
Late recurrence (33 years) of a gastric epitheliod stromal tumor (leiomyoblastoma) with low malignant potentiel.
Arch Pathol Lab Med 1988 ; 112 : 86-90.

86. MIN K.W. :
Skenoid fibers : an ultrastructural marker of neurogenic spindle cell tumors.
Ultrastruct Pathol 1991 Nov-Dec ; 15 (6) : 603-611.

87. MIN K.W. :
Small intestinal stromal tumors with sknoïd fibers ; Clinicopathological, immunohistological, and ultrastructural investigations
Am J Surg Pathol 1992 Feb ; 16 (2) : 145-155.

88. MIN K.W., BALATON A.J. :
Small intestinal stromal tumors with skenoid fibers in neurofibromatosis : report of four cases with ultrastructural study of skenoid fibers from paraffin blocks.
Ultrastruct Pathol 1993 May-Aug ; 17 (3-4) : 307-314.

89. MOHINAN J.M., CARR N.J., SOBIN L.H. :
CD34 immunoexpression in stromal tumors of the gatrointestinal tract and in mesenteric fibromatosis.
Histopathology 1994 ; 25 : 469-473.

90. MONTONE K.T., Van BELLE P., ELENITSAS R., ELDER D.E. :
Proto-oncogene c-kit expression in malignant melanoma : protein loss with tumor progression.
Mod Pathol 1997 Sep ; 10 (9) : 939-944.

91. MULVIHILL J.J., PARRY D.M., SHERMAN J.L., PIKUS A., KAISER-KUPFER M.I., ELDRIGE R. :
NIH conference : neurofibromatosis 1 (Recklinghausen disease) and neurofibromatosis 2 (bilateral acousitc neurofibromatosis). An update.
Ann Intern Med 1990 Jul ; 113 (1) : 39-52.

92. NATALI P.G., NICOTRA M.R., SURES I., SANTORO E.,BIGOTTI A., ULLRICH A. :
Expression of the c-kit receptor in normal an transformed human nonlymphoid tissues.
Cancer Res 1992 Nov 15 ; 52 (22) : 6132-6143.

93. NATALI P.G., NICOTRA M.R., WINKLER A.B., CAVALIERE R., BIGOTTI A., ULLRICH A. :
Progression of human cutaneous melanoma in association with loss of expression of c-kit proto-oncogene receptor.
Int J Cancer 1992 Sep 9 ; 52 (2) : 197-201.

94. NISHIDA T., HIROTA S., TANIGUCHI M., HASHIMOTO K., ISOZAKI K., NAKAMURA H., KANAKURA Y., TANAKA T., TAKABAYSHI A., MATSUDA H., KITAMURA Y. :
Familial gastrointestinal stromal tumors with germline mutation of the KIT gene.
Nature Genet 1998 ; 19 : 323-342.

95. NORTH A.J., SMALL V. :
Immunofluorescent labelling of sections.
In : ALLAN V.J. Protein localization by fluorescence microscopy. A practical approach. Oxford Université Press 2000 : 27-66.

96. OJANGUREN I., ARIZA A., NAVA-PALACIOS J.J. :
Gastrointestinal autonomic nerve tumor : further observations regarding an ultrastructural and immunohistochemical analysis of six cases.
Hum Pathol 1996 Dec ; 27 (12) : 1311-1318.

97. Pathologistes du Groupe Sarcomes de la Fédération Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer :
Tumeurs à cellules fusiformes.
In : Tumeurs des tissus mous. 1ère partie.
Académie internationale de Pathologie. Division Française, 1998 : 37-82.

98. PERSSON S., KINDBLOM L.G., ANGERVALL L., TISELL L.E. :
Metastasizing gastric epithelioïd leiomysarcomas (leiomyoblastomas) in young individuals with long-term survival.
Cancer 1992 ; 70 : 721-732.

99. PIGNON J-M., GIRAUDIER S., DUQUESNOY P., JOUAULT H., IMBERT M., VAINCHENKER W., VERNANT J-P., TULLIEZ M. :
A new c-kit mutation in a case of aggressive mast cell disease.
Brit J Haemat 1997 ; 96 : 374-376.

100. PIKE A.M., LLOYD R.V., APPELMAN H.D. :
Cell markers in gastrointestinal stromal tumors.
Hum Pathol 1988 ; 19 : 830-834.

101. PREVOST S., BEINVENU L., VAILLANT J.C., De SAINT MAUR :
Begnin schwannoma of the digestive tract : a clinopathologic and immunohistochemical study of five cases, including a case of oesophageal tumor.
Am J Surg Pathol 1999 Apr ; 23 (4) : 431-436.

102. RADIN D.R., KIYABU M. :
Multiple smooth-muscle tumors of the colon and the adrenal gland in an adult with AIDS.
AJR 1992 ; 159 : 545-546.

103. ROBINSONT.L., SIRCAR K., HEWLETT B.R., CHORNEYKO K., RIDDELL R.H., HUIZINGA J.D. :
Gastrointestinal stromal tumors may originate from a subset of CD34 positive interstitial cells of Cajal
Am J Pathol 2000 ; 156 (4) : 1157-11636.

104. ROSAI J. :
Gastrointestinal tract
In : Ackerman's surgical pathology. 8th eds./ VOL 1
Mosby, 1996 : 589-815.

105. RUMUSSEN J.J., THUNERBERG L. :
Intertitial cells of Cajal in human small intestine.
Gastroenterology 1991 ; 100 : 1417-1431.

106. SAINT ANDRE J.P., VALO I., GUYETANT S. :
Immunohistochimie des tumeurs neuro-endocrines.
In : Ann Pathol 2000, 20, hors série : 129-131.
Paris. Masson, 2000.

107. SANDLOW J.I., FENG H.L., COHEN M.B., SANDRA A. :
Expression of c-KIT and its ligand, stem cell factor, in normal and subfertile human testicular tissue.
J Androl 1996 Jul-Aug ; 17 (4) : 403-408.

108. SAUL S.H., RAST M.L., BROOKS J.J. :
The immunohistochemistry of gastrointestinal stromal tumors. Evidence supporting an origin from smooth muscle.
Am J Surg Pathol 1987 ; 11 : 464-473.

109. SARLOMO-RIKALA M., MIETTINEN M. :
Gastric schwannoma. A clinicopathological analysis of six cases ;
Histopathology 1995 ; 27 : 355-360.

110. SARLOMO-RIKALA M., KOVATICH A.J., BARUSEVICIUS A., MIETTINEN M. :
CD 117 : a sensitive marker for gastrointestinal stromal tumors that is more specific than CD34.
Mod Pathol 1998 ; 11 (8) : 728-734.

111. SCHALDENBRAND J.D., APPELMAN H.D. :
Solitary solid stromal gastrointestinal tumors in von Recklinghausen's disease with minimal smooth muscle différenciation.
Hum Pathol 1984 ;15 : 229-232.

112. SCHMID S., WEGMANN W. :
Gastrointestinal pacemaker cell tumor : clinicopathological, immunohistochemical, and ultrastructural study with special reference to c-kit receptor antibody.
Virchows Arch 200 Mar ; 436 (3) : 234-242.

113. SEIDAL T., EDVARDSSON H. :
Expression of c-kit (CD117) and Ki67 provides information about the possible cell of origin and clinical course of gastrointestinal stromal tumors.
Histopathology 1999 ; 34 : 416-424.

114. SHIU M.H., FARR G.H., PAPACHRISTOU D.N., HAJDU S.I. :
Myosarcomas of the stomach : natural history, prognostic factors and management.
Cancer 1982 Jan ; 49 (1) : 177-187.

115. SIRCAR K., HEWLETT B.R., HUIZINGA J.D., CHORNEYKO K., BEREZIN I., RIDDELL R.H. :
Interstitial cells of Cajal as precursors of gastrointestinal stromal tumors.
Am J Surg Pathol 199 Apr, 23 (4) : 377-389.

116. STOUT A.P. :
Bizarre smooth muscle tumeurs of the stomach.
Cancer 1992 ; 15 : 400-409.

117. STROHMEYER T., REESE D., PRESS M., ACKERMANN R., HARTMANN M., SLAMON D. :
Expression of the c-kit proto-oncogene and its ligand stem cell factor (SCF) in normal and malignant human testicular tissue.
J Urol 1995 Feb ; 153 (2) : 511-515.

118. SUSTER S. :
Gastrointestinal stromal tumors.
Semin Diagn Pathol. 1996 ; Vol 13, n° 4 (November), 297-313.

119. TAKAHASHI H., SAITON K., KISHI H., PARSONS P.G. :
Immunohistochemical localisation of stem cell factor (SCF) with comparison of its receptor c-Kit proto-oncogene product (c-KIT) in melanocytic tumors.
Virchows Arch 1995 ; 427 (3) : 283-288.

120. TAZAWA K., TSUKADA K., MAKUUCHI H., TSUTSUMI Y. :
An immunohistochemical and clinicopathological study of gastrointestinal stromal tumors.
Pathol Int 1999 ; 49 : 786-798.

121. TERVAHARTIALA P., HALAVAARA J. :
Radiology of GIST.
Ann Chir Gynaecol 1998 ; 87 (4) : 291-292.

122. TEYSSIER-Le DISCORDE M., PROST S., NANDROT E., KIRSZENBAUM M. :
Spatial and temporal mapping of c-kit and its ligand, stem cell factor expression during human embryonic hematopoiesis.
Br J Haematol 1999 Nov ; 107 (2) : 247-253.

123. THUNERBERG L., JOHANSEN V., RUMESSEN J.J., ANDERSEN B.G. :
Interstitial cells of Cajal : selective uptake of methylene blue inhibits slow waves activity.
In : Gastrointestinal motility. Roman C., editor.
Lancaster, PA : MTP Press 1983 : 495-502.

124. TISELL L.E., ANGERVALL L., DAHL I., MERCK C., ZACHRISSON B.F. :
Recurrent and metastasizing gastric leiomyoblastoma (epithélioïd leiomyosarcoma) associated with multiple pulmonary chondrohamartomas. Long survival of patient treated with repeated operations.
Cancer 1978 Jan ; 41 (1) : 259-265.

125. TORIHASHI S., WARD S., SANDERS K.M. :
Development of c-kit positive cells and the onset of electrical rhythmicity in murine small intestine.
Gastroenterology 1997 ; 112 : 144-155.

126. TORIHASHI S., NISHI K., TOKUTOMI Y. NISHI T. WARD S.M., SANDERS K.M. :
Blocage of kit signaling induces transdifferenciation of interstitial cells of Cajal to a smooth muscle phenotype.
Gastroenterology 1999 ; 117 : 140-148.

127. TSUURA Y., HIRAKI H., WATANABE K., IGARASHI S., SHIMAMURA K., FUKUDA T., SUZUKI T., SEITO T. :
Preferentiel localization of *c-kit* product in tissue mast cells, basal cells of skin, epithelial cells of breast, small cell lung carcinoma and seminoma/dysgerminoma in human : immunohistochemical study on formalin-fixed, paraffin-embedded tissues.
Virchows Archiv 1994 ; 424 : 135-141.

128. UEYAMA T., GUO K.J., HASHIMOTO H., DAIMARU Y., ENJOJI M. :
Clinicopathologic and immunohistochemical study of gastrointestinal stromal tumors.
Cancer 1992 Feb 15 ; 69(64) : 947-955.

129. VANDENBARK G. R., de CASTRO C. M., TAYLOR H., DEW-KNIGHT S., KAUFMAN R. E. :
Cloning and ultrastructural analysis of the human c-kit.
Oncogene 1992 ; 7 : 1259-1266.

130. VANDERWIDEN J.M. , RUMESSEN J.J., LIU H., DESCAMPS D.,De LAET M.H. , VANDERHAEGHEN J.J. :
Interstitial cells of Cajal in human colon and in Hirrschsprung's disease.
Gastroenterology 1996 ; 111 : 901-910.

131. VANDERWIDEN J.M. , RUMESSEN J.J. :
Interstitial cells of Cajal in human gut and gastrointestinal disease.
Microsc Res Tech 1999 ; 47 : 344-360.

132. VANNUCHI M-G. :
Receptors in interstitial cells of Cajal : identification and possible physiological roles.
Microsc Res Tech 1999 ; 47 : 325-335.

133. Van De RIJN M., HENDRICKSON M.R., ROUSE R.V. :
CD34 expression by gastrointestinal tract stromal tumors ;
Hum Pathol 1994 Aug, 25 (8) : 766-771.
S

134. Van STEENBERGEN W., KOJIMA T., GEBOES K., et al :
Gastric leiomyoblastoma with metastases to the liver. A 36 year follow up study.
Gastroenterology 1985 ; 89 : 875-881.

135. VOLANTE M., PECCHIONI C., BUSSOLATI G. :
Post-incubation heating significantly improves tyramide signal amplification. Letter
J Histochem Cytochem 2000 Nov ; 48 : 1583-1585.

136. Von BARTHELD C.S., CUNNINGHAM D.E., RUBEL E.W. :
Neuronal tracing with DiI : decalcification, cryosectioning and photoconversion for light and electron microscopic analysis.
J Histochem Cytochem 1990 May ; 38 (5) : 725-733.

137. WEISS S.W.:
World Health Organization International Histological Classification of Tumors : Histological typing of soft tissue tumors. Second Edition. 1993.

138. WALKER P., DVORAK A.M. :
Gastrointestinal autonomic nerve (GAN) tumor. Ultrastructural evidence for a newly recognized entity.
Arch Pathol Lab Med 1986 Apr ; 110 (4) : 309-316.

139. YARDEN Y., KUANG W. J. YANG-FENG T., COUSSENS L., MUNEMITSU S., DULL T. J., CHEN E., SCHLESSINGER J., ULRICH A. :
Human proto-oncogene c-kit: a new surface cell receptor tyrosine kinase for an unidentified ligand.
EMBO J. 1987 ; 6 : 3341-3351.

140. YAMATAKA A., KATO Y., TIBBOEL D., MURATA Y., SUEYOSHI N., FUJIMOTO T., NISHIYE H., MIYANO T.
A lack of interstitial pacemaker (c-kit) in aganglionic bowel of patients with Hirschsprung disease.
J Pedaitr Surg 1995 ; 30 : 441-444.

141. YAMATAKA A., OHSHIRO K., KOBAYASHI H., LANE G.J., YAMATAKA T., FUJIWARA T., SUNAGAWA M., MIYANO T. :
Abnormal distribution of intestinal pacemaker (C-KIT positive) cells in an infant with chronic idiopathic intestinal pseudoobstruction.
J Pediatr Surg 1998 ; 33 : 859-862.

142. YOUNG H.M. :
Embryologic origin of interstitial cells of Cajal
Microsc Res Tech 1999 ; 47 : 303-308.

143. YOUNG H.M., CIAMPOLI D., SOUTH B.R. NEWGRENN D.F. :
Origin of interstitial cells of Cajal in the mouse intestine.
Dev Biol 1996 ; 180 : 97-107.

ANNEXES

❒ **Diluant des anticorps**

(solution de 300 mL)

0,30 g d'azide de sodium

0,18 g de N-éthyl-maleimide

60 mL de glycérol (MERCK)

9,9 mL sérum albumine bovine à 30 % non cristallisée (PAA)

Ajouter du tampon PBS afin d'obtenir une solution de 300 mL.

❒ **Hématoxyline**

Hématoxyline (SPECI) diluée au 1/3 dans de la solution diluante :

Solution diluante :

- Eau distillée 1000 mL
- Alun potassique (PROLABO) 100 g

❒ **Milieu de montage contenant de l'alcool polyvinylique**

- Alcool polyvinylique (SIGMA) 12 g
- Tris-HCl 1M pH 8 (fourni par le laboratoire du Pr Nabet) 5 mL
- Eau distillée 95 mL

↘ Chauffer un peu sur agitateur (température inférieure à 60°C). Ajuster le pH à 8,5.

↘ Laisser reposer la nuit à +4°C.

↘ Le lendemain, le placer dans un bain marie à 60°C pendant 45 minutes.

↘ Ajouter 23 mL de glycérol lorsque la température atteint 50°C. Vérifier le pH qui doit être aux environs de 8,7.

↘ Aliquoter et stocker à –20°C.

❒ **MR 50X Peroxydase**

- Brij 35 (CALCOBIOCHEM) 2,9 mL
- Saponine (FLUKA) 0,1 g
- Tween 20 (SIGMA) 0,5 mL
- Eau stérile 6,6 mL

❒ **Paraformaldéhyde à 4 % (m/v)**

PBS 1X (fourni par la laboratoire Pr Nabet)

- 10X PBS 50 mL
- Eau distillée 450 mL

Sur agitateur pendant plusieurs heures et en chauffant à 60° C, dissoudre 20 g de paraformaldéhyde dans 500 mL de PBS 1 X.

Ajuster le pH entre 7 et 8.

❒ **Alcool polyvinylique pour inclusion :**

- Polyvinyl Alcohol hydrolysé à 80% (M_w : 9000-10000) (ALDRICH) 20 g
- Eau distillée 100 mL

Diluer le PVA en agitation continue et à chaud (30° C) jusqu'à dissolution complète.

Centrifugation du mélange pendant 30 min à 7000 tours/mn puis récupération du surnageant.

❒ **Tampon Citrate pH : 6,0**

- 36 mL d'acide citrique à 21,01 g/L
- 164 mL de citrate de sodium à 29,41 g/L
- Eau distillée QSP 2 L.

❒ **Tampon Cacodylate 0,1 M**

- Dissoudre 21,405 g de cacodylate de sodium dans un litre d'eau distillée
- Ajuster le pH à 7,2 avec de l'acide chlorhydrique pur (36 N)

SCD-UHP - NANCY 1 BIBLIOTHÈQUE MÉDECINE

❒ **Tampon PBS-Tween**

- Tampon phosphate 100 mM pH 7,4.
- NaCl (PROLABO) : 150 mM
- Tween 20 (SIGMA) : 0,1% (v/v).

❒ **Tampon TRIS IMIDAZOLE**

(TRIS HCl 0,2 M pH 8,8 – IMIDAZOLE 10mM)

- 20 mL de TRIS HCl 1M pH 7,6 (fourni par le laboratoire du Professeur NABET)
- 80 mL d'H_2O stérile
- 0,068 g d'imidazole (BOERhINGER).
- Ajustement au pH 8,8

❒ **Tris Hcl 0,1M pH 8,2**

- Tri-HCl 1 M pH 8 (fourni par le laboratoire du Pr Nabet) 100 mL
- Eau stérile 1000 mL
- Vérifier le pH à 8,2

❒ **Tyramide-Biotine**

↘ **Tampon borate 50mM, pH 8 :**

Acide Borique : 154 mg dans 50 mL d'H_2O stérile.

↘ **NHS-LC Biotine 8,8 M (PIERCE):**

20 mg dans 500 µL de Diméthylformamide.

↘ **Tyramide HCL 7,4 mM (SIGMA) :**

6,4 mg dans 5 mL de tampon Borate.

- Additionner 5 mL de solution biotine et 5 mL de solution tyramine.
- Mélanger avec l'agitateur sur la nuit, à l'abri de la lumière.
- Conserver à 20°C.

UHP - NANCY 1 BIBLIOTHÈQUE MÉDECINE

VU

NANCY, le **27 MARS 2001**
Le Président de Thèse

Professeur **A. DUPREZ**

NANCY, le **27 MARS 2001**
Le Doyen de la Faculté de Médecine

Professeur **J. ROLAND**

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE

NANCY, le **28 MARS 2001**

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY 1

Professeur **C. BURLET**

RÉSUMÉ DE LA THÈSE

Les tumeurs stromales constituent le groupe le plus important des tumeurs gastro-intestinales non épithéliales. Elles possèdent une considérable hétérogénéité phénotypique et leur histogenèse reste incertaine. Récemment, le récepteur c-kit, mis en évidence dans les cellules de ces tumeurs, a été considéré comme un marqueur spécifique de ces lésions. Dans notre étude anatomo-clinique rétrospective, nous avons recherché l'existence d'un immunomarquage des cellules tumorales de nos 62 tumeurs gastro-intestinales par un anticorps anti c-kit. En préambule à cette étude, nous avons recherché, dans divers tissus normaux et tumoraux, le récepteur c-kit avec les méthodes immunohistochimiques les plus sensibles et les plus spécifiques. Ces études ont été réalisées sur des tissus témoins fixés dans du formol ou sur coupes semi-fines pour des tissus inclus en plastique hydrosoluble ou dans l'alcool polyvinylique. Différentes méthodes d'inversion de la fixation ont été pratiquées. La mise en évidence de l'antigène a fait appel à des montages en trois couches utilisant la streptavidine-biotine et à des méthodes d'amplification par la tyramine biotinylée ou par le système Envision™. Avec ces techniques, nous avons pu détecter par immunomarquage le récepteur c-kit dans différents tissus normaux et tumoraux et en particulier dans les cellules des tumeurs stromales. La découverte de ce récepteur dans certaines des tumeurs de notre série nous a permis de distinguer deux groupes. Douze tumeurs qui n'étaient pas marquées par l'anticorps anti c-kit. Nous avons ainsi découverts cinq léiomyomes, un léiomyosarcome, deux schwannomes et quatre tumeurs de phénotype «mésenchymateux». Le deuxième groupe comportait cinquante tumeurs marquées par l'anticorps anti c-kit associé parfois à un marquage par les anticorps anti CD34, anti actine musculaire lisse, anti desmine et anti PS100. Ces cellules possédaient en microscopie électronique quelques organites des myocytes lisses. Au vu de ces différentes constations, le marquage par l'anticorps anti c-kit semble un excellent signe pour le diagnostic des tumeurs stromales. Par ailleurs, son existence dans les cellules de ces tumeurs relancent la discussion de leur origine histogénétique. En proposant comme cellule précurseur une cellule mésenchymateuse indifférenciée pouvant donner naissance aux cellules interstitielles de Cajal ou aux myocytes lisses, une théorie histogénétique uniciste permet de regrouper toutes ces tumeurs. Dans cette perspective, la biologie moléculaire, en mettant en évidence les mutations du gène *c-kit*, pourrait être un élément essentiel pour le diagnostic des tumeurs stromales.

TITRE EN ANGLAIS : C-kit expression in stromal tumors of the gastrointestinal tract. A retrospective study of 62 cases.

THÈSE :
MÉDECINE SPÉCIALISÉE – ANNÉE 2001

MOTS CLEFS : ANATOMIE PATHOLOGIQUE TUMEUR GASTRO-INTESTINALE PROTEINE PROTO-ONCOGENE C-KIT IMMUNOHISTOCHIMIE DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL

INTITULÉ ET ADRESSE DE L'U.F.R. :
Faculté de Médecine de Nancy
9, avenue de la Forêt de Haye
54505 – VANDOEUVRE LES NANCY Cedex