Étude de reproductibilité de la quantification des lymphocytes infiltrants tumoraux et validation d'une méthode par deep learning

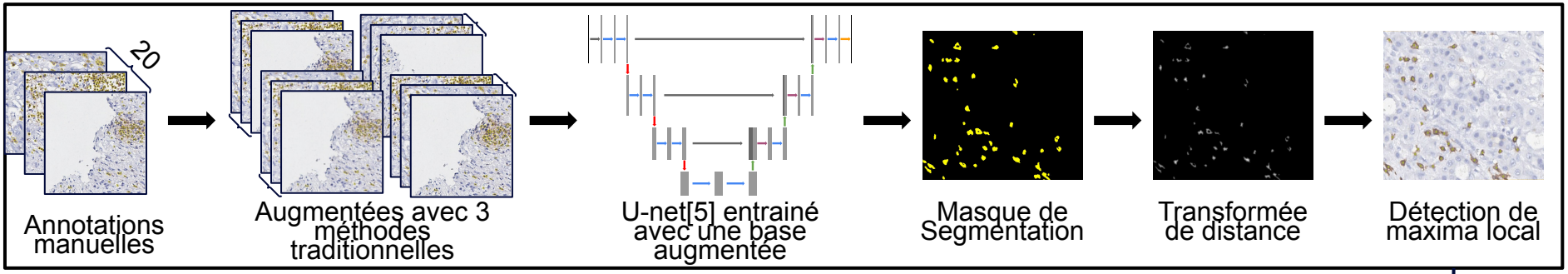
R.GROUSSET (1), R.SIEST (2), R.HAMDI (1), N.STURM (2), C.CLOUCHOUX (1), K.FRANCOIS-BOUAOU (1)
(1) Witsee, Paris, France
(2) Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, CHU Grenoble Alpes, CS 10217, 38043, Grenoble.

Résumé
La réponse immunitaire peut être évaluée par la détermination du nombre et du type de lymphocytes infiltrants tumoraux (*TIL*) présents dans le micro-environnement tumoral. La quantification des *TILs* est chronophage et sujette à une variabilité inter et intra-observateur. La numérisation des lames histologiques permet l'utilisation d'algorithmes d'apprentissage profond pour effectuer ces tâches complexes. Cette étude évalue la reproductibilité de la quantification des *TILs* par des experts et la compare à une méthode automatique par apprentissage profond.
Cinquante-quatre coupes de carcinome hépatocellulaire marquées anti-CD3 ont été numérisées. Un modèle de Unet a été utilisé pour la quantification automatique des TILs. La variance intra-opérateur a été étudiée à 6 mois d'intervalle sur 39 zones de 0.007 cm^2. La variance inter-opérateur a été évaluée par deux experts sur trois régions de 0.1 cm^2.
Pour l'étude intra-opérateur, le coefficient de corrélation intra-classe (*ICC*) montre une concordance de 0.97 avec un intervalle de confiance de [0.94, 0.98]. La méthode automatique reste dans cet intervalle avec un *ICC* de 0.96 comparé avec la moyenne des évaluations manuelles. Pour la validation inter-opérateur, la différence moyenne entre les deux évaluateurs est de 1390±1431 *TILs*. La différence moyenne entre les évaluateurs et la méthode automatique est 1149±822.
Le test inter-observateur montre la forte variabilité, ainsi que la pénibilité, du comptage des *TILs*. La quantification automatique quant à elle permet une faible variabilité et un gain de temps avec une concordance située dans l'intervalle de confiance des pathologistes.

Introduction

Le cancer est la seconde cause de mortalité chez les moins de 70 ans dans plus d'une centaine de pays. D'après les projections actuelles, l'incidence de ce dernier augmenterait de 47 % d'ici à 2040[1]. L'étude du micro-environnement tumoral, constitué des cellules non cancéreuses, du stroma, et des molécules extracellulaires, permet d'étudier les mécanismes de développement des tumeurs[2]. Plus particulièrement, le nombre, le type et la position de lymphocytes infiltrants tumoraux (*TIL*) sont des paramètres déterminants pour le pronostic du patient[3]. La quantification des *TILs* est un processus chronophage et fastidieux, sujet à une variance inter et intra-opérateur[4]. Grâce à la digitalisation de la pathologie, il est possible d'utiliser des réseaux d'apprentissage profond pour les quantifier. Cette étude a pour objectif d'évaluer la variance inter et intra opérateur sur la quantification des *TILs* CD3+, ainsi que la comparaison avec une méthode automatique basée sur l'apprentissage profond.

Matériels et méthodes



Intra-opérateur → 39 zones de 0.007 cm^2 (4 sujets).

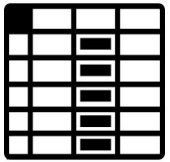
- Première quantification par pathologiste A.
- Deuxième quantification six mois plus tard par pathologiste A.

Inter-opérateur → 3 zones de 0.1 cm^2 (3 sujets).

- Première quantification par pathologiste A.
- Deuxième quantification par pathologiste B.

Étude statistique :

- Test de student.
- Coefficient de corrélation intraclasse (*ICC*).
- Bland & Altman.



Quantification

Résultats

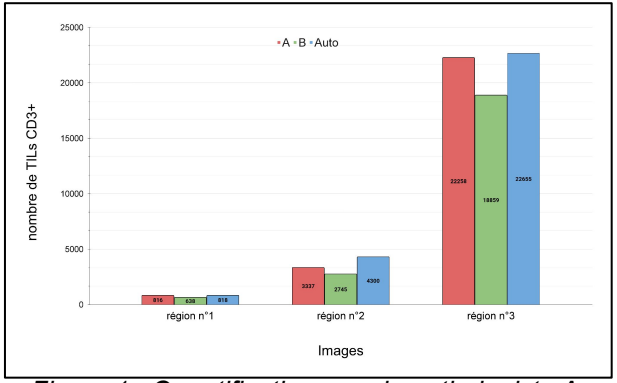


Figure 1 : Quantification pour le pathologiste A, B et la méthode automatique sur trois images

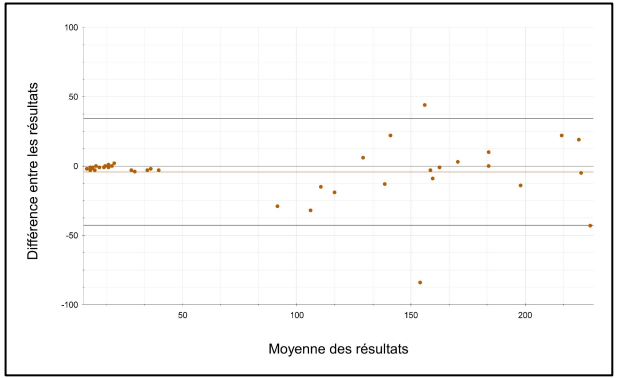


Figure 2 : Bland&Altman Plot entre le pathologiste A et B.

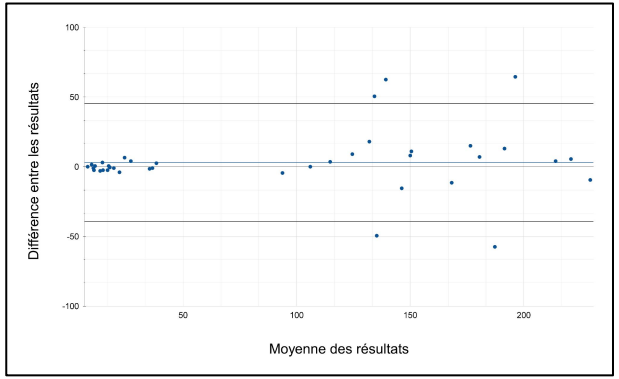


Figure 3 : Bland&Altman Plot entre la moyenne des pathologistes A et B et la méthode automatique.

Pour la validation inter-opérateur, la différence moyenne entre les deux évaluateurs est de 1390±1431 *TILs* (8804±9569 pour l'opérateur A et 7414±8138 pour pathologiste B). La différence moyenne entre les évaluateurs et la méthode automatique est 1149±822 avec une moyenne 9258±9579 *TILs* comptés pour la méthode automatique *(Figure 1).*
Pour l'étude intra-opérateur, le coefficient de corrélation intra-classe (*ICC*) montre une concordance de 0.97 entre les opérateurs avec un intervalle de confiance de [0.94, 0.98]. La méthode automatique reste dans cet intervalle avec un *ICC* de 0.96 comparé avec la moyenne des évaluations manuelles. Les Bland&Altmans permettent de mettre en évidence le lien entre la différence de quantification pour les méthodes et le nombre de lymphocytes par image *(Figure 1&2).*

Discussion et conclusion

L'étude de reproductibilité inter-opérateur a mis en évidence l'existence d'une forte variance entre opérateurs. La quantification manuelle des *TILs* CD3+ a nécessité un temps moyen de 143±150 min, variant en fonction du nombre de *TILs* CD3+ par image. Contrairement à la méthode automatique qui nécessite un temps quasi constant de 10±1 min. La méthode automatique est reproductible et permet un gain de temps considérable tout en restant cohérente avec les quantifications des experts.

Références

[1]Sung, Hyuna, et al. *CA: a cancer journal for clinicians* 71.3 (2021).
[2]Li, Hanchen, et al. *Journal of cellular biochemistry* 101.4 (2007).
[3]Junttila, Melissa R et al. *Nature* 501.7467 (2013).
[4]Cross, S. S. *Histopathology* 33.2 (1998).
[5]Ronneberger, et al. *MICCAI* (2015).

Variation de l'expression des récepteurs hormonaux et de Her-2 au cours de l'évolution des carcinomes mammaires dans le sud Tunisien

M. Mellouli (1), S. Graja (1), S. Makni (1), M. Triki (1), T. Boudawara (1), M. Bouhamed (1), O. Boudawara (1)
Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques, CHU Habib Bourguiba, 3029 Sfax, Tunisie

Introduction: Le phénotype immunohistochimique des carcinomes mammaires métastatiques peut être différent de celui du carcinome mammaire primitif (CMP). L'étude de cette variation est primordiale tant sur le plan thérapeutique que pronostique.

Objectifs: Déterminer le taux de variation des statuts des récepteurs hormonaux (RH) et de Her-2 entre les CMP et leurs métastases ainsi que son impact pronostique. **Matériels et méthodes:** Il s'agit d'une étude rétrospective incluant les patientes atteintes de cancer de sein métastatique colligées dans notre laboratoire et le service d'oncologie médicale du CHU Habib Bourguiba de Sfax sur une période de 13 ans (2009-2021). **Résultats:** Notre étude a inclus 68 patientes. Les taux de variation étaient de 29,4% et 39,7% pour les récepteurs à l'œstrogène (RO) et la progestérone (RP) respectivement. Cette variation était significative (p<0,001 pour RO et RP). La perte d'expression de ces récepteurs au cours de l'évolution métastatique était la variation la plus fréquente. L'étude de la variation du statut Her-2 était menée chez 56 patientes. Le taux de conversion était de 19,6%. La conversion négative du statut Her-2 était observée dans 6 cas, la conversion positive était observée dans 5 cas. La discordance du statut RH semblait être plus fréquente en cas d'évaluation du statut RH du CMP sur une pièce de mammectomie (p=0,06). La discordance du statut Her-2 était significativement associée au groupe moléculaire (RH-/Her- 2+) du CMP (p=0,03) et à la prise de Trastuzumab (p=0,02). La conversion négative de l'expression des RH était un facteur de mauvais pronostic indépendant en termes de survie globale (SG) (p=0,042) et de survie globale après-métastase (SGM) (p<0,001). La conversion positive des RH entre le CMP et sa rechute métastatique n'avait pas d'impact pronostique sur la SG (p=0,6) et la SGM (p=0,4). L'impact pronostic de la discordance du statut Her-2 n'a pas été prouvé ni pour la SG (p=0,3) ni pour la SGM (p=0,4). **Discussion**: Dans la littérature, le taux de conversion était de 7,3% à 51,2% pour les RO et de 26,6% à 35,6% pour les RP. Ce taux variait de 0 à 34% pour Her-2, ce qui indique un certain degré d'homogénéité dans l'expression de Her-2. Les études antérieures ont prouvé que la discordance du profil immunohistochimique entre le CMP et la métastase correspondante peut affecter la survie des patientes et que l'effet de la variation de l'expression des RH est plus important que celui de Her-2. Deux principales explications justifient la modification du phénotype immunohistochimique des CMP : les conditions pré-analytiques et analytiques et l'hétérogénéité des cellules tumorales du CMP. **Conclusion:** La démonstration d'une variation immunophénotypique des carcinomes mammaires, incite à réaliser une biopsie des métastases et de tester les RH et Her-2 afin d'optimiser la conduite thérapeutique.

Introduction :

Le phénotype immunohistochimique des carcinomes mammaires métastatiques peut être différent de celui du carcinome mammaire primitif (CMP).

➡ Etude de cette variation est primordiale tant sur les plans: thérapeutique et pronostique.

Matériel et méthodes :

*Etude rétrospective .

•Patientes atteintes de cancer de sein métastatique colligées dans notre laboratoire et le service d'oncologie médicale du CHU Habib Bourguiba de Sfax

* Nombre de cas : 68 patientes

*Période d'étude: 13 ans: (2009-2021).

*Etude statistique: (logiciel SPSS20).

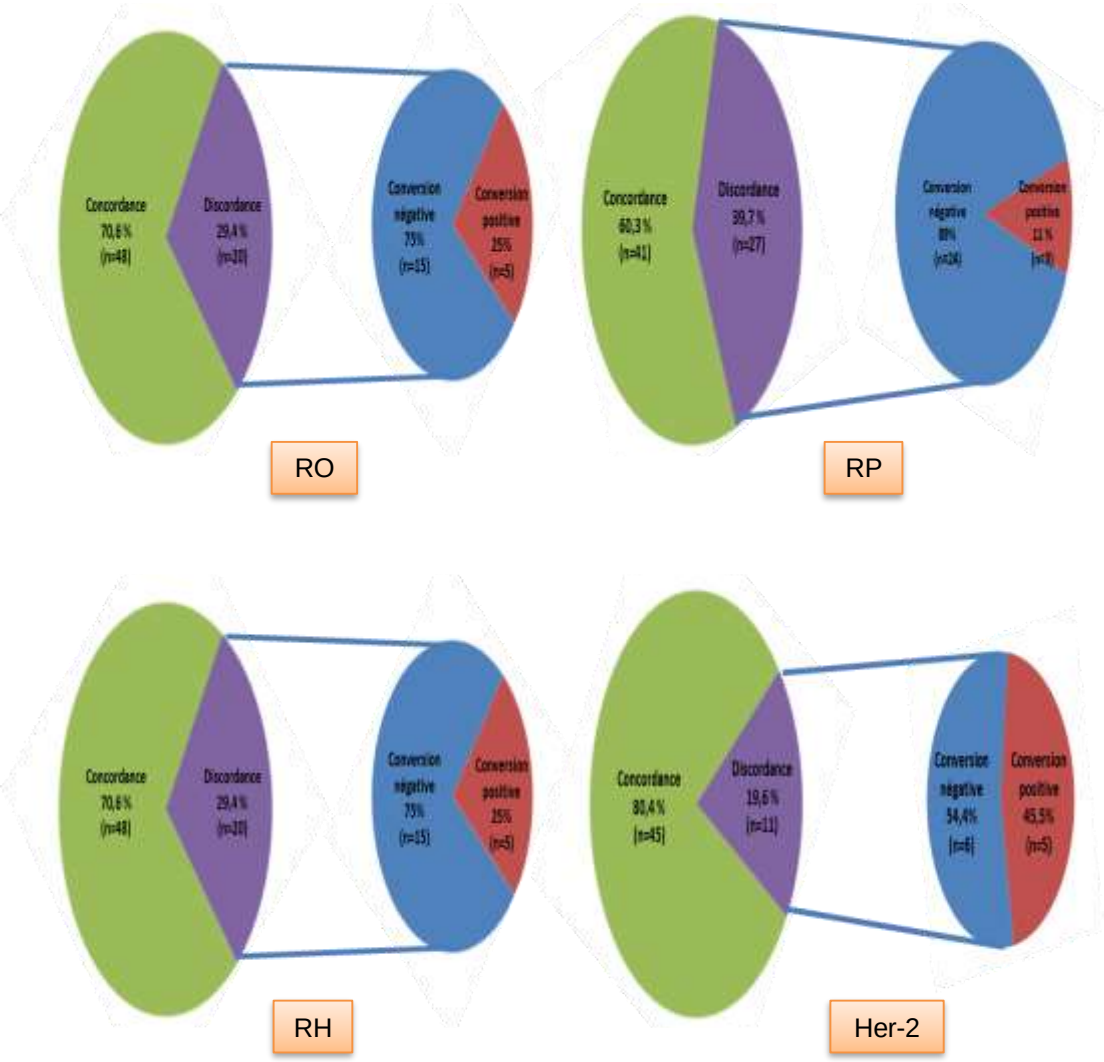


Figure 1: Variation de l'expression des RO, RP, RH et Her-2 entre les CMP et leur rechute métastatique

Résultats :

Taux de variation pour les récepteurs à l'œstrogène (RO): 29,4%.
Taux de variation pour les récepteurs à la progestérone (RP): 39,7%.

- ➡ variation significative : **p<0,001** pour RO et RP .
- ➡ **perte d'expression** +++

Etude de la variation du statut Her-2 : 56 patientes.

- ➡ taux de conversion :19,6%.

Discordance du statut RH : plus fréquente en cas d'évaluation du statut RH du CMP sur une pièce de mammectomie (p=0,06).

Discordance du statut Her-2: significativement associée:

- au groupe moléculaire (RH-/Her- 2+) du CMP (p=0,03)
- à la prise de Trastuzumab (p=0,02).

Conversion négative de l'expression des RH: facteur de mauvais pronostic indépendant en termes de survie globale (SG) (p=0,042) et de survie globale après-métastase (SGM) (p<0,001).
Conversion positive des RH entre le CMP et sa rechute métastatique : pas d'impact pronostique sur la SG (p=0,6) et la SGM (p=0,4).
Impact pronostic de la discordance du statut Her-2: non prouvé pour la SG (p=0,3) et pour la SGM (p=0,4).

Discussion et conclusion:

Taux de conversion dans la littérature:

RO: 7,3- 51,2%
RP: 26,6-35,6%
Her-2: 0 -34%
} *Homogénéité dans l'expression de Her-2*

Discordance du profil immunohistochimique entre le CMP et la métastase correspondante peut affecter la survie des patientes
La variation de l'expression des RH est plus important que celui de Her-2.
Explications : conditions pré-analytiques et analytiques + hétérogénéité des cellules tumorales du CMP.

- ➡ Réaliser une biopsie des métastases
- ➡ Tester les RH et Her-2 sur les métastases

} *Optimiser la conduite thérapeutique*

Références:
1-Shiino S, Ball G, Syed BM, Kurozumi S, Green AR, Tsuda H, et al. Prognostic significance of receptor expression discordance between primary and recurrent breast cancers: a meta-analysis. Breast Cancer Res Treat 2022;191(1):1–14.
2-Grinda T, Joyon N, Lusque A, Lef`evre S, Arnould L, Penault-Llorca F, et al. Phenotypic discordance between primary and metastatic breast cancer in the large-scale real-life multicenter french ESME cohort. NPJ Breast Cancer. 2021;7(1):41.

46es ASSISES de PATHOLOGIE PAU

Classification moléculaire des adénocarcinomes gastriques: série de cas et revu de la littérature

S. MOUKHLIS , M.DELLAHI (1), N. BENNANI (1), M. REGRAGUI (1), A. MAZTI (1), S. BENAYAD (1), F. MARNISSI (1), M. KARKOURI (1)

(1) Département de pathologie anatomique, Centre Hospitalier Universitaire Ibn Rochd, Université Hassan II de Casablanca, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc

Le cancer gastrique est l'un des cancers les plus répondus et la 3ème cause de mortalité liée au cancer dans le monde et la 4ème cause de décès par cancer au Maroc . Son pronostic est en général sombre, mais il s'est notablement amélioré au cours de ces dernières années grâce à l'avènement des thérapies ciblées comme l'anti-HER2.

Des classifications basées sur le profil moléculaire des cancers gastriques ont été suggérées dernièrement pour établir plusieurs sous groupes de cancer gastrique liés à des caractéristiques cliniques et moléculaires distinctes.

En raison de la variabilité du pronostic au sein du même sous-type moléculaire il existe un intérêt croissant pour la recherche de biomarqueurs spécifiques afin d'identifier des sous-groupes de patients plus agressifs, d'où l'intéret porté par notre étude.

Introduction

L'adénocarcinome gastrique reste l'une des dix premières causes mondiales de mortalité avec un pronostic péjoratif. Au Maroc, il représente la 4 -ème cause de décès par cancer. Parmi les principaux facteurs de risque on note l'infection à l'Helicobacter Pylori, l'infection à EBV, certains facteurs alimentaires, une histoire familiale de cancer gastrique ainsi qu'une prédisposition génétique. La chirurgie reste le seul traitement curatif des adénocarcinomes gastriques, la chimiothérapie et la radio-chimiothérapie peuvent améliorer le pronostic qui reste défavorable.

Le but de cette étude est l'identification du sous-typage moléculaire de l'adénocarcinome gastrique par Immunohistochimie (IHC) et Hybridation in situ, chez des patients atteints d'adénocarcinomes gastriques traités à visée curative.

Matériel et méthodes

Il s'agit d'une étude rétrospective d'une série de cas (11 cas) sur une période d'un 1 an et 5 mois, du Mars 2021 et Aout 2022 réalisée aux niveaux des services d'anatomopathologique, de Chirurgie Viscérale (Aile 3), d'Urgences Viscérales (P35) et d'oncologie de CHU Ibn Rochd Casablanca.

Tous les tissus ont été fixés dans le formol tamponné à 10°.Les grades et stades pTNM ont été déterminé pour chaque pièce opératoire.

L'identification des sous-groupes des adénocarcinomes gastriques s'est basée sur l'expression de E-cadhérine, p53, protéines MismatchRepair (MMR), HER2 et le statut du virus Epstein Barr (EBV) par Immunohistochimie (IHC) et Hybridation in situ.

Caractéristiques clinico-histologiques.	EBV (+)	MSI (+)	E-cadhérine (-)	P53 muté	HER2 (-)
Age moyen (ans)	50	62	65,5	57,42	57,27
Sexe M	100%	100%	50%	57,14%	63,63%
F	0%	0%	50%	42,85%	36,37%
Site tumoral : Sup	100%	66,66%	0%	28,57%	9,09%
Moyen	0%	0%	0%	0%	27,27%
Inf	0%	33,33%	50%	42,85%	45,45%
Entier	0%	0%	50%	28,57%	18,18%
Gastrectomie Totale	100%	66,33%	50%	57,14%	54,54%
Gastrectomie subtotale	0%	33,33%	50%	42,85%	45,45%
Taille moyenne de la tumeur (cm)	5	8,33	13,35	10,55	10,5
Type Lauren : Intestinal	0%	66,66%	0%	28,57%	45,45%
Type Lauren : mixte/ diffus	100%	33,33%	100%	71,42%	54,54%
Invasion tumorale : pT1 /pT2	100%	0%	0%	0%	9,09%
Invasion tumorale : pT3/pT4	0%	100%	100%	100%	90,91%
pN négatif	100%	33,33%	0%	14,28%	36,36%
pN positif	0%	66,66%	100%	85,71%	63,64%
Survie à 6 mois	100%	100%	100%	100%	90,90%
Survie à 12 mois	100%	33,33%	50%	85,71%	77,77%

Résultats

-Dans notre étude moléculaire, on a objectivé une absence de surexpression de HER2 chez 100% des patients, une instabilité des microsatellites (MSI) chez 27,27% des cas, un p53 muté chez 63,63%, une immunoexpression de la protéine E-cadhérine conservée chez 81,81% et une présence du virus EBV chez 9,09%.

-Les caractéristiques clinico-pathologiques associées aux soustypes de cancer gastrique ont été mises en évidence. L'âge jeune était associé au sous type EBV+, une prédominance masculine chez tous les sous-groupes sauf chez les patients ayant une absence d'expression de E-cadhérine (-), une localisation proximale chez les patients EBV (+) et ayant MSI (+), une moyenne de taille tumorale élevée chez les patients E-cadhérine (-), un type histologique diffus/mixte prédominant chez tous les sous-groupes sauf chez les patients MSI (+), des stades localisés chez les malades EBV(+) ainsi qu'une mauvaise survie 12 mois chez les patients ayant MSI (+) par rapport aux sous-types EBV (+), p53 muté, E cadhérine (-) et HER2 (-).

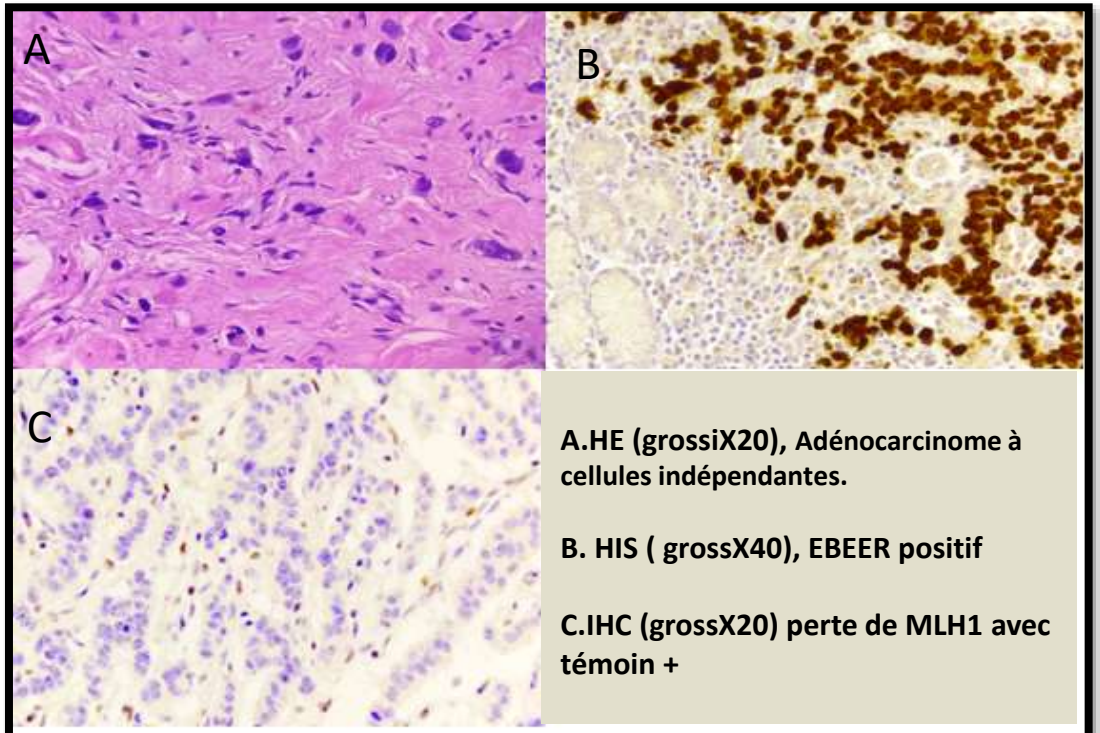
Discussion et conclusion

La classification moléculaire des cancers gastriques a considérablement progressé ces dernières années, permettant ainsi de les classer en plusieurs sous-types moléculaires. La classification la plus récente proposée par l'Asian Cancer Research Group (ACRG), a établi quatre sous-types moléculaires également :

- Les tumeurs stables au niveau des microsatellites avec un TP53 intact (MSS/TP53+)
- Les tumeurs gastriques à forte instabilité des microsatellites (MSI-high)
- Les tumeurs stables au niveau des microsatellites et exprimant des signatures de transition épithélialemésenchymateuse (MSS/EMT).
- Les tumeurs stables au niveau des microsatellites avec mutations du TP53 (MSS/TP53-).

Cette classification a permi ainsi une meilleure caractérisation pronostique des différents sous-types moléculaires(100). Ainsi, les patients présentant un cancer gastrique MSI-high ou MSS/TP53+ (souvent associé à l'infection EBV) avaient une survie plus longue que ceux présentant le sous-type MSS/EMT ou autres (99).

➔**Au total, l**'analyse moléculaire par immunohistochimie et hybridation in situ a permis de distinguer des groupes immunophénotypiques de cancer gastrique avec des caractéristiques clinico-histologiques distincts ainsi que la survie, pour permettre une définition plus facile des sous-types de cancer gastrique dans la pratique clinique quotidienne, contribuant ainsi à la planification thérapeutique et guidant ainsi la thérapie ciblée et le traitement individualisé.



A.HE (grossiX20), Adénocarcinome à cellules indépendantes.

B. HIS (grossX40), EBEER positif

C.IHC (grossX20) perte de MLH1 avec témoin +

Références

1.Ramos MFKP, Pereira MA, de Mello ES, Cirqueira CDS, Zilberstein B, Alves VAF, Ribeiro-Junior U, Cecconello I. Gastric cancer molecular classification based on immunohistochemistry and in situ hybridization: Analysis in western patients after curative-intent surgery. World J Clin Oncol 2021; 12(8): 688-701 [PMID: 34513602 DOI: 10.5306/wjco.v12.i8.688].

2. Ferlay J, Ervik M, Lam F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, Znaor A, Soerjomataram I, Bray F. Observatoire mondial du cancer : Cancer Today. (2020)

3. Ali Chamssedine. Analyse de l'efficacité et de la toxicité de l'irinotecan : Métaanalyses sur données individuelles dans le cancer gastrique avancé ou métastatique. Développements cliniques et méthodologiques. Thèse Méd, Paris 2021

4. Rajesh PD, Garima M, Sharayu M. Epidemiological review of gastric cancer in India. Indian J Med Paediatr Oncol 2011;32:3—11.

L'Immunoscore dans les carcinomes colorectaux : La combinaison de 2 marqueurs (CD3 et CD8) permet-elle une meilleure prédiction de la survie ?

Khouloud ben lazreg, Imen helal, Amira Hmidi, Fatma khanchel, Raoueh Hedhli, Ehsen Ben brahim, Raja Jouini, Achraf Chadli-Debbiche.

Service d'anatomie et cytologie pathologiques, hôpital Habib Thameur, Tunis, Tunisie.

Résumé:

Le consensus de validation de l'immunoscore (IS), élaboré en 2018, recommande l'utilisation de deux marqueurs lymphocytaires CD3 et CD8 dans deux régions tumorales : le centre de la tumeur (CT) et la marge d'invasion (MI). L'Objectif de notre étude était de comparer la valeur pronostique de l'analyse de la densité de deux marqueurs lymphocytaires (CD3 et CD8) par rapport à un seul marqueur CD3 seul ou CD8 seul.

Pour cela nous avons effectué une étude rétrospective portant sur 104 cas de CCR. Une étude immunohistochimique (anti-CD3, anti-CD8), élaborée par la technique du tissu microarray (TMA), a été effectuée au niveau des zones de hot spot dans les deux régions CT et MI. La densité des lymphocytes était classée en faible et élevée selon un cut-off correspondant à la médiane des pourcentages pour chaque marqueur et dans chacune des deux régions étudiées. Les patients sont divisés en trois groupes selon la densité des lymphocytes : groupe 1 (faible densité de CD3 et CD8), groupe 2 (hétérogène) et groupe 3 (densité élevée de CD3 et CD8). Une étude de survie a été munie à l'aide du logiciel SPSS version 25.

En analyse univariée suivant la méthode de kaplan-Meier, Les deux densités lymphocytaires CD3+ (MI/CT) et CD8+ (MI/CT) étaient corrélées à la survie globale (SG) avec respectivement un $p<0.0001$ et un $p=0.001$. La combinaison des deux marqueurs était fortement corrélée à la SG avec un $p<0.0001$.

Dans notre étude, nous avons montré que l'étude du CD3 seul ou la combinaison des 2 marqueurs CD3 et CD8 avaient la même valeur pronostique (p) qui était supérieure à l'étude du CD8 seul ($p=0.001$). L'utilisation du CD3 seul pourrait être suffisante. Des études à plus large échelle seraient nécessaires pour confirmer ces résultats.

Introduction

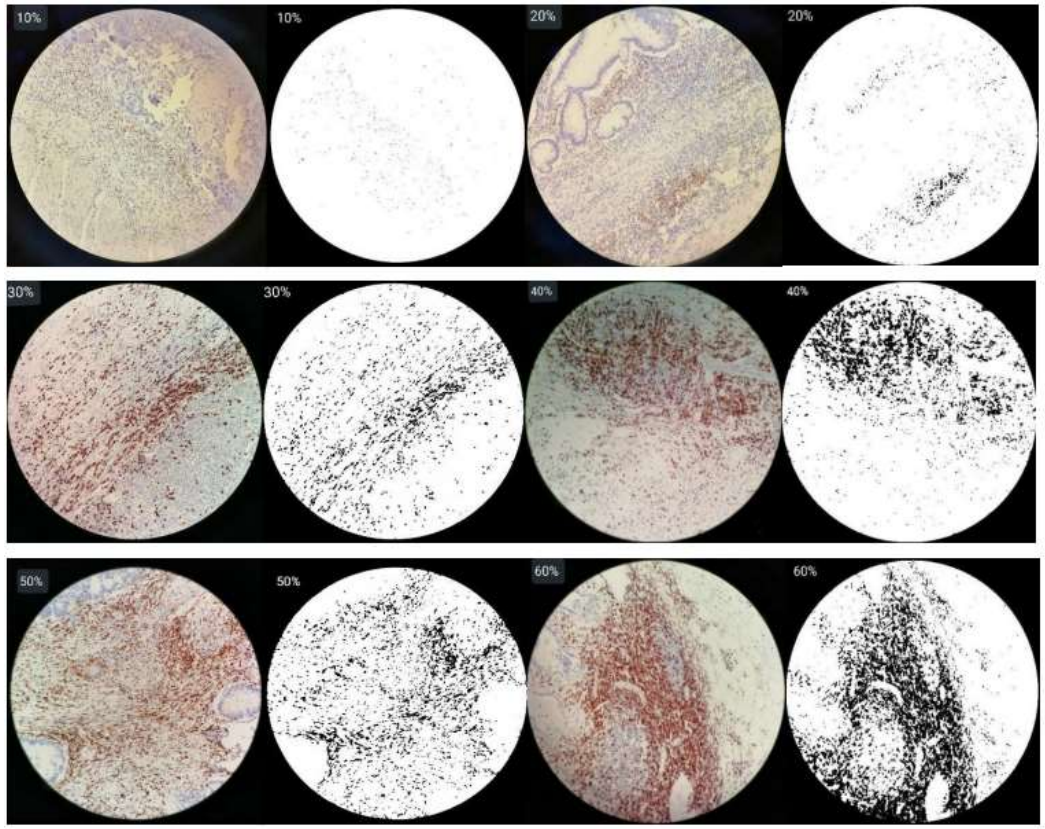
- L'immunoscore (IS) est un test immunitaire qui a été récemment validé comme étant un facteur pronostique indépendant dans les carcinomes colorectaux(CCR).
- Le consensus de validation de l'IS, élaboré en 2018, recommande l'utilisation de deux marqueurs lymphocytaires CD3 et CD8 dans deux régions tumorales : le centre de la tumeur (CT) et la marge d'invasion (MI)
- **OBJECTIF : COMPARER LA VALEUR PRONOSTIQUE DE L'ANALYSE DE LA DENSITÉ DE DEUX MARQUEURS LYMPHOCYTAIRES (CD3 ET CD8) PAR RAPPORT À UN SEUL MARQUEUR CD3 SEUL OU CD8 SEUL.**

Matériel et Méthodes

- **Etude rétrospective**
- **104 patients** porteurs de CCR primitif, tous stades confondus, sur une période de 3 ans
- Pour chaque cas : Sélection des foyers ou la densité lymphocytaire est la plus élevée « hot spot » au niveau du CT et de la MI.
- Elaboration des **puces micro-tissulaires** à partir des foyers sélectionnés
- Etude immunohistochimique sur les lames TMA utilisant **les anticorps anti CD3 et anti CD8.**
- Nous avons procédé à **une méthode semi-quantitative** pour l'évaluation de la densité des lymphocytes (figure1)
- Des photos ont été prises pour chaque cas, dans chaque région et pour chaque marqueur dans la zone où l'infiltrat lymphocytaire était maximal au grossissement x200.
- Pour chaque photo, un pourcentage a été attribué.
- La **densité lymphocytaire (DL)** est classée en faible « low » et élevée « high » selon un cut-off correspondant à la médiane des pourcentages pour chaque marqueur et dans chacune des deux régions étudiées
- Pour chaque marqueur et en combinant les 2 marqueurs, 3 groupes ont été identifiés

DL CD3(MI+CT)	DL CD8(MI+CT)	DL CD3+CD8(MI+CT)
Faible (Low+Low)	Faible (Low+Low)	Faible (Low+Low)
hétérogène	hétérogène	hétérogène
Élevée(High+High)	Élevée(High+High)	Élevée(High+High)

- Etude **de survie globale selon la méthode de Kaplan Meier**



TILs : Lymphocytes infiltrants la tumeur

figure1: Evaluation semi-quantitative de la densité des TILs CD3+ sur des photographies d'immunohistochimie, prises au grossissement x 200

Résultats

- ✓ **104 patients** : **57,7%** hommes et **42,3%** femmes, avec un sex-ratio de **1,36**
- ✓ Age moyen : **61,6** ans avec des extrêmes de 20 et de 89 ans
- ✓ Densité lymphocytaire (DL) dans les différentes régions : précisée dans le tableau
- ✓ Etude de survie : réalisée chez 88 patients, 12 perdus de vue
- ✓ Les deux densités lymphocytaires CD3+ (MI/CT) et CD8+ (MI/CT) étaient corrélées à la survie globale (SG) avec respectivement un p<0.0001 et un p=0.001. La combinaison des deux marqueurs était fortement corrélée à la Survie globale avec un p<0.0001.

	faible	hétérogène	élevée	Corrélation avec la survie
DL CD3	31.7%	32.7%	35.6%	Oui avec P<0,0001
DL CD8	26.9%	41.3%	31.7%	Oui avec P=0,001
DL CD3+CD8	19.2%	57.7%	23.1%	Oui avec P<0,0001

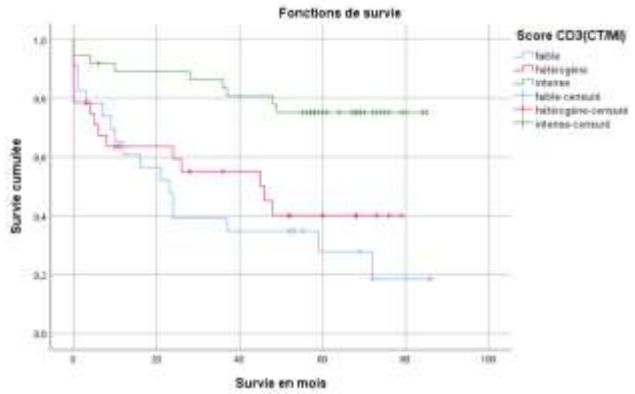


Figure 2 : courbes de survie des patients opérés pour un CCR selon la densité CD3 au niveau du CT+MI

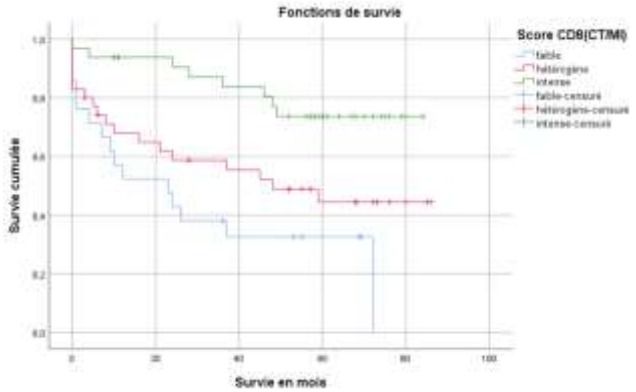


Figure 3 : courbes de survie des patients opérés pour un CCR selon la densité CD8 au niveau du CT+MI

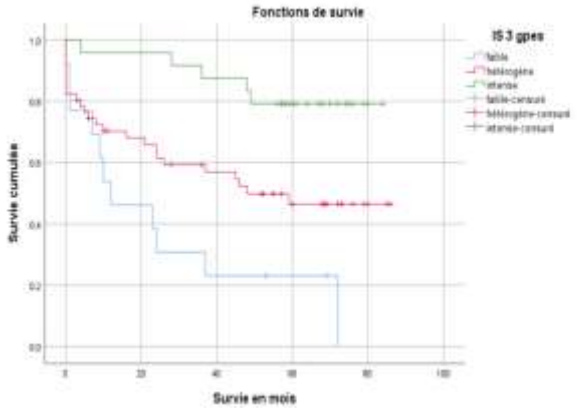


Figure 4 : courbes de survie des patients opérés pour un CCR selon la densité CD3 et CD8 au niveau du CT+MI

Discussion

- IS : test immunitaire validé en 2018 dans un consensus international comme un facteur pronostique puissant et indépendant dans les CCR de stade I-III.
- IS : basé sur l'évaluation de la densité des lymphocytes CD3+ et CD8+ dans 2 régions tumorales (CT+MI)
- Selon les études, la combinaison des deux marqueurs CD3 et CD8 permet d'améliorer la prédiction de la survie.
- Dans notre étude, nous avons montré que l'étude du CD3 seul ou la combinaison des 2 marqueurs CD3 et CD8 avaient la même valeur pronostique (p) qui était supérieure à l'étude du CD8 seul (p=0.001).
- Des études à plus large échelle seraient nécessaires pour confirmer ces résultats.

Référence:
Galon J, Lanzi A. Immunoscore and its introduction in clinical practice. Q J Nucl Med Mol Imaging. 2020 Jun;64(2):152-161.

Evaluation inter-laboratoire de la qualité technique des marquages IHC pour NKX3.1 dans la prostate

Résultats de l'essai d'aptitude 2022 de l'AFAQAP

C. BOISSY (1-2), JF. MICHIELS (2-3), C. EGELE (2), JP. BELLOCQ (2-4)

(1) Médipath, 83600 Fréjus, France

(2) AFAQAP, Hôpital de Hautepierre, 67098 Strasbourg, France

(3) Laboratoire Central d'Anatomie Pathologique, CHU de Nice, 06002 Nice Cedex 1, France

(4) Département de Pathologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, 67098 Strasbourg, France

Introduction - L'immunomarquage anti NKX3.1 est un marqueur utile pour déterminer l'origine prostatique d'une tumeur. L'AFAQAP a organisé en 2022 un premier essai d'aptitude inter-laboratoire évaluant la qualité technique du marquage NKX3.1 à l'échelon national.

Objectif - Il visait à identifier les protocoles inadaptés ou sub-optimaux, et à proposer au besoin des recommandations.

Méthode - Les participants ont eu à techniquer selon leur protocole de routine une lame blanche comportant 3 échantillons tissulaires : de prostate normale, d'adénocarcinome prostatique et de vésicule séminale. La prostate normale était attendue fortement positive dans 100% des cellules épithéliales, l'adénocarcinome prostatique fortement positif dans 90% des cellules tumorales et la vésicule séminale négative. Les résultats étaient classés en 4 groupes : optimal, bon, moyen (limite/passable/acceptable) et insuffisant.

Résultats - Les structures participantes étaient au nombre de 25. Un marquage adéquat (optimal ou bon) sur les 3 échantillons a été obtenu par 88% des participants. Trois participants (12%) ont eu un résultat de qualité moyenne sur 1 ou 2 des 3 échantillons. Il n'y a pas eu de résultats insuffisants.

Dans la **prostate normale**, le taux de marquage adéquat était de 92%, seuls 2 participants (8%) ayant obtenu un résultat moyen lié à un marquage trop faible. Ces 2 participants, plus un troisième (3/25, 12%) ont obtenu un marquage moyen, trop faible, sur l'**adénocarcinome prostatique**. A noter que tous les participants au test ont obtenu une absence de marquage dans la **vésicule séminale**, comme attendu.

Un seul clone a été utilisé : le clone EP356 de 5 origines différentes : 11 participants se sont fournis chez BioSB, 9 chez Roche-Ventana, 2 chez Epitomics, 2 chez Cell Marque, et 1 chez Zeta Corporation. Parmi les 11 utilisateurs du clone EP356 de BioSB, 8 ont eu un résultat adéquat (optimal ou bon) : sur plateforme Agilent-Dako Autostainer (1/1 utilisateur), Agilent-Dako Omnis (2/2), Leica (3/3) et Roche-Ventana (2/5). Pour 3 des 5 utilisateurs de la plateforme Roche-Ventana, un résultat moyen a été obtenu lorsque le clone était utilisé en format pré-dilué.

Le clone EP356 Roche-Ventana, utilisé 9 fois sur plateforme Roche-Ventana, a donné 100% de résultats adéquats.

De même, les clone Epitomics (1x sur Leica et 1x sur Roche-Ventana), Cell Marque (1x sur Agilent-Dako Omnis et 1x sur Roche-Ventana), et Zeta Corporation (1x sur Leica) ont donné 100% de résultats adéquats.

Discussion / Conclusion - L'essai d'aptitude IHC NKX3.1 de 2022 de l'AFAQAP a montré une qualité technique satisfaisante du marquage de NKX3.1 chez 88% des participants, et moyenne chez 12% d'entre eux. Il n'y a pas eu de faux-positifs. La prostate normale est un bon témoin pour calibrer l'IHC NKX3.1. Les recommandations techniques proposées aux quelques structures ayant obtenu un résultat moyen devraient leur permettre de parfaire leur technique.

Introduction

L'immunomarquage anti NKX3.1 est un marqueur utile pour déterminer l'origine prostatique d'une tumeur. L'AFAQAP a organisé en 2022 un premier essai d'aptitude inter-laboratoire évaluant la qualité technique du marquage NKX3.1 à l'échelon national.

Objectif

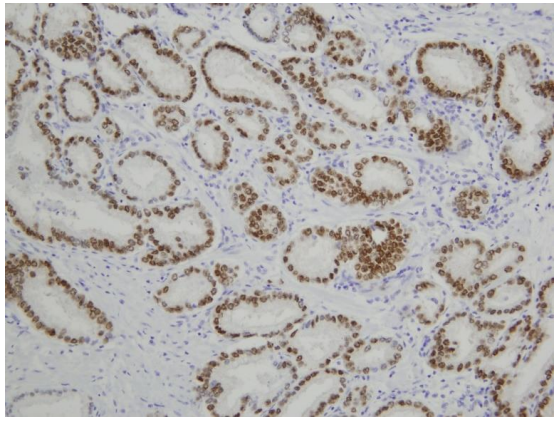
Il visait à identifier les protocoles inadaptés ou sub-optimaux, et à proposer au besoin des recommandations.

Méthode

Les participants ont eu à techniquer selon leur protocole de routine une lame blanche comportant 3 échantillons tissulaires : de **prostate normale**, d'**adénocarcinome prostatique** et de **vésicule séminale**.

La prostate normale était attendue fortement positive dans 100% des cellules épithéliales, l'adénocarcinome prostatique fortement positif dans 90% des cellules tumorales et la vésicule séminale négative.

Les résultats étaient classés en 4 groupes : optimal, bon, moyen (limite/passable/acceptable) et insuffisant.



ADK prostatique

NKX3.1	
Cas 1	Prostate normale : marquage intense de 100% des cellules épithéliales
Cas 2	ADK prostatique : marquage intense de 90% des cellules tumorales et de 100% des cellules épithéliales dans le tissu normal
Cas 3	Vésicule séminale : absence de marquage

Résultats

Les structures participantes étaient au nombre de 25.

Un marquage adéquat (optimal ou bon) sur les 3 échantillons a été obtenu par 88% des participants. Trois participants (12%) ont eu un résultat de qualité moyenne sur 1 ou 2 des 3 échantillons. Il n'y a pas eu de résultats insuffisants.

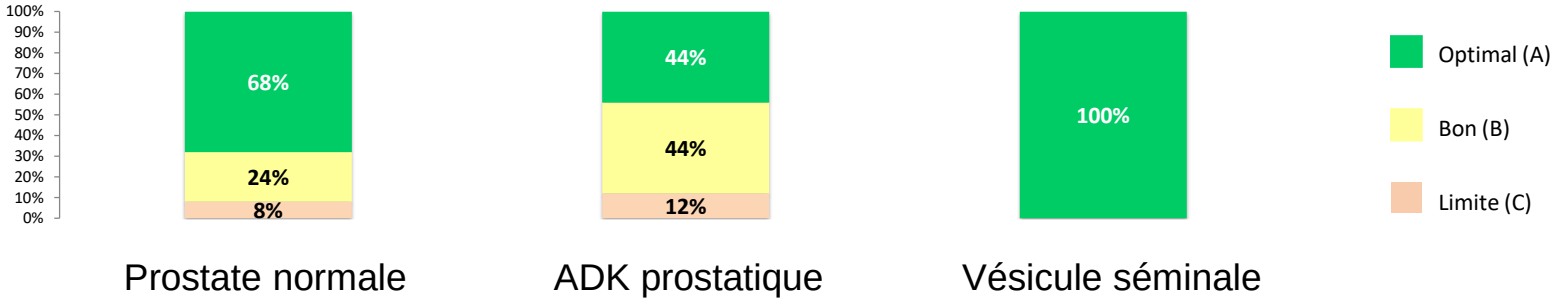
Dans la **prostate normale**, le taux de marquage adéquat était de 92%, seuls 2 participants (8%) ayant obtenu un résultat moyen lié à un marquage trop faible. Ces 2 participants, plus un troisième (3/25, 12%) ont obtenu un marquage moyen, trop faible, sur l'**adénocarcinome prostatique**. A noter que tous les participants au test ont obtenu une absence de marquage dans la **vésicule séminale**, comme attendu.

Un seul clone a été utilisé : le clone EP356 de 5 origines différentes : 11 participants se sont fournis chez BioSB, 9 chez Roche-Ventana, 2 chez Epitomics, 2 chez Cell Marque, et 1 chez Zeta Corporation.

Parmi les 11 utilisateurs du clone EP356 de BioSB, 8 ont eu un résultat adéquat (optimal ou bon) : sur plateforme Agilent-Dako Autostainer (1/1 utilisateur), Agilent-Dako Omnis (2/2), Leica (3/3) et Roche-Ventana (2/5). Pour 3 des 5 utilisateurs de la plateforme Roche-Ventana, un résultat moyen a été obtenu lorsque le clone était utilisé en format pré-dilué.

Le clone EP356 Roche-Ventana, utilisé 9 fois sur plateforme Roche-Ventana, a donné 100% de résultats adéquats.

De même, les clone Epitomics (1x sur Leica et 1x sur Roche-Ventana), Cell Marque (1x sur Agilent-Dako Omnis et 1x sur Roche-Ventana), et Zeta Corporation (1x sur Leica) ont donné 100% de résultats adéquats.



Discussion et conclusion

L'essai d'aptitude IHC NKX3.1 de 2022 de l'AFAQAP a montré une **qualité technique satisfaisante du marquage de NKX3.1 chez 88% des participants**, et moyenne chez 12% d'entre eux. Il n'y a pas eu de faux-positifs. La prostate normale est un bon témoin pour calibrer l'IHC NKX3.1. Les recommandations techniques proposées aux quelques structures ayant obtenu un résultat moyen devraient leur permettre de parfaire leur technique.

En 2023, les comptes rendus structurés *Impulsion* passent en phase d'expérimentation nationale sur sites d'ACP pilotes

JP. BELLOCQ (1), D. FETIQUE (1), F. PAPST (2)
(1) AFAQAP, Hôpital de Hautepierre, 67098 Strasbourg, France
(2) WEDODEV, 67000 Strasbourg, France

Contexte – Après la phase d'élaboration de modèles de comptes rendus structurés et standardisés couvrant à terme l'ensemble de l'histo-pathologie et de la cyto-pathologie, le programme *Impulsion* démarre en 2023 sa phase de test sur sites d'ACP volontaires, selon une méthodologie proposée par l'AFAQAP.

Objectif – Dans un esprit de **co-construction** avec la spécialité, cette étape essentielle vise à éprouver l'adéquation des modèles ainsi que la solution logicielle de saisie de comptes rendus *PULSE* aux besoins quotidiens des pathologistes, quel que soit leur mode d'exercice.

Méthodologie – Les pathologistes impliqués accèdent en avant-première à l'application et s'engagent à tester plusieurs modèles selon la méthodologie suivante : sélectionner dans son SGL 5 comptes rendus (ou plus) par modèle à tester, tenter de ressaisir 100% des informations qui y figurent via le formulaire de compte rendu *PULSE*, puis faire un retour d'expérience via un questionnaire en ligne.

Le premier cycle d'expérimentation a été lancé en février 2023 auprès de 10 structures d'ACP privées et publiques réparties sur le territoire national. Il concernait l'ovaire (pièce opératoire), le poumon (pièce opératoire et biopsie transpariétale pour cancer), la prostate (prostatectomie et biopsie pour carcinome primitif) et le sein (chirurgie conservatrice pour carcinome mammaire et ponction-biopsie). D'autres thématiques sont régulièrement proposées à l'expérimentation en cours d'année, incluant notamment la cyto-pathologie (cytologie des urines, cytologie des séreuses, cytologie du LBA, cytologie de la thyroïde, ...), parmi plus d'une cinquantaine de modèles validés à l'échelon national.

Résultats attendus – Le logiciel de saisie *PULSE*, bien que conçu dans un esprit d'efficience fonctionnelle et d'ergonomie (notamment via son mode de saisie rapide permettant de n'avoir à renseigner qu'une minorité d'items), bénéficie d'évolutions et d'améliorations suite à cette démarche. De plus, bien que les modèles de comptes rendus soient soumis à une validation nationale en 3 étapes puis à une révision annuelle, l'étape de saisie informatique en situation réelle peut conduire à en améliorer le contenu métier.

Conclusion – Avec *Impulsion*, le chantier de la donnée structurée en ACP se poursuit pour proposer aux pathologistes des outils numériques « sur-mesure », allant bien au-delà de logiciels du marché vendus « sur-étagère ». La dernière étape reste la mise en place opérationnelle de l'interopérabilité d'*Impulsion* avec les principaux Systèmes de Gestion de Laboratoires du marché. Les travaux vont bon train mais doivent inévitablement s'inscrire dans la *road-map* et le calendrier des différents éditeurs. L'ensemble du programme permettra à court terme de donner aux pathologistes les moyens de leur légitimes attentes pour affronter les difficultés du présent et regarder l'avenir de leur activité diagnostique avec sérénité.

Contexte

Après la phase d'élaboration de modèles de comptes rendus structurés et standardisés couvrant à terme l'ensemble de l'histo-pathologie et de la cyto-pathologie, le programme Impulsion démarre en 2023 sa phase de test sur sites d'ACP volontaires, selon une méthodologie proposée par l'AFAQAP.

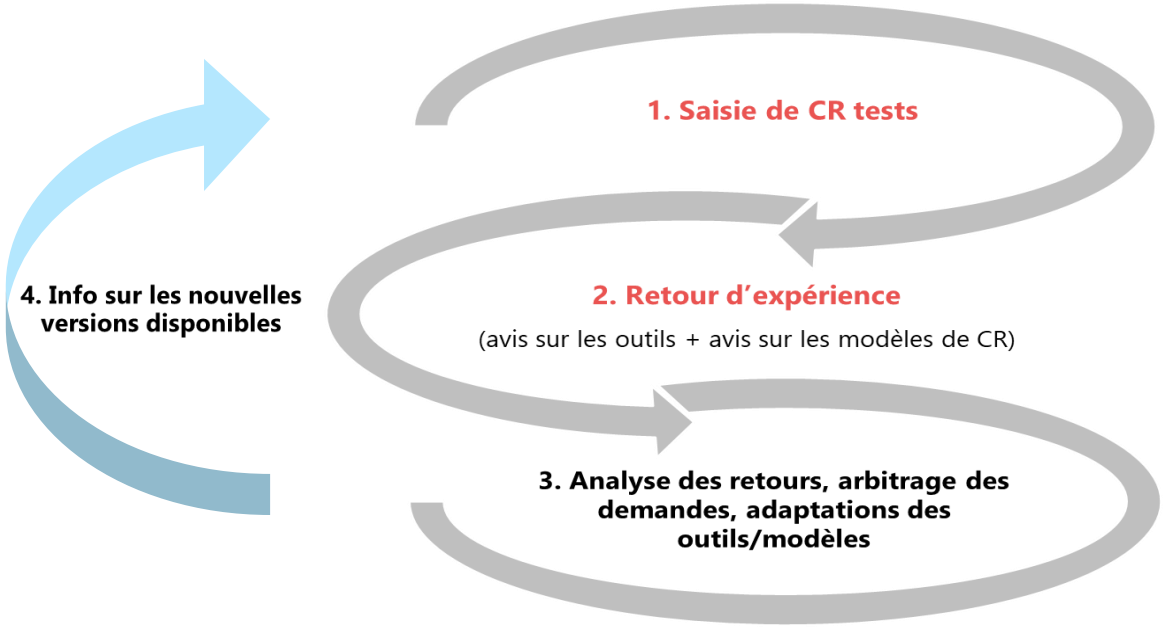
Objectif

Dans un esprit de **co-construction** avec la spécialité, cette étape essentielle vise à éprouver l'adéquation des modèles ainsi que la solution logicielle de saisie de comptes rendus PULSE aux besoins quotidiens des pathologistes, quel que soit leur mode d'exercice.

Méthodologie

Les pathologistes impliqués accèdent en avant-première à l'application et s'engagent à tester plusieurs modèles selon la méthodologie suivante : sélectionner dans son SGL 5 comptes rendus (ou plus) par modèle à tester, tenter de ressaisir 100% des informations qui y figurent via le formulaire de compte rendu *PULSE*, puis faire un retour d'expérience via un questionnaire en ligne.

Le premier cycle d'expérimentation a été lancé en février 2023 auprès de 10 structures d'ACP privées et publiques réparties sur le territoire national. Il concernait l'ovaire (pièce opératoire), le poumon (pièce opératoire et biopsie transpariétale pour cancer), la prostate (prostatectomie et biopsie pour carcinome primitif) et le sein (chirurgie conservatrice pour carcinome mammaire et ponction-biopsie). D'autres thématiques sont régulièrement proposées à l'expérimentation en cours d'année, incluant notamment la cyto-pathologie (cytologie des urines, cytologie des séreuses, cytologie du LBA, cytologie de la thyroïde, ...), parmi plus d'une cinquantaine de modèles validés à l'échelon national.



Résultats attendus

Le logiciel de saisie *PULSE*, bien que conçu dans un esprit d'efficience fonctionnelle et d'ergonomie (notamment via son mode de saisie rapide permettant de n'avoir à renseigner qu'une minorité d'items), bénéficie d'évolutions et d'améliorations suite à cette démarche. De plus, bien que les modèles de comptes rendus soient soumis à une validation nationale en 3 étapes puis à une révision annuelle, l'étape de saisie informatique en situation réelle peut conduire à en améliorer le contenu métier.

Conclusion

Avec *Impulsion*, le chantier de la donnée structurée en ACP se poursuit pour proposer aux pathologistes des outils numériques « sur-mesure », allant bien au-delà de logiciels du marché vendus « sur-étagère ». La dernière étape reste la mise en place opérationnelle de l'interopérabilité d'*Impulsion* avec les principaux Systèmes de Gestion de Laboratoires du marché. Les travaux vont bon train mais doivent inévitablement s'inscrire dans la *road-map* et le calendrier des différents éditeurs. L'ensemble du programme permettra à court terme de donner aux pathologistes les moyens de leur légitimes attentes pour affronter les difficultés du présent et regarder l'avenir de leur activité diagnostique avec sérénité.

impulsion
PULSE

Ré-actualisation d'une série de 30 tumeurs gliales/glioneuronales du nourrisson : paysage histomoléculaire et proposition de critères diagnostiques

A. TAUZIEDE-ESPARIAT (1), K. BECCARIA (2), V. DANGOULOFF-ROS (3), R. SAFFROY (4), L. HASTY (1), A. METAIS (1), F. CHRETIEN (1), T. BLAUWBLOMME (2), S. PUGET (2), N. BODDAERT (3), P. VARLET (1)

(1) Service de Neuropathologie, GHU Paris Neurosciences Hôpital Sainte-Anne, 75014 Paris, France

(2) Service de Neurochirurgie Pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, AP-HP, 75015 Paris, France

(3) Service de Radiologie Pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, AP-HP, 75015 Paris, France

(4) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital Paul Brousse, 94800 Villejuif, France

Introduction : Les analyses épigénétiques récentes ont révélé l'existence d'une nouvelle classe de méthylation de l'ADN (CM), le gliome hémisphérique de type infantile (IHG). Ces IHG sont, comme les ganglioglioome/astrocytome infantiles desmoplasiques (DIG/DIA) supratentoriels et affectent les nourrissons. Ils se distinguent néanmoins par les altérations génétiques impliquées (altérations *BRAF* ou *RAF1* pour les DIG/DIA *vs.* Fusions *ALK, ROS1, NTRK1/2/3, MET* pour les IHG). Très peu de données histopathologiques et radiologiques sont néanmoins disponibles dans la littérature pour les distinguer.

Objectifs : Caractérisation radiologique, histopathologique, génétique et épigénétique de 30 tumeurs gliales et glioneuronales supratentorielles de nourrissons, afin de dessiner le paysage des tumeurs rencontrées dans cette population et d'en dégager des critères diagnostics différentiels.

Méthodes : Relecture centralisée (histologique et radiologique) des tumeurs, étude immunohistochimique et analyses moléculaires (FISH, NGS, RNAseq, profil de méthylation).

Résultats : Les diagnostics issus de l'intégration des données histopathologiques, génétiques et épigénétiques sont : 10 DIG/DIA (33,3%), 6 IHG (30,0%), 3 ganglioglioomes (10,0%), 2 xanthoastrocytomes pléomorphes (6,7%), 2 astrocytomes pilocytiques (6,7%), 2 épendymomes, *ZFTA*-fusionnés (6,7%), 2 épendymomes, *YAP1*-fusionnés (6,7%), 2 tumeurs embryonnaires avec amplification *PLAGL2* (6,7%) et 1 gliome diffus de bas grade, MAPK-altéré. Les critères différentiels entre les deux principaux diagnostics sont l'infiltration leptoméningée, la desmoplasie et la composante neuronale (pour les DIG/DIA), la nécrose, la prolifération microvasculaire et les sidérophages pour les IHG.

Discussion : Malgré une distinction génétique et épigénétique entre IHG et DIG/DIA, il existe une zone grise concernant le profil de méthylation où quelques cas ne sont pas encore clairement bien classés en méthylome.

Conclusion : Cette étude montre que les tumeurs des nourrissons ne sont pas limitées aux IHG et aux DIG/DIA mais que d'autres entités survenant classiquement à des âges plus élevés peuvent être rencontrées. De plus, il s'agit de la première étude décrivant les différences histopathologiques et radiologiques entre IHG et DIG/DIA. Enfin, un nouveau type tumoral, ne faisant pas encore partie de la classification de l'OMS, est décrit (tumeurs embryonnaires, avec amplification *PLAGL2*).

Introduction :

Les analyses épigénétiques récentes ont révélé l'existence d'une nouvelle classe de méthylation de l'ADN (CM), le gliome hémisphérique de type infantile (IHG). Ces IHG sont, comme les gangliogliome/astrocytome infantiles desmoplasiques (DIG/DIA) supratentoriels et affectent les nourrissons. Ils se distinguent néanmoins par les altérations génétiques impliquées (altérations *BRAF* ou *RAF1* pour les DIG/DIA *vs.* Fusions *ALK, ROS1, NTRK1/2/3, MET* pour les IHG). Très peu de données histopathologiques et radiologiques sont néanmoins disponibles dans la littérature pour les distinguer.

Objectifs :

Caractérisation radiologique, histopathologique, génétique et épigénétique de 30 tumeurs gliales et glioneuronales supratentorielles de nourrissons, afin de dessiner le paysage des tumeurs rencontrées dans cette population et d'en dégager des critères diagnostics différentiels.

Méthodes :

Relecture centralisée (histologique et radiologique) des tumeurs, étude immunohistochimique et analyses moléculaires (FISH, NGS, RNAseq, profil de méthylation).

Résultats :

Les diagnostics issus de l'intégration des données histopathologiques, génétiques et épigénétiques sont : 10 DIG/DIA (33,3%), 6 IHG (30,0%), 3 gangliogliomes (10,0%), 2 xanthoastrocytomes pléomorphes (6,7%), 2 astrocytomes pilocytiques (6,7%), 2 épendymomes, *ZFTA*-fusionnés (6,7%), 2 épendymomes, *YAP1*-fusionnés (6,7%), 2 tumeurs embryonnaires avec amplification *PLAGL2* (6,7%) et 1 gliome diffus de bas grade, MAPK-altéré. Les critères différentiels entre les deux principaux diagnostics sont l'infiltration leptoméningée, la desmoplasie et la composante neuronale (pour les DIG/DIA), la nécrose, la prolifération microvasculaire et les sidérophages pour les IHG.

Discussion :

Malgré une distinction génétique et épigénétique entre IHG et DIG/DIA, il existe une zone grise concernant le profil de méthylation où quelques cas ne sont pas encore clairement bien classés en méthylome.

Conclusion :

Cette étude montre que les tumeurs des nourrissons ne sont pas limitées aux IHG et aux DIG/DIA mais que d'autres entités survenant classiquement à des âges plus élevés peuvent être rencontrées. De plus, il s'agit de la première étude décrivant les différences histopathologiques et radiologiques entre IHG et DIG/DIA. Enfin, un nouveau type tumoral, ne faisant pas encore partie de la classification de l'OMS, est décrit (tumeurs embryonnaires, avec amplification *PLAGL2*).

Références :

1: Guerreiro Stucklin AS, *et al*. Alterations in ALK/ROS1/NTRK/MET drive a group of infantile hemispheric gliomas. Nat Commun. 2019 Sep 25;10(1):4343. doi:10.1038/s41467-019-12187-5. PMID: 31554817; PMCID: PMC6761184.

2: Clarke M, *et al*. Infant High-Grade Gliomas Comprise Multiple Subgroups Characterized by Novel Targetable Gene Fusions and Favorable Outcomes. Cancer Discov. 2020;10(7):942-63.

Les structures lymphoïdes tertiaires (SLT): Quelle valeur histo-pronostique dans les cancers de l'endomètre ?

S.AITBRAHIM (1) , L.TAHIRI(1,2) , H.EL FATEMI (1,2) .

(1) Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique ; CHU Hassan II, Fès, Maroc.

(2) Laboratoire de recherche biomédicale et translationnelle, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès, Maroc.

Résumé

Le cancer de l'endomètre est le quatrième cancer le plus fréquent chez les femmes et touche principalement les femmes ménopausées.

le stade de la FIGO, le type histologique, le grade et la présence d'emboles vasculaires permettent de stratifier les groupes pronostiques et de guider les traitements complémentaires. Cependant, la valeur pronostique de ces facteurs reste sous-optimale, d'où l'émergence d'un nouveau facteur pronostic **: les structures lymphoïdes tertiaires** qui sont définis comme des structures lymphoïdes ectopiques .

La présence de STL a été documentée dans de nombreuses tumeurs solides tels que le cancer bronchique non à petites cellules, les carcinomes épidermoïdes de la tête et du cou, le cancer de l'ovaire, le cancer du sein et le carcinome hépatocellulaire [2].

Des données récentes suggèrent que la présence de STL matures et de lymphocytes B dans la tumeur est associée à un bon pronostic et permet de prédire la réponse thérapeutique aux inhibiteurs des points de contrôle immunitaires (ICI) pour de nombreux types de cancers. Toutefois, les mécanismes moléculaires par lesquels ces cellules B influencent la réponse aux traitements par ICI restent encore à élucider [4][3] .

Introduction:

L'adénocarcinome de l'endomètre est la tumeur maligne la plus fréquente du corps utérin chez la femme ménopausée[4].

La classification moléculaire actuelle subdivise les adénocarcinomes de l'endomètre en 4 sous groupes listées du meilleur au plus mauvais pronostique : ultramutées POLE ; hypermutées avec instabilité microsatellitaire (MSI) ; à bas nombre de copies et à haut nombre de copies.

Cette classification été récemment intégrée aux recommandations de l'ESGO [5] [3] afin de stratifier les groupes pronostiques et de guider les traitements complémentaires [6] , en association . avec le stade de la FIGO , le type histologique ,le grade , l'invasion myomètriale et les emboles vasculaires.

Un nouveau facteur pronostic a vu le jour **: les structures lymphoïdes tertiaires** qui sont définis comme des structures lymphoïdes ectopiques.

Matériel et méthodes:

A travers une étude rétrospective descriptive, étalée sur une période de 1 an, du 1 er janvier 2022 au 31 décembre 2022, à propos de 26 cas de cancer de l'endomètre confirmés histologiquement et prit en charge au sein de l'hôpital universitaire Hassan II Fès .

Nous avons revu les 26 cas afin de préciser la présence de structures lymphoïdes tertiaires et nous allons détailler les principales données cliniques et histo-pronostiques en corrélation avec les structures lymphoïdes tertiaires .

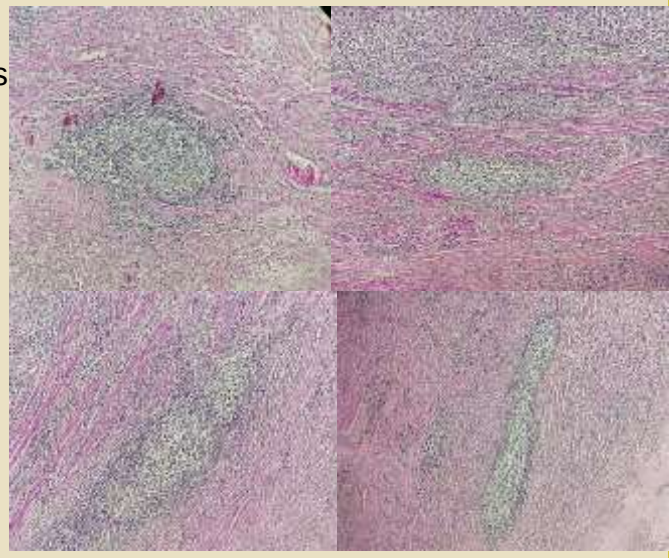
Résultats :

Vingt-six femmes atteintes d'un cancer de l'endomètre avaient un âge moyen de 56,9 ans, et la tranche d'âge était de 37 à 76 ans. Les tumeurs de l'endomètre ont été divisées en quatre sous-types histologiques : 57,69 % étaient des adénocarcinomes endométrioïdes, 11,53 % étaient des adénocarcinomes séreux et 11,53 % étaient des carcinomes peu différenciés. Selon la classification FIGO, Près de 62.96 % des cas de cancer de l'endomètre sont diagnostiqués à un stade précoce [I,II] selon la classification dela FIGOavec37% à un stade tardif [III, IV] . Nous avons noté la présence de structures lymphoïdes tertiaires au niveau du front d'invasion de la tumeur et dans le myomètre dans 8 cas (30,76%). 65,38% des cas ont présenté des emboles vasculaires.

Ces résultats ont permis d'établir des corrélations entre les structures lymphoïdes tertiaires, l'embolie vasculaire, le TILS et le type histologique.

Le sous-type histologique le plus fréquemment associé au tissu lymphoïde tertiaire était l'adénocarcinome endométrioïde de grade II (26,66 %).. .

Des structures lymphoïdes tertiaires ont été détectées précocement (I, II) chez 40 % des patients, Des embole vasculaires (EV3) ont été détectés chez 62,5 % des patients et les TILS était présent chez 83,33 % des patients.



Discussion et conclusion :

Les structures lymphoïdes tertiaires (STL) : sont des structures lymphoïdes ectopiques qui se développent dans et autour des cancers. Ce sont des agrégats de cellules lymphoïdes organisées sous forme de follicules, comprenant une zone de lymphocytes T et une zone de lymphocytes B. A leurs états matures, les STL sont définis par la présence d'un centre germinatif avec des lymphocytes T en contact étroit avec les lymphocytes B [1].Des données récentes ont démontré qu'une expression élevée de SLT était associée à un nombre élevé de lymphocytes infiltrant la tumeur (TILs) , à la présence d'emboles vasculaires et aux stades précoces de la tumeur [4]. Nos résultats concordent avec les résultats de la littérature.L'impact pronostique des SLT n'a été que partiellement expliqué .Des analyses approfondies seront nécessaires pour comprendre et caractériser ces structures lymphoïdes tertiaires [1].

Références :

[1]. Zhao, Zhan, et al. "Relationship between tertiary lymphoid structure and the prognosis and clinicopathologic characteristics in solid tumors." *International Journal of Medical Sciences* 18.11 (2021): 2327.

[2]. Goc, Jérémy, et al. "Characteristics of tertiary lymphoid structures in primary cancers." *Oncoimmunology* 2.12 (2013): e26836.

[3]. Horeweg, Nanda, et al. "Tertiary lymphoid structures critical for prognosis in endometrial cancer patients." *Nature Communications* 13.1 (2022): 1373.

[4]. Qin, Meng, et al. "Tertiary lymphoid structures are associated with favorable survival outcomes in patients with endometrial cancer." *Cancer Immunology, Immunotherapy* (2022): 1-12.

Mélanome dédifférencié métastatique : intérêt de la mutation BRAF V600E

C.Slim[1], BM.Wiem[1], G.Soumaya[1], T.Mariem[1], S.Ines[1], B.Tahya[1]

(1) : Service d'Anatomie et de Cytologie pathologiques, CHU Habib Bourguiba route El Ain, 3029 Sfax, Tunisie

Résumé

Introduction : Le mélanome dédifférencié (MD) est défini comme un mélanome primaire ou métastatique dépourvu des caractéristiques histologiques et immunophénotypiques du mélanome. Son diagnostic est toujours difficile.

But de travail : Démontrer le rôle de la mutation BRAF V600E dans le diagnostic du MD.

Materiel et méthodes : Un homme de 52 ans avec une histoire de mélanome nodulaire de l'avant-bras traité (12 ans auparavant) s'est présenté avec une adénopathie axillaire homolatérale. Une résection chirurgicale a été réalisée.

Résultats : Le ganglion lymphatique était massivement envahi par une prolifération tumorale maligne avec de larges zones de nécrose. La prolifération tumorale était constituée de nappes diffuses de cellules globuleuses ou épithélioïdes larges et dyscohésives. Les noyaux étaient volumineux et souvent macronuclées. Les mitoses étaient nombreuses. Une étude immunohistochimique a été réalisée avec un large panel d'anticorps : PS100, HMB45, MelanA, kératine, EMA, CD20, CD3, CD15, ALK, AML, Desmine, myogénine, INI-1, CD34, CD31, CD68, CD138, Caldesmone, LCA et SOX10. Les cellules tumorales étaient faiblement et focalement positives pour la kératine, AML et CD138. Il n'y a pas de perte d'expression de l'INI-1. Compte tenu de l'histoire personnelle de notre patient, le diagnostic de DM métastatique dans le ganglion lymphatique a été suspecté. Une recherche de mutation BRAF V600E a été effectué et s'est avérée positive.

Discussion : Le diagnostic de DM, en particulier dans les sites métastatiques, est un défi pour le pathologiste en raison de l'absence de morphologie et d'immunophénotype typiques. Plusieurs diagnostics différentiels sont envisagés tels que le carcinome indifférencié et les sarcomes. Dans ces cas, le test moléculaire du gène BRAF prend toute son importance pour confirmer le diagnostic de mélanome.

Coclusion : Le MD est un type particulier de mélanome qui perd ses caractéristiques histologiques et immunohistochimiques. La mise en évidence de la mutation BRAF permet d'établir le diagnostic. Le pronostic est sombre.

Introduction : Le mélanome dédifférencié (MD) est défini comme un mélanome primaire ou métastatique dépourvu des caractéristiques histologiques et immunophénotypiques du mélanome. Son diagnostic est toujours difficile. But de travail : Démontrer le rôle de la mutation BRAF V600E dans le diagnostic du MD.

Matériel et méthodes : Un homme de 52 ans avec une histoire de mélanome nodulaire de l'avant-bras traité (12 ans auparavant) s'est présenté avec une adénopathie axillaire homolatérale. Une résection chirurgicale a été réalisée.

Biologie moléculaire: EXTRACTION D'ADN : QIAammp® DNA FFPE Tissue (Qiagen) - Recherche de mutations des genes BRAF(V600E) et NRAS 5(exons 12/13/61): Pyroséquençage (Qiagen)

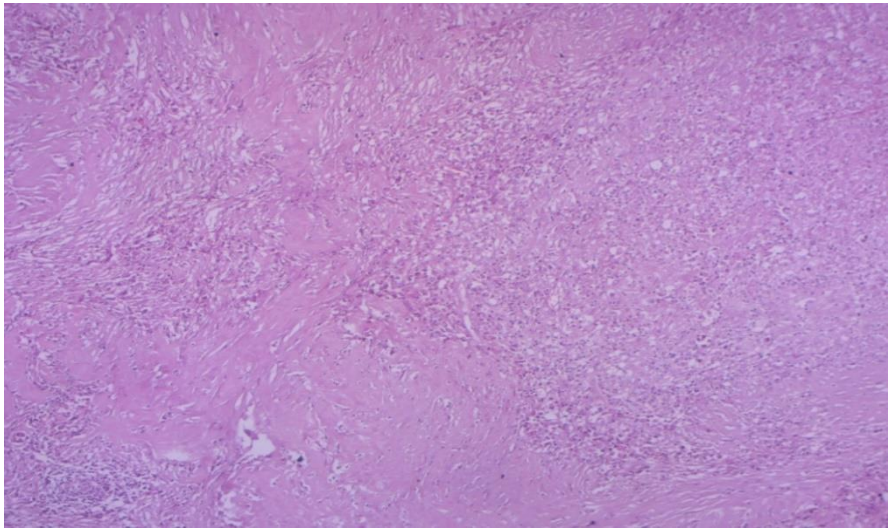
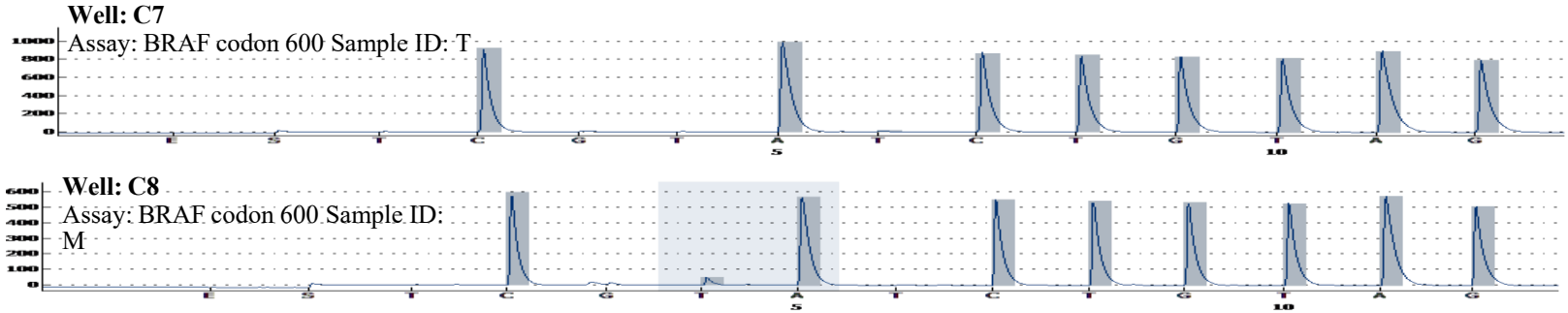


Figure 1: le ganglion est massivement envahi par une prolifération diffuse de cellules néoplasiques avec de larges zones de nécrose

Analysis of Mutations in Codons 600 and 464-469 in BRAF

NOTE: This BRAF report is intended to be used only in combination with the dedicated BRAF Pyro Kits for applications described in the respective BRAF Pyro Kit handbooks.



Well	Assay Name	Sample ID	Result	Frequency [% units]	Nucleotide Substitution	Amino Acid Substitution	Info
C7	Codon 600	T	No mutation detected				
C8	Codon 600	M	**Mutation**	8,8	1799T>A	V600E	

Figure 3: Analyse mutationnelle de BRAF

Résultats :

Examan histologique (figures 1 et 2):

- ganglion massivement envahi avec de larges zones de nécrose.
- prolifération tumorale maligne en nappes diffuses
- cellules globuleuses ou épithélioïdes larges et dyscohésives.
- Les noyaux volumineux et souvent macronuclées.
- Les mitoses étaient nombreuses.

Etude immunohistochimique:

- Expression faible et focale pour la kératine, AML et CD138
- Absence d'expression pour PS100, HMB45, MelanA, EMA, CD20, CD3, CD15, ALK, Desmine, myogénine, CD34, CD31, CD68, Caldesmone, LCA et SOX10. Il n'y a pas de perte d'expression de l'INI-1.

Biologie moléculaire (figure 3):

Mutation BRAF V600E. Absence de mutation NRAS.

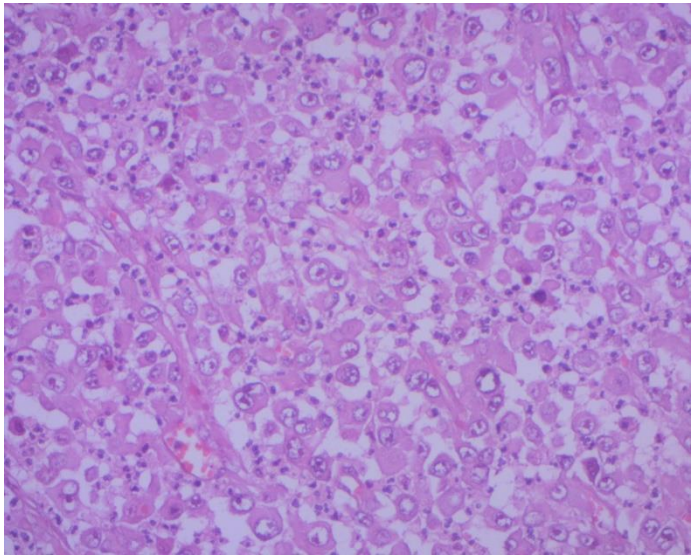


Figure 2: les cellules tumorales sont globuleuses ou epithelioides larges et discohésives avec de gros noyaux macronucléolés et des mitoses nombreuses

Discussion et conclusion :

- Le diagnostic de MD, en particulier dans les sites métastatiques, est un défi pour le pathologiste en raison de l'absence de morphologie et d'immunophénotype typiques.
- Plusieurs diagnostics différentiels sont envisagés tels que le carcinome indifférencié et les sarcomes.
- Agaimy A et al ont proposé des critères diagnostiques pour le MD: Présence d'un clone différencié de mélanome/ une histoire d'un mélanome/ une histologie indifférenciée / une localization inhabituelle pour un sarcoma indifférencié / une dissémination multifocale typique du mélanome / une mutation génique caractéristique du mélanome / absence de primitif dans d'autres organes
- Le test moléculaire du gène BRAF prend toute son importance pour confirmer le diagnostic de mélanome.

Pour conclure: Le MD est un type particulier de mélanome qui perd ses caractéristiques histologiques et immunohistochimiques. La mise en évidence de la mutation BRAF permet d'établir le diagnostic. Le pronostic est sombre.

Références :

1- Agaimy A et al. Dedifferentiated and Undifferentiated Melanomas: Report of 35 New Cases With Literature Review and Proposal of Diagnostic Criteria. Am J Surg Pathol. 2021;45(2):240-254.

2- Agaimy A et al. Metastatic Malignant Melanoma With Complete Loss of Differentiation Markers (Undifferentiated/Dedifferentiated Melanoma): Analysis of 14 Patients Emphasizing Phenotypic Plasticity and the Value of Molecular Testing as Surrogate Diagnostic Marker. Am J Surg Pathol. 2016 ;40(2):181-91.

Corrélation entre score de Gleason sur biopsie et pièce de prostatectomie

M.TRIKI(1), W.BEN-MAKHLOUF(1), S.GRAGA(1), O.BOUDAWARA(1), W.GHRIBI(1), S.CHARFI(1), T.BOUDAWARA(1)

(1) Service d'Anatomie et de Cytologie pathologiques, CHU Habib Bourguiba route El Ain, 3029 Sfax, Tunisie

Résumé: **Introduction :** Le cancer de la prostate est le deuxième cancer de l'homme dans le monde et le 3ème en Tunisie. Le score de Gleason (SG) obtenu sur les biopsies prostatiques est un élément essentiel dans la décision de traitement du cancer de la prostate localisé. **Objectifs :** Comparer le SG sur la biopsie et la pièce de prostatectomie (PP) correspondante et Comparer nos résultats avec ceux de la littérature, **Matériel et méthodes :** Nous avons étudié les cas d'adénocarcinome prostatique et comparé le SG sur la biopsie et sur la PP chez 22 hommes dont la biopsie et la PP étaient colligées dans le laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique du CHU de Sfax sur une période de 5 ans (2018-2022).**Résultats :** L'âge moyen de nos patients était 68.77 ans [55-89]. Le SG était 6= (3+3) dans 3(13%) cas sur biopsie et 4(18%) cas sur PP, 7= (3+4) dans 7(31.8%) cas sur biopsie et 9(40%) sur PP, 7= (4+3) dans 3(13%) cas sur biopsie ainsi que sur PP, 8= (4+4) dans 3(13%) cas sur biopsie et 1(4.5%) cas sur PP, 8= (5+3) dans 1(4.5%) cas sur biopsie ainsi que sur PP, 9= (4+5) dans 4(18%) cas sur biopsie et 3(13%) cas sur PP, 9= (5+4) dans 1(4.5%) cas sur biopsie et aucun cas sur PP et 10= (5+5) dans 1(4.5%) cas sur PP et aucun cas sur biopsie. La concordance entre le SG de la biopsie et le SG de la PP était parfaite dans 13(59%) cas. Une différence de 1 point était observé dans 7(31.8%) cas. Une différence de 2 points était observée dans 2(9%) cas. Une sous-évaluation était observée dans 7(31.8%) cas et une surévaluation était observé dans 2(9%) cas. **Discussion :** Nos résultats sont concordants avec ceux de la littérature concernant le taux d'égalité de SG [37%-67%], le taux de sous-évaluation [22%-34%] et celui de surévaluation [10%-11%] ainsi que le taux de différence de 1 point [27%-45%]. Le taux de différence de 2 points était supérieur dans les séries de la littérature [15%-34%]. L'égalité ou la différence de SG sur biopsie et PP dépend essentiellement du nombre des prélèvements biopsiques analysées. Plusieurs études ont démontré que la concordance entre le SG sur biopsie et PP est significativement plus élevée lorsque le nombre des prélèvements biopsiques est supérieur à 10. **Conclusion :** La biopsie prostatique a un rôle fondamental dans le diagnostic du cancer de la prostate. L'augmentation du nombre des prélèvements biopsique permet d'améliorer l'évaluation du score de Gleason d'où une meilleure évaluation pronostique et une conduite thérapeutique plus adéquate.

Introduction: Le cancer de la prostate est le deuxième cancer de l'homme dans le monde et le 3ème en Tunisie. Le score de Gleason (SG) obtenu sur les biopsies prostatiques est un élément essentiel dans la décision de traitement du cancer de la prostate localisé. **Objectifs :** Comparer le SG sur la biopsie et la pièce de prostatectomie (PP) correspondante et Comparer nos résultats avec ceux de la littérature ,

Matériel et méthodes: Nous avons étudié les cas d'adénocarcinomes prostatiques et comparé le SG sur la biopsie et sur la PP chez 22 hommes dont la biopsie et la PP étaient colligées dans le laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique du CHU de Sfax sur une période de 5 ans (2018-2022).

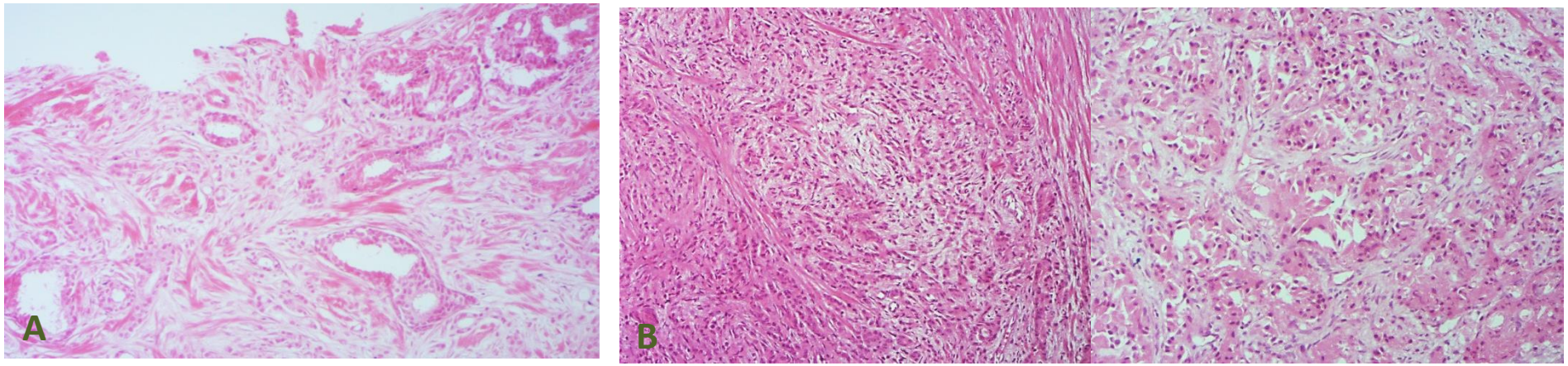


Figure 1: exemple d'une sous-évaluation du SG(différence de 2 points) ; A: SG sur biopsie: 7=4+3/B SG sur PP: 9=4+5

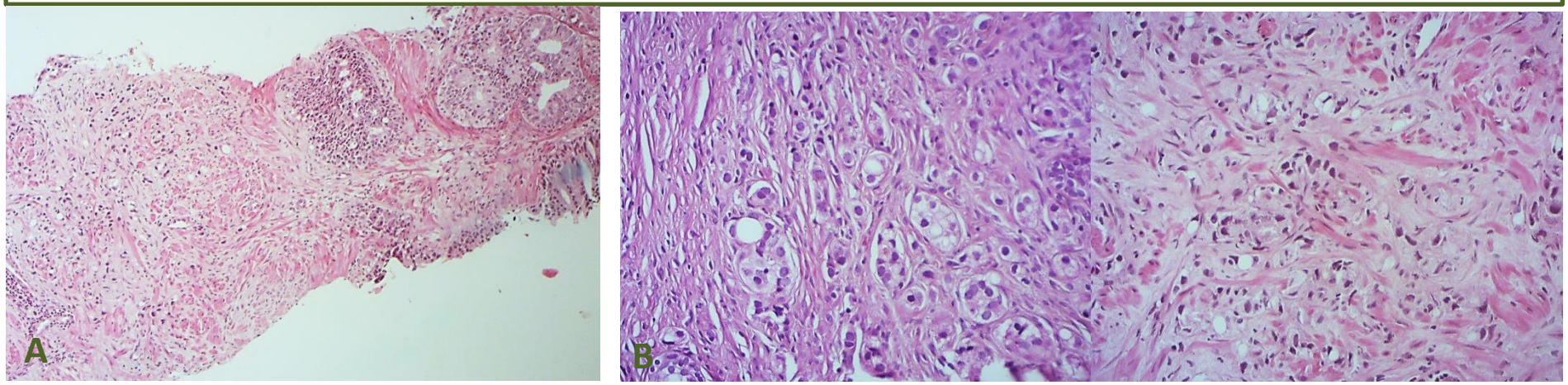


Figure 2: exemple d'une surévaluation du SG(différence de 1 point) ; A: SG sur biopsie: 9=4+5/B: SG sur PP: 8=5+3

Résultats: L'âge moyen de nos patients était 68.77 ans [55-89].

Score de gleason	biopsie	PP
6=3+3	3(13%)	4(18%)
7=3+4	7(31,8)	9(40%)
7=4+3	3(13%)	3(13%)
8=4+4	3(13%)	1(4,5%)
8=5+3	1(4,5%)	1(4,5%)
9=4+5	4(18%)	3(13%)
9=5+4	1(4,5%)	0
10=5+5	0	1(4,5%)

SG sur biopsie = SG sur PP	13(59%)
SG sur biopsie < SG sur PP	7(32%)
SG sur biopsie > SG sur PP	2(9%)
Taux de différence de 1 point	7(32%)
Taux de différence de 2 points	2(9%)

Discussion & Conclusion:

- Nos résultats sont concordants avec ceux de la littérature concernant
  - ✓ Taux d'égalité de SG [37%-67%]
  - ✓ Taux de sous-évaluation [22%-34%]
  - ✓ Taux de surévaluation [10%-11%]
  - ✓ Taux de différence de 1 point [27%-45%]
- Taux de différence de 2 points était supérieur dans les séries de la littérature [15%-34%].

L'égalité ou la différence de SG sur biopsie et PP dépend essentiellement du nombre des prélèvements biopsiques analysées. Plusieurs études ont démontré **que la concordance entre le SG sur biopsie et PP est significativement plus élevée lorsque le nombre des prélèvements biopsiques est supérieur à 10.**

Conclusion : La biopsie prostatique a un rôle fondamental dans le diagnostic du cancer de la prostate. L'augmentation du nombre des prélèvements biopsiques permet d'améliorer l'évaluation du score de Gleason d'où une meilleure évaluation pronostique et une conduite thérapeutique plus adéquate

Références : 1.Prost J, Gros N, Bastide C, Bladou F, Serment G, Rossi D. [Correlation between Gleason score of prostatic biopsies and the one of the radical prostatectomy specimen]. Prog Urol. févr 2001;11(1):45-8.

2.San Francisco IF, DeWolf WC, Rosen S, Upton M, Olumi AF. Extended prostate needle biopsy improves concordance of Gleason grading between prostate needle biopsy and radical prostatectomy. J Urol. janv 2003;169(1):136-40.