



HAL
open science

Performance diagnostique de la microbiopsie percutanée scannoguidée pour le diagnostic des tumeurs adipeuses bien différenciées des membres de l'adulte: A propos d'une série rétrospective de 107 cas

Alexandra Assolen

► To cite this version:

Alexandra Assolen. Performance diagnostique de la microbiopsie percutanée scannoguidée pour le diagnostic des tumeurs adipeuses bien différenciées des membres de l'adulte: A propos d'une série rétrospective de 107 cas. Sciences du Vivant [q-bio]. 2021. dumas-03148422

HAL Id: dumas-03148422

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03148422>

Submitted on 22 Feb 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Faculté des sciences
médicales et paramédicales

Aix-Marseille Université

Performance diagnostique de la microbiopsie percutanée scannoguidée pour le diagnostic des tumeurs adipeuses bien différenciées des membres de l'adulte :

A propos d'une série rétrospective de 107 cas

T H È S E

Présentée et publiquement soutenue devant

LA FACULTÉ DES SCIENCES MÉDICALES ET PARAMÉDICALES

DE MARSEILLE

Le 16 Février 2021

Par Madame Alexandra ASSOLEN épouse BOURGANEL

Née le 22 novembre 1989 à Marseille 12^{ème} (13)

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

D.E.S. d'ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES

Membres du Jury de la Thèse :

Monsieur le Professeur DANIEL Laurent

Président

Madame le Docteur (MCU-PH) BOUVIER Corinne

Directeur

Monsieur le Professeur CHAGNAUD Christophe

Assesseur

Monsieur le Professeur SALAS Sébastien

Assesseur

Monsieur le Docteur (MCU-PH) MAUES DE PAULA André

Assesseur



Faculté des sciences
médicales et paramédicales

Aix-Marseille Université

Performance diagnostique de la microbiopsie percutanée scannoguidée pour le diagnostic des tumeurs adipeuses bien différenciées des membres de l'adulte :

A propos d'une série rétrospective de 107 cas

T H È S E

Présentée et publiquement soutenue devant

LA FACULTÉ DES SCIENCES MÉDICALES ET PARAMÉDICALES

DE MARSEILLE

Le 16 Février 2021

Par Madame Alexandra ASSOLEN épouse BOURGANEL

Née le 22 novembre 1989 à Marseille 12^{ème} (13)

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

D.E.S. d'ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES

Membres du Jury de la Thèse :

Monsieur le Professeur DANIEL Laurent

Président

Madame le Docteur (MCU-PH) BOUVIER Corinne

Directeur

Monsieur le Professeur CHAGNAUD Christophe

Assesseur

Monsieur le Professeur SALAS Sébastien

Assesseur

Monsieur le Docteur (MCU-PH) MAUES DE PAULA André

Assesseur



FACULTÉ DES SCIENCES MÉDICALES & PARAMÉDICALES

Doyen	:	Pr. Georges LEONETTI
Vice-Doyen aux affaires générales	:	Pr. Patrick DESSI
Vice-Doyen aux professions paramédicales	:	Pr. Philippe BERBIS
Conseiller	:	Pr. Patrick VILLANI
Assesseurs :		
➤ aux études	:	Pr. Kathia CHAUMOITRE
➤ à la recherche	:	Pr. Jean-Louis MEGE
➤ à l'unité mixte de formation continue en santé	:	Pr. Justin MICHEL
➤ pour le secteur NORD	:	Pr. Stéphane BERDAH
➤ Groupements Hospitaliers de territoire	:	Pr. Jean-Noël ARGENSON
➤ aux masters	:	Pr. Pascal ADALIAN

Chargés de mission :

➤ sciences humaines et sociales	:	Pr. Pierre LE COZ
➤ relations internationales	:	Pr. Stéphane RANQUE
➤ DU/DIU	:	Pr. Véronique VITTON
➤ DPC, disciplines médicales & biologiques	:	Pr. Frédéric CASTINETTI
➤ DPC, disciplines chirurgicales	:	Dr. Thomas GRAILLON

ÉCOLE DE MEDECINE

Directeur : **Pr. Jean-Michel VITON**

Chargés de mission

▪ PACES – Post-PACES	:	Pr. Régis GUIEU
▪ DFGSM	:	Pr. Anne-Laure PELISSIER
▪ DFASM	:	Pr. Marie-Aleth RICHARD
▪ DFASM	:	Pr. Marc BARTHET
▪ Préparation aux ECN	:	Dr Aurélie DAUMAS
▪ DES spécialités	:	Pr. Pierre-Edouard FOURNIER
▪ DES stages hospitaliers	:	Pr. Benjamin BLONDEL
▪ DES MG	:	Pr. Christophe BARTOLI
▪ Démographie médicale	:	Dr. Noémie RESSEGUIER
▪ Etudiant	:	Elise DOMINJON



ÉCOLE DE DE MAIEUTIQUE

Directrice : **Madame Carole ZAKARIAN**

Chargés de mission

- 1^{er} cycle : Madame Estelle BOISSIER
- 2^{ème} cycle : Madame Cécile NINA

ÉCOLE DES SCIENCES DE LA RÉADAPTATION

Directeur : **Monsieur Philippe SAUVAGEON**

Chargés de mission

- Masso- kinésithérapie 1^{er} cycle : Madame Béatrice CAORS
- Masso-kinésithérapie 2^{ème} cycle : Madame Joannie HENRY
- Mutualisation des enseignements : Madame Géraldine DEPRES

ÉCOLE DES SCIENCES INFIRMIERES

Directeur : **Monsieur Sébastien COLSON**

Chargés de mission

- Chargée de mission : Madame Sandrine MAYEN RODRIGUES
- Chargé de mission : Monsieur Christophe ROMAN

PROFESSEURS HONORAIRES

MM	AGOSTINI Serge	MM	DEVRED Philippe
	ALDIGHERI René		DJIANE Pierre
	ALESSANDRINI Pierre		DONNET Vincent
	ALLIEZ Bernard		DUCASSOU Jacques
	AQUARON Robert		DUFOUR Michel
	ARGEME Maxime		DUMON Henri
	ASSADOURIAN Robert		ENJALBERT Alain
	AUFFRAY Jean-Pierre		FAUGERE Gérard
	AUTILLO-TOUATI Amapola		FAVRE Roger
	AZORIN Jean-Michel		FIECHI Marius
	BAILLE Yves		FARNARIER Georges
	BARDOT Jacques		FIGARELLA Jacques
	BARDOT André		FONTES Michel
	BERARD Pierre		FRANCES Yves
	BERGOIN Maurice		FRANCOIS Georges
	BERLAND Yvon		FUENTES Pierre
	BERNARD Dominique		GABRIEL Bernard
	BERNARD Jean-Louis		GALINIER Louis
	BERNARD Jean-Paul		GALLAIS Hervé
	BERNARD Pierre-Marie		GAMERRE Marc
	BERTRAND Edmond		GARCIN Michel
	BISSET Jean-Pierre		GARNIER Jean-Marc
	BLANC Bernard		GAUTHIER André
	BLANC Jean-Louis		GERARD Raymond
	BOLLINI Gérard		GEROLAMI-SANTANDREA André
	BONGRAND Pierre		GIUDICELLI Sébastien
	BONNEAU Henri		GOUDARD Alain
	BONNOIT Jean		GOUIN François
	BORY Michel		GRILLO Jean-Marie
	BOTTA Alain		GRIMAUD Jean-Charles
	BOTTA-FRIDLUND Danielle		GRISOLI François
	BOURGADE Augustin		GROULIER Pierre
	BOUVENOT Gilles		HADIDA/SAYAG Jacqueline
	BOUYALA Jean-Marie		HASSOUN Jacques
	BREMOND Georges		HEIM Marc
	BRICOT René		HOUEL Jean
	BRUNET Christian		HUGUET Jean-François
	BUREAU Henri		JAQUET Philippe
	CAMBOULIVES Jean		JAMMES Yves
	CANNONI Maurice		JOUBE Paulette
	CARTOUZOU Guy		JUHAN Claude
	CAU Pierre		JUIN Pierre
	CHABOT Jean-Michel		KAPHAN Gérard
	CHAMLIAN Albert		KASBARIAN Michel
	CHARPIN Denis		KLEISBAUER Jean-Pierre
	CHARREL Michel		LACHARD Jean

CHAUVEL Patrick
CHOUX Maurice
CIANFARANI François
CLAVERIE Jean-Michel
CLEMENT Robert
COMBALBERT André
CONTE-DEVOLX Bernard
CORRIOL Jacques
COULANGE Christian
CURVALE Georges
DALMAS Henri
DE MICO Philippe
DELPERO Jean-Robert
DESSEIN Alain
DELARQUE Alain
DEVIN Robert

MM MICHOTEY Georges
MIRANDA François
MONFORT Gérard
MONGES André
MONGIN Maurice
MUNDLER Olivier
NAZARIAN Serge
NICOLI René
NOIRCLERC Michel
OLMER Michel
OREHEK Jean
PAPY Jean-Jacques
PAULIN Raymond
PELOUX Yves
PENAUD Antony
PENE Pierre
PIANA Lucien
PICAUD Robert
PIGNOL Fernand
POGGI Louis
POITOUT Dominique
PONCET Michel
POUGET Jean
PRIVAT Yvan
QUILICHINI Francis
RANQUE Jacques
RANQUE Philippe
RICHAUD Christian
RIDINGS Bernard
ROCHAT Hervé
ROHNER Jean-Jacques
ROUX Hubert

LAFFARGUE Pierre
LAUGIER René
LE TREUT Yves
LEVY Samuel
LOUCHET Edmond
LOUIS René
LUCIANI Jean-Marie
MAGALON Guy
MAGNAN Jacques
MALLAN- MANCINI Josette
MALMEJAC Claude
MARANINCHI Dominique
MARTIN Claude
MATTEI Jean François
MERCIER Claude
METGE Paul

VANUXEM Paul
VERVLOET Daniel
VIALETES Bernard
WEILLER Pierre-Jean

ROUX Michel
RUFO Marcel
SAHEL José
SALAMON Georges
SALDUCCI Jacques
SAMBUC Roland
SAN MARCO Jean-Louis
SANKALE Marc
SARACCO Jacques
SARLES Jacques
SARLES - PHILIP Nicole
SASTRE Bernard
SCHIANO Alain
SCOTTO Jean-Claude
SEBAHOUN Gérard
SEITZ Jean-François
SERMENT Gérard
SOULAYROL René
STAHL André
TAMALET Jacques
TARANGER-CHARPIN Colette
THIRION Xavier
THOMASSIN Jean-Marc
UNAL Daniel
VAGUE Philippe
VAGUE/JUHAN Irène

EMERITAT

2008

M. le Professeur	LEVY Samuel	31/08/2011
Mme le Professeur	JUHAN-VAGUE Irène	31/08/2011
M. le Professeur	PONCET Michel	31/08/2011
M. le Professeur	KASBARIAN Michel	31/08/2011
M. le Professeur	ROBERTOUX Pierre	31/08/2011

2009

M. le Professeur	DJIANE Pierre	31/08/2011
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2012

2010

M. le Professeur	MAGNAN Jacques	31/12/2014
------------------	----------------	------------

2011

M. le Professeur	DI MARINO Vincent	31/08/2015
M. le Professeur	MARTIN Pierre	31/08/2015
M. le Professeur	METRAS Dominique	31/08/2015

2012

M. le Professeur	AUBANIAC Jean-Manuel	31/08/2015
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2015
M. le Professeur	CAMBOULIVES Jean	31/08/2015
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2015
M. le Professeur	MATTEI Jean-François	31/08/2015
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2015
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2015

2013

M. le Professeur	BRANCHEREAU Alain	31/08/2016
M. le Professeur	CARAYON Pierre	31/08/2016
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2016
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2016
M. le Professeur	HENRY Jean-François	31/08/2016
M. le Professeur	LE GUICHAOUA Marie-Roberte	31/08/2016
M. le Professeur	RUFO Marcel	31/08/2016
M. le Professeur	SEBAHOUN Gérard	31/08/2016

2014

M. le Professeur	FUENTES Pierre	31/08/2017
M. le Professeur	GAMERRE Marc	31/08/2017
M. le Professeur	MAGALON Guy	31/08/2017
M. le Professeur	PERAGUT Jean-Claude	31/08/2017
M. le Professeur	WEILLER Pierre-Jean	31/08/2017

2015

M. le Professeur	COULANGE Christian	31/08/2018
M. le Professeur	COURAND François	31/08/2018
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2016
M. le Professeur	MATTEI Jean-François	31/08/2016
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2016
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2016

2016

M. le Professeur	BONGRAND Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2017
M. le Professeur	BRUNET Christian	31/08/2019
M. le Professeur	CAU Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2017
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2017
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2019
M. le Professeur	JAMMES Yves	31/08/2019
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2019
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2017
M. le Professeur	POITOUT Dominique	31/08/2019
M. le Professeur	SEBAHOUN Gérard	31/08/2017
M. le Professeur	VIALETES Bernard	31/08/2019

2017

M. le Professeur	ALESSANDRINI Pierre	31/08/2020
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2018
M. le Professeur	CHAUVEL Patrick	31/08/2020
M. le Professeur	COZZONE Pierre	31/08/2018
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2018
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2018
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2018
M. le Professeur	SEBBAHOUN Gérard	31/08/2018

2018

M. le Professeur	MARANINCHI Dominique	31/08/2021
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2019
M. le Professeur	COZZONE Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2019
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2019
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2019

2019

M. le Professeur	BERLAND Yvon	31/08/2022
M. le Professeur	CHARPIN Denis	31/08/2022
M. le Professeur	CLAVERIE Jean-Michel	31/08/2022
M. le Professeur	FRANCES Yves	31/08/2022
M. le Professeur	CAU Pierre	31/08/2020
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2020
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2020

M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2020
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2020
M. le Professeur	MAGALON Guy	31/08/2020
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2020
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2020
M. le Professeur	WEILLER Pierre-Jean	31/08/2020

2020

M. le Professeur	DELPERO Jean-Robert	31/08/2023
M. le Professeur	GRIMAUD Jean-Charles	31/08/2023
M. le Professeur	SAMBUC Roland	31/08/2023
M. le Professeur	SEITZ Jean-François	31/08/2023
M. le Professeur	BERLAND Yvon	31/08/2022
M. le Professeur	CHARPIN Denis	31/08/2022
M. le Professeur	CLAVERIE Jean-Michel	31/08/2022
M. le Professeur	FRANCES Yves	31/08/2022
M. le Professeur	BONGRAND Pierre	31/08/2021
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2021
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2021
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2021
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2021

Honoris causa

1967	
MM. les Professeurs	DADI (Italie) CID DOS SANTOS (Portugal)
1974	
MM. les Professeurs	MAC ILWAIN (Grande-Bretagne) T.A. LAMBO (Suisse)
1975	
MM. les Professeurs	O. SWENSON (U.S.A.) Lord J.WALTON of DETCHANT (Grande-Bretagne)
1976	
MM. les Professeurs	P. FRANCHIMONT (Belgique) Z.J. BOWERS (U.S.A.)
1977	
MM. les Professeurs	C. GAJDUSEK-Prix Nobel (U.S.A.) C.GIBBS (U.S.A.) J. DACIE (Grande-Bretagne)
1978	
M. le Président	F. HOUPHOUET-BOIGNY (Côte d'Ivoire)
1980	
MM. les Professeurs	A. MARGULIS (U.S.A.) R.D. ADAMS (U.S.A.)
1981	
MM. les Professeurs	H. RAPPAPORT (U.S.A.) M. SCHOU (Danemark) M. AMENT (U.S.A.) Sir A. HUXLEY (Grande-Bretagne) S. REFSUM (Norvège)
1982	
M. le Professeur	W.H. HENDREN (U.S.A.)
1985	
MM. les Professeurs	S. MASSRY (U.S.A.) KLINSMANN (R.D.A.)
1986	
MM. les Professeurs	E. MIHICH (U.S.A.) T. MUNSAT (U.S.A.) LIANA BOLIS (Suisse) L.P. ROWLAND (U.S.A.)

1987	
M. le Professeur	P.J. DYCK (U.S.A.)
1988	
MM. les Professeurs	R. BERGUER (U.S.A.) W.K. ENGEL (U.S.A.) V. ASKANAS (U.S.A.) J. WEHSTER KIRKLIN (U.S.A.) A. DAVIGNON (Canada) A. BETTARELLO (Brésil)
1989	
M. le Professeur	P. MUSTACCHI (U.S.A.)
1990	
MM. les Professeurs	J.G. MC LEOD (Australie) J. PORTER (U.S.A.)
1991	
MM. les Professeurs	J. Edward MC DADE (U.S.A.) W. BURGDORFER (U.S.A.)
1992	
MM. les Professeurs	H.G. SCHWARZACHER (Autriche) D. CARSON (U.S.A.) T. YAMAMURO (Japon)
1994	
MM. les Professeurs	G. KARPATI (Canada) W.J. KOLFF (U.S.A.)
1995	
MM. les Professeurs	D. WALKER (U.S.A.) M. MULLER (Suisse) V. BONOMINI (Italie)
1997	
MM. les Professeurs	C. DINARELLO (U.S.A.) D. STULBERG (U.S.A.) A. MEIKLE DAVISON (Grande-Bretagne) P.I. BRANEMARK (Suède)
1998	
MM. les Professeurs	O. JARDETSKY (U.S.A.)
1999	
MM. les Professeurs	J. BOTELLA LLUSIA (Espagne)

D. COLLEN (Belgique)
S. DIMAURO (U. S. A.)

2000

MM. les Professeurs

D. SPIEGEL (U. S. A.)
C. R. CONTI (U.S.A.)

2001

MM. les Professeurs

P-B. BENNET (U. S. A.)
G. HUGUES (Grande Bretagne)
J-J. O'CONNOR (Grande Bretagne)

2002

MM. les Professeurs

M. ABEDI (Canada)
K. DAI (Chine)

2003

M. le Professeur
Sir

T. MARRIE (Canada)
G.K. RADDI (Grande Bretagne)

2004

M. le Professeur

M. DAKE (U.S.A.)

2005

M. le Professeur

L. CAVALLI-SFORZA (U.S.A.)

2006

M. le Professeur

A. R. CASTANEDA (U.S.A.)

2007

M. le Professeur

S. KAUFMANN (Allemagne)

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

AGOSTINI FERRANDES Aubert	CHOSSEGROS Cyrille	GUIEU Régis
ALBANESE Jacques	COLLART Frédéric	GUIS Sandrine
ALIMI Yves	COSTELLO Régis	GUYE Maxime
AMABILE Philippe	COURBIERE Blandine	GUYOT Laurent
AMBROSI Pierre	COWEN Didier	<i>GUYYS Jean-Michel Surnombre</i>
ANDRE Nicolas	CRAVELLO Ludovic	HABIB Gilbert
ARGENSON Jean-Noël	CUISSET Thomas	HARDWIGSEN Jean
ASTOUL Philippe	DA FONSECA David	HARLE Jean-Robert
ATTARIAN Shahram	DAHAN-ALCARAZ Laetitia	HOUVENAEGHEL Gilles
AUDOUIN Bertrand	DANIEL Laurent	JACQUIER Alexis
AUQUIER Pascal	DARMON Patrice	JOURDE-CHICHE Noémie
AVIERINOS Jean-François	DAVID Thierry	JOUVE Jean-Luc KAPLANSKI Gilles
AZULAY Jean-Philippe	D'ERCOLE Claude	KARSENTY Gilles
BAILLY Daniel	D'JOURNO Xavier	<i>KERBAUL François détachement</i>
BARLESI Fabrice	DEHARO Jean-Claude	KRAHN Martin
BARLIER-SETTI Anne	DELAPORTE Emmanuel	LAFFORGUE Pierre
BARLOGIS Vincent	DENIS Danièle	LAGIER Jean-Christophe
BARTHET Marc	DISDIER Patrick	LAMBAUDIE Eric
BARTOLI Christophe	DODDOLI Christophe	LANCON Christophe
BARTOLI Jean-Michel	DRANCOURT Michel	LA SCOLA Bernard LAUNAY Franck
BARTOLI Michel	DUBUS Jean-Christophe	LAVIEILLE Jean-Pierre
BARTOLOMEI Fabrice	DUFFAUD Florence	LE CORROLLER Thomas
BASTIDE Cyrille	DUFOUR Henry	LECHEVALLIER Eric
BENSOUSSAN Laurent	DURAND Jean-Marc	LEGRE Régis
BERBIS Philippe	DUSSOL Bertrand	LEHUCHER-MICHEL Marie-Pascale
BERBIS Julie	EBBO Mikaël	LEONE Marc
BERDAH Stéphane	EUSEBIO Alexandre	LEONETTI Georges
BEROUD Christophe	FABRE Alexandre	LEPIDI Hubert
BERTUCCI François	FAKHRY Nicolas	LEVY Nicolas
BLAISE Didier	FELICIAN Olivier	MACE Loïc MAGNAN Pierre-Edouard
BLIN Olivier	FENOLLAR Florence	MANCINI Julien
BLONDEL Benjamin	FIGARELLA/BRANGER Dominique	MEGE Jean-Louis
BONIN/GUILLAUME Sylvie	FLECHER Xavier	MERROT Thierry
BONELLO Laurent	FOUILLOUX Virginie	METZLER/GUILLEMAIN Catherine
BONNET Jean-Louis	FOURNIER Pierre-Edouard	MEYER/DUTOUR Anne
<i>BOUBLI Léon Surnombre</i>	FRANCESCHI Frédéric	MICCALEF/ROLL Joëlle
BOUFI Mourad	FUENTES Stéphane	MICHEL Fabrice
BOYER Laurent	GABERT Jean	MICHEL Gérard
BREGEON Fabienne	GABORIT Bénédicte	MICHEL Justin
BRETELLE Florence	GAINNIER Marc	MICHELET Pierre
BROUQUI Philippe	GARCIA Stéphane	MILH Mathieu
BRUDER Nicolas	GARIBOLDI Vlad	MILLION Matthieu
BRUE Thierry	GAUDART Jean	MOAL Valérie
BRUNET Philippe	GAUDY-MARQUESTE Caroline	MORANGE Pierre-Emmanuel
BURTEY Stéphane	GENTILE Stéphanie	MOULIN Guy MOUTARDIER Vincent
CARCOPINO-TUSOLI Xavier	GERBEAUX Patrick	NAUDIN Jean
CASANOVA Dominique	GEROLAMI/SANTANDREA René	NICOLAS DE LAMBALLERIE Xavier
CASTINETTI Frédéric	GILBERT/ALESSI Marie-Christine	NICOLLAS Richard NGUYEN Karine
CECCALDI Mathieu	GIORGI Roch	OLIVE Daniel
CHAGNAUD Christophe	GIOVANNI Antoine	OLLIVIER Matthieu
CHAMBOST Hervé	GIRARD Nadine	OUAFIK L'Houcine
CHAMPSAUR Pierre	GIRAUD/CHABROL Brigitte	OVAERT-REGGIO Caroline
CHANEZ Pascal	GONCALVES Anthony	PADOVANI Laetitia
CHARAFFE-JAUFFRET Emmanuelle	GRANEL/REY Brigitte	
CHARREL Rémi	GRANVAL Philippe	
CHAUMOITRE Kathia	GREILLIER Laurent	
CHIARONI Jacques	GROB Jean-Jacques	
CHINOT Olivier	GUEDJ Eric	

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

PAGANELLI Franck	ROCHE Pierre-Hugues	TURRINI Olivier
<i>PANUEL Michel Surnombre</i>	ROCH Antoine	VALERO René
PAPAZIAN Laurent	ROCHWERGER Richard	VAROQUAUX Arthur Damien
PAROLA Philippe	ROLL Patrice	VELLY Lionel
<i>PARRATTE Sébastien Disponibilité</i>	ROSSI Dominique	VEY Norbert
PELISSIER-ALICOT Anne-Laure	ROSSI Pascal	VIDAL Vincent
PELLETIER Jean	ROUDIER Jean	VIENS Patrice
PERRIN Jeanne	SALAS Sébastien	VILLANI Patrick
PETIT Philippe	SARLON-BARTOLI Gabrielle	VITON Jean-Michel
PHAM Thao	SCAVARDA Didier	VITTON Véronique
PIERCECCHI/MARTI Marie-Dominique	SCHLEINITZ Nicolas	<i>VIEHWEGER Heide Elke détachement</i>
PIQUET Philippe	SEBAG Frédéric	VIVIER Eric
PIRRO Nicolas	SIELEZNEFF Igor	XERRI Luc
POINSO François	SIMON Nicolas	
RACCAH Denis	STEIN Andréas	
RANQUE Stéphane	TAIEB David	
<i>RAOULT Didier Surnombre</i>	THOMAS Pascal	
REGIS Jean	THUNY Franck	
REYNAUD/GAUBERT Martine	TREBUCHON-DA FONSECA Agnès	
REYNAUD Rachel	TRIGLIA Jean-Michel	
RICHARD/LALLEMAND Marie-Aleth	TROPIANO Patrick	
RICHERI Raphaëlle	TSIMARATOS Michel	

PROFESSEUR DES UNIVERSITES

ADALIAN Pascal
AGHABABIAN Valérie
BELIN Pascal
CHABANNON Christian
CHABRIERE Eric
FERON François
LE COZ Pierre
LEVASSEUR Anthony
RANJEVA Jean-Philippe
SOBOL Hagay

PROFESSEUR CERTIFIE

BRANDENBURGER Chantal retraite mars 2021
FRAISSE-MANGIALOMINI Jeanne

PROFESSEUR DES UNIVERSITES ASSOCIE à MI-TEMPS

REVIS Joana

PROFESSEUR DES UNIVERSITES MEDECINE GENERALE

GENTILE Gaëtan

PROFESSEUR ASSOCIE DE MEDECINE GENERALE

GUIDA Pierre

AHERFI Sarah	ELDIN Carole	PAULMYER/LACROIX Odile
ANGELAKIS Emmanouil (<i>disponibilité</i>)	FAURE Alice	PESENTI Sébastien
ATLAN Catherine (<i>disponibilité</i>)	FOLETTI Jean- Marc	RADULESCO Thomas
BEGE Thierry	FRANKEL Diane	RESSEGUIER Noémie
BELIARD Sophie	FROMNOT Julien	ROBERT Philippe
BENYAMINE Audrey	GASTALDI Marguerite	ROBERT Thomas
BERTRAND Baptiste	GELSI/BOYER Véronique	ROMANET Pauline
BEYER-BERJOT Laura	GIUSIANO Bernard	SABATIER Renaud
BIRNBAUM David	GIUSIANO COURCAMBECK Sophie	SARI-MINODIER Irène
BONINI Francesca	GONZALEZ Jean-Michel	SAVEANU Alexandru
BOUCRAUT Joseph	GOURIET Frédérique	<i>SECQ Véronique (disponibilité)</i>
BOULAMERY Audrey	GRAILLON Thomas	STELLMANN Jan-Patrick
BOULLU/CIOCCA Sandrine	GUERIN Carole	SUCHON Pierre
BOUSSEN Salah Michel	GUENOUN MEYSSIGNAC Daphné	TABOURET Emeline
BUFFAT Christophe	GUIDON Catherine	TOGA Caroline
CAMILLERI Serge	GUIVARCH Jokthan	TOGA Isabelle
CARRON Romain	HAUTIER/KRAHN Aurélie	TOMASINI Pascale
CASSAGNE Carole	HRAIECH Sami	TOSELLO Barthélémy
CERMOLACCE Michel	KASPI-PEZZOLI Elise	TROUSSE Delphine
CHAUDET Hervé	L'OLLIVIER Coralie	TUCHTAN-TORRENTS Lucile
CHRETIEN Anne-Sophie	LABIT-BOUVIER Corinne	VELY Frédéric
COZE Carole	LAFAGE/POCHITALOFF-HUVALE Marina	VION-DURY Jean
CUNY Thomas	LAGARDE Stanislas	ZATTARA/CANNONI Hélène
<i>DADOUN Frédéric (disponibilité)</i>	<i>LAGIER Aude (disponibilité)</i>	
DALES Jean-Philippe	LAGOUANELLE/SIMEONI Marie-Claude	
DARIEL Anne	LEVY/MOZZICONACCI Annie	
DAUMAS Aurélie	LOOSVELD Marie	
DEGEORGES/VITTE Joëlle	MAAROUF Adil	
DELLIAUX Stéphane	MACAGNO Nicolas	
DESPLAT/JEGO Sophie	MAUES DE PAULA André	
DEVILLIER Raynier	MEGE Diane	
DUBOURG Grégory	MOTTOLA GHIGO Giovanna	
DUCONSEIL Pauline	NINOVE Laetitia	
DUFOUR Jean-Charles	NOUGAIREDE Antoine	

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

(mono-appartenants)

ABU ZAINEH Mohammad	DESNUES Benoît	RUEL Jérôme
BARBACARU/PERLES T. A.	MARANINCHI Marie	THOLLON Lionel
BERLAND Caroline	MERHEJ/CHAUVEAU Vicky	THIRION Sylvie
BOYER Sylvie	MINVIELLE/DEVICTOR Bénédicte	VERNA Emeline
COLSON Sébastien	POGGI Marjorie	
DEGIOANNI/SALLE Anna	POUGET Benoît	

MAITRE DE CONFERENCES DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

CASANOVA Ludovic

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DE MEDECINE GENERALE à MI-TEMPS

BARGIER Jacques
 CALVET-MONTREDON Céline
 FORTE Jenny
 JANCZEWSKI Aurélie
 NUSSLI Nicolas
 ROUSSEAU-DURAND Raphaëlle
 THERY Didier

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE à MI-TEMPS

BOURRIQUEN Maryline

EVANS-VIALLAT Catherine

LAZZAROTTO Sébastien

LUCAS Guillaume

MATHIEU Marion

MAYENS-RODRIGUES Sandrine

MELLINAS Marie

ROMAN Christophe

TRINQUET Laure

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES et MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS
PROFESSEURS ASSOCIES, MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES mono-appartenants**

ANATOMIE 4201

CHAMPSAUR Pierre (PU-PH)
LE CORROLLER Thomas (PU-PH)
PIRRO Nicolas (PU-PH)

GUENOUN-MEYSSIGNAC Daphné (MCU-PH)
LAGIER Aude (MCU-PH) *disponibilité*

THOLLON Lionel (MCF) (60ème section)

ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES 4203

CHARAFE/JAUFFRET Emmanuelle (PU-PH)
DANIEL Laurent (PU-PH)
FIGARELLA/BRANGER Dominique (PU-PH)
GARCIA Stéphane (PU-PH)
XERRI Luc (PU-PH)

DALES Jean-Philippe (MCU-PH)
GIUSIANO COURCAMBECK Sophie (MCU PH)
LABIT/BOUVIER Corinne (MCU-PH)
MACAGNO Nicolas (MCU-PH)
MAUES DE PAULA André (MCU-PH)
SECQ Véronique (MCU-PH) *disponibilité*

**ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION CHIRURGICALE ;
MEDECINE URGENCE 4801**

ALBANESE Jacques (PU-PH)
BRUDER Nicolas (PU-PH)
LEONE Marc (PU-PH)
MICHEL Fabrice (PU-PH)
VELLY Lionel (PU-PH)

BOUSSEN Salah Michel (MCU-PH)
GUIDON Catherine (MCU-PH)

ANTHROPOLOGIE 20

ADALIAN Pascal (PR)
DEGIOANNI/SALLE Anna (MCF)
POUGET Benoît (MCF)
VERNA Emeline (MCF)

BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE 4501

CHARREL Rémi (PU PH)
DRANCOURT Michel (PU-PH)
FENOLLAR Florence (PU-PH)
FOURNIER Pierre-Edouard (PU-PH)
NICOLAS DE LAMBALLERIE Xavier (PU-PH)
LA SCOLA Bernard (PU-PH)
RAOULT Didier (PU-PH) *Surnombre*

AHERFI Sarah (MCU-PH)
ANGELAKIS Emmanouil (MCU-PH) *disponibilité*
DUBOURG Grégory (MCU-PH)
GOURIET Frédérique (MCU-PH)
NOUGAIREDE Antoine (MCU-PH)
NINOVE Laetitia (MCU-PH)

CHABRIERE Eric (PR) (64ème section)

LEVASSEUR Anthony (PR) (64ème section)
DESNUES Benoit (MCF) (65ème section)
MERHEJ/CHAUVEAU Vicky (MCF) (87ème section)

BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE 4401

BARLIER/SETTI Anne (PU-PH)
GABERT Jean (PU-PH)
GUIEU Régis (PU-PH)
OUAFIK L'Houcine (PU-PH)

BUFFAT Christophe (MCU-PH)
FROMNOT Julien (MCU-PH)
MOTTOLA GHIGO Giovanna (MCU-PH)
ROMANET Pauline (MCU-PH)
SAVEANU Alexandru (MCU-PH)

ANGLAIS 11

BRANDENBURGER Chantal (PRCE) *retraite mars 2021*
FRAISSE-MANGIALOMINI Jeanne (PRCE)

**BIOLOGIE ET MEDECINE DU DEVELOPPEMENT
ET DE LA REPRODUCTION ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5405**

METZLER/GUILLEMAIN Catherine (PU-PH)
PERRIN Jeanne (PU-PH)

BIOLOGIE CELLULAIRE 4403

ROLL Patrice (PU-PH)
FRANKEL Diane (MCU-PH)
GASTALDI Marguerite (MCU-PH)
KASPI-PEZZOLI Elise (MCU-PH)
LEVY-MOZZICONNACCI Annie (MCU-PH)

BIOPHYSIQUE ET MEDECINE NUCLEAIRE 4301

GUEDJ Eric (PU-PH)
 GUYE Maxime (PU-PH)
 TAIEB David (PU-PH)

BELIN Pascal (PR) (69ème section)
 RANJEVA Jean-Philippe (PR) (69ème section)

CAMMILLERI Serge (MCU-PH)
 VION-DURY Jean (MCU-PH)

BARBACARU/PERLES Téodora Adriana (MCF) (69ème section)

BIOSTATISTIQUES, INFORMATIQUE MEDICALE ET TECHNOLOGIES DE COMMUNICATION 4604

GAUDART Jean (PU-PH)
 GIORGI Roch (PU-PH)
 MANCINI Julien (PU-PH)

CHAUDET Hervé (MCU-PH)
 DUFOUR Jean-Charles (MCU-PH)
 GIUSIANO Bernard (MCU-PH)

ABU ZAINEH Mohammad (MCF) (5ème section)
 BOYER Sylvie (MCF) (5ème section)

CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE 5002

ARGENSON Jean-Noël (PU-PH)
 BLONDEL Benjamin (PU-PH)
 FLECHER Xavier (PU PH)
 OLLIVIER Matthieu (PU-PH)
 PARRATTE Sébastien (PU-PH) *Disponibilité*
 ROCHWERGER Richard (PU-PH)
 TROPIANO Patrick (PU-PH)

CANCEROLOGIE : RADIOTHERAPIE 4702

BERTUCCI François (PU-PH)
 CHINOT Olivier (PU-PH)
 COWEN Didier (PU-PH)
 DUFFAUD Florence (PU-PH)
 GONCALVES Anthony (PU-PH)
 HOUVENAEGHEL Gilles (PU-PH)
 LAMBAUDIE Eric (PU-PH)
 PADOVANI Laetitia (PH-PH)
 SALAS Sébastien (PU-PH)
 VIENS Patrice (PU-PH)

SABATIER Renaud (MCU-PH)
 TABOURET Emeline (MCU-PH)

CARDIOLOGIE 5102

AVIERINOS Jean-François (PU-PH)
 BONELLO Laurent (PU PH)
 BONNET Jean-Louis (PU-PH)
 CUISSET Thomas (PU-PH)
 DEHARO Jean-Claude (PU-PH)
 FRANCESCHI Frédéric (PU-PH)
 HABIB Gilbert (PU-PH)
 PAGANELLI Franck (PU-PH)
 THUNY Franck (PU-PH)

CHIRURGIE VISCERALE ET DIGESTIVE 5202

BERDAH Stéphane (PU-PH)
 HARDWIGSEN Jean (PU-PH)
 MOUTARDIER Vincent (PU-PH)
 SEBAG Frédéric (PU-PH)
 SIELEZNEFF Igor (PU-PH)
 TURRINI Olivier (PU-PH)

BEGE Thierry (MCU-PH)
 BEYER-BERJOT Laura (MCU-PH)
 BIRNBAUM David (MCU-PH)
 DUCONSEIL Pauline (MCU-PH)
 GUERIN Carole (MCU PH)
 MEGE Diane (MCU-PH)

CHIRURGIE INFANTILE 5402

GUYS Jean-Michel (PU-PH) Surnombre
 JOUVE Jean-Luc (PU-PH)
 LAUNAY Franck (PU-PH)
 MERROT Thierry (PU-PH)
 VIEHWEGER Heide Elke (PU-PH) *détachement*
 DARIEL Anne (MCU-PH)
 FAURE Alice (MCU PH)
 PESENTI Sébastien (MCU-PH)

CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE ET STOMATOLOGIE 5503

CHOSSEGROS Cyrille (PU-PH)
 GUYOT Laurent (PU-PH)
 FOLETTI Jean-Marc (MCU-PH)

CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE 5103

COLLART Frédéric (PU-PH)
 D'JOURNO Xavier (PU-PH)
 DODDOLI Christophe (PU-PH)
 FOUILLOUX Virginie (PU-PH)
 GARIBOLDI Vlad (PU-PH)
 MACE Loïc (PU-PH)
 THOMAS Pascal (PU-PH)
 TROUSSE Delphine (MCU-PH)

CHIRURGIE PLASTIQUE,**RECONSTRUCTRICE ET ESTHETIQUE ; BRÛLOGIE 5004**

CASANOVA Dominique (PU-PH)
 LEGRE Régis (PU-PH)
 BERTRAND Baptiste (MCU-PH)
 HAUTIER/KRAHN Aurélie (MCU-PH)

CHIRURGIE VASCULAIRE ; MEDECINE VASCULAIRE 5104

ALIMI Yves (PU-PH)
 AMABILE Philippe (PU-PH)
 BARTOLI Michel (PU-PH)
 BOUFI Mourad (PU-PH)
 MAGNAN Pierre-Edouard (PU-PH)
 PIQUET Philippe (PU-PH)
 SARLON-BARTOLI Gabrielle (PU PH)

GASTROENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE ; ADDICTOLOGIE 5201

BARTHET Marc (PU-PH)
 DAHAN-ALCARAZ Laetitia (PU-PH)
 GEROLAMI-SANTANDREA René (PU-PH)
 GRANDVAL Philippe (PU-PH)
 VITTON Véronique (PU-PH)

HISTOLOGIE, EMBRYOLOGIE ET CYTOGENETIQUE 4202

LEPIDI Hubert (PU-PH)
 PAULMYER/LACROIX Odile (MCU-PH)

GONZALEZ Jean-Michel (MCU-PH)

DERMATOLOGIE - VENEREOLOGIE 5003

BERBIS Philippe (PU-PH)
 DELAPORTE Emmanuel (PU-PH)
 GAUDY/MARQUESTE Caroline (PU-PH)
 GROB Jean-Jacques (PU-PH)
 RICHARD/LALLEMAND Marie-Aleth (PU-PH)

GENETIQUE 4704

BEROUD Christophe (PU-PH)
 KRAHN Martin (PU-PH)
 LEVY Nicolas (PU-PH)
 NGYUEN Karine (PU-PH)

DUSI

COLSON Sébastien (MCF)

TOGA Caroline (MCU-PH)
 ZATTARA/CANNONI Hélène (MCU-PH)

BOURRIQUEN Maryline (MAST)
 EVANS-VIALLAT Catherine (MAST)
 LUCAS Guillaume (MAST)
 MAYEN-RODRIGUES Sandrine (MAST)
 MELLINAS Marie (MAST)
 ROMAN Christophe (MAST)
 TRINQUET Laure (MAST)

GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5403

AGOSTINI Aubert (PU-PH)
 BOUBLI Léon (PU-PH) *Surnombre*
 BRETTELLE Florence (PU-PH)
 CARCOPINO-TUSOLI Xavier (PU-PH)
 COURBIERE Blandine (PU-PH)
 CRAVELLO Ludovic (PU-PH)
 D'ERCOLE Claude (PU-PH)

ENDOCRINOLOGIE ,DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5404

BRUE Thierry (PU-PH)
 CASTINETTI Frédéric (PU-PH)
 CUNY Thomas (MCU PH)

EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE ET PREVENTION 4601

AUQUIER Pascal (PU-PH)
 BERBIS Julie (PU-PH)
 BOYER Laurent (PU-PH)
 GENTILE Stéphanie (PU-PH)

LAGOUANELLE/SIMEONI Marie-Claude (MCU-PH)
 RESSEGUIER Noémie (MCU-PH)

MINVIELLE/DEVICTOR Bénédicte (MCF)(06ème section)

HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION 4701

BLAISE Didier (PU-PH)
 COSTELLO Régis (PU-PH)
 CHIARONI Jacques (PU-PH)
 GILBERT/ALESSI Marie-Christine (PU-PH)
 MORANGE Pierre-Emmanuel (PU-PH)
 VEY Norbert (PU-PH)

DEVILLIER Raynier (MCU PH)
 GELSI/BOYER Véronique (MCU-PH)
 LAFAGE/POCHITALOFF-HUVALE Marina (MCU-PH)
 LOOSVELD Marie (MCU-PH)
 SUCHON Pierre (MCU-PH)

POGGI Marjorie (MCF) (64ème section)

IMMUNOLOGIE 4703

KAPLANSKI Gilles (PU-PH)
 MEGE Jean-Louis (PU-PH)
 OLIVE Daniel (PU-PH)
 VIVIER Eric (PU-PH)

FERON François (PR) (69ème section)

BOUCRAUT Joseph (MCU-PH)
 CHRETIEN Anne-Sophie (MCU PH)
 DEGEORGES/MITTE Joëlle (MCU-PH)
 DESPLAT/JEGO Sophie (MCU-PH)
 ROBERT Philippe (MCU-PH)
 VELY Frédéric (MCU-PH)

MEDECINE LEGALE ET DROIT DE LA SANTE 4603

BARTOLI Christophe (PU-PH)
 LEONETTI Georges (PU-PH)
 PELISSIER-ALICOT Anne-Laure (PU-PH)
 PIERCECCHI-MARTI Marie-Dominique (PU-PH)

TUCHTAN-TORRENTS Lucile (MCU-PH)

BERLAND Caroline (MCF) (1ère section)

MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION 4905

BENSOUSSAN Laurent (PU-PH)
 VITON Jean-Michel (PU-PH)

MALADIES INFECTIEUSES ; MALADIES TROPICALES 4503

BROUQUI Philippe (PU-PH)
 LAGIER Jean-Christophe (PU-PH)
 MILLION Matthieu (PU-PH)
 PAROLA Philippe (PU-PH)
 STEIN Andréas (PU-PH)

ELDIN Carole (MCU-PH)

MEDECINE D'URGENCE 4805

KERBAUL François (PU-PH) détachement
 MICHELET Pierre (PU-PH)

MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL 4602

LEHUCHER/MICHEL Marie-Pascale (PU-PH)

SARI/MINODIER Irène (MCU-PH)

MEDECINE INTERNE ; GERIATRIE ET BIOLOGIE DU VIEILLISSEMENT ; ADDICTOLOGIE 5301

BONIN/GUILLAUME Sylvie (PU-PH)
 DISDIER Patrick (PU-PH)
 DURAND Jean-Marc (PU-PH)
 EBBO Mikael (PU-PH)
 GRANEL/REY Brigitte (PU-PH)
 HARLE Jean-Robert (PU-PH)
 ROSSI Pascal (PU-PH)
 SCHLEINITZ Nicolas (PU-PH)

BENYAMINE Audrey (MCU-PH)

MEDECINE GENERALE 5303

GENTILE Gaëtan (PR Méd. Gén. Temps plein)

CASANOVA Ludovic (MCF Méd. Gén. Temps plein)

GUIDA Pierre (PR associé Méd. Gén. à mi-temps) retraite au 25/09/2020 (MOAL Valérie (PU-PH)

BARGIER Jacques (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

CALVET-MONTREDON Céline (MCF associé Méd. Gén. à temps plein)

FORTE Jenny (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

JANCZEWSKI Aurélie (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

NUSSLI Nicolas (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

ROUSSEAU-DURAND Raphaëlle (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps) DUFOUR Henry (PU-PH)

THERY Didier (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps) (nomination au 1/11/2020) FUENTES Stéphane (PU-PH)

NUTRITION 4404

DARMON Patrice (PU-PH)

RACCAH Denis (PU-PH)

VALERO René (PU-PH)

ATLAN Catherine (MCU-PH) disponibilité

BELIARD Sophie (MCU-PH)

MARANINCHI Marie (MCF) (66ème section)

ONCOLOGIE 65 (BIOLOGIE CELLULAIRE)

CHABANNON Christian (PR) (66ème section)

SOBOL Hagay (PR) (65ème section)

OPHTALMOLOGIE 5502

DAVID Thierry (PU-PH)

DENIS Danièle (PU-PH)

OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE 5501

DESSI Patrick (PU-PH)

FAKHRY Nicolas (PU-PH)

GIOVANNI Antoine (PU-PH)

LAVIEILLE Jean-Pierre (PU-PH)

MICHEL Justin (PU-PH)

NICOLLAS Richard (PU-PH)

TRIGLIA Jean-Michel (PU-PH)

RADULESCO Thomas (MCU-PH)

REVIS Joana (PAST) (Orthophonie) (7ème Section)

NEPHROLOGIE 5203

BRUNET Philippe (PU-PH)

BURTEY Stéphanne (PU-PH)

DUSSOL Bertrand (PU-PH)

JOURDE CHICHE Noémie (PU PH)

ROBERT Thomas (MCU-PH)

NEUROCHIRURGIE 4902

DUFOUR Henry (PU-PH)

FUENTES Stéphane (PU-PH)

REGIS Jean (PU-PH)

ROCHE Pierre-Hugues (PU-PH)

SCAVARDA Didier (PU-PH)

CARRON Romain (MCU PH)

GRAILLON Thomas (MCU PH)

NEUROLOGIE 4901

ATTARIAN Sharham (PU PH)

AUDOIN Bertrand (PU-PH)

AZULAY Jean-Philippe (PU-PH)

CECCALDI Mathieu (PU-PH)

EUSEBIO Alexandre (PU-PH)

FELICIAN Olivier (PU-PH)

PELLETIER Jean (PU-PH)

MAAROUF Adil (MCU-PH)

PEDOPSYCHIATRIE; ADDICTOLOGIE 4904

DA FONSECA David (PU-PH)

POINSO François (PU-PH)

GUIVARCH Jokthan (MCU-PH)

**PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE -
PHARMACOLOGIE CLINIQUE; ADDICTOLOGIE 4803**

BLIN Olivier (PU-PH)

MICALLEF/ROLL Joëlle (PU-PH)

SIMON Nicolas (PU-PH)

BOULAMERY Audrey (MCU-PH)

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE 4502

RANQUE Stéphane (PU-PH)

CASSAGNE Carole (MCU-PH)
L'OLLIVIER Coralie (MCU-PH)
TOGA Isabelle (MCU-PH)**PHILOSOPHIE 17**

LE COZ Pierre (PR) (17ème section)

MATHIEU Marion (MAST)

PEDIATRIE 5401ANDRE Nicolas (PU-PH)
BARLOGIS Vincent (PU-PH)
CHAMBOST Hervé (PU-PH)
DUBUS Jean-Christophe (PU-PH)
FABRE Alexandre (PU-PH)
GIRAUD/CHABROL Brigitte (PU-PH)
MICHEL Gérard (PU-PH)
MILH Mathieu (PU-PH)
OVAERT-REGGIO Caroline (PU-PH)
REYNAUD Rachel (PU-PH)
TSIMARATOS Michel (PU-PH)

TOSELLO Barthélémy (MCU-PH)

PHYSIOLOGIE 4402BARTOLOMEI Fabrice (PU-PH)
BREGEON Fabienne (PU-PH)
GABORIT Bénédicte (PU-PH)
MEYER/DUTOUR Anne (PU-PH)
TREBUCHON/DA FONSECA Agnès (PU-PH)BONINI Francesca (MCU-PH)
BOULLU/CIOCCA Sandrine (MCU-PH)
DADOUN Frédéric (MCU-PH) (disponibilité)
DELLIAUX Stéphane (MCU-PH)
LAGARDE Stanislas (MCU-PH)RUEL Jérôme (MCF) (69ème section)
THIRION Sylvie (MCF) (66ème section)**PSYCHIATRIE D'ADULTES ; ADDICTOLOGIE 4903**BAILLY Daniel (PU-PH)
LANCON Christophe (PU-PH)
NAUDIN Jean (PU-PH)
RICHERI Raphaëlle (PU-PH)

CERMOLACCE Michel (MCU-PH)

PNEUMOLOGIE; ADDICTOLOGIE 5101ASTOUL Philippe (PU-PH)
BARLESI Fabrice (PU-PH)
CHANEZ Pascal (PU-PH)GREILLIER Laurent (PU PH)
REYNAUD/GAUBERT Martine (PU-PH)**PSYCHOLOGIE - PSYCHOLOGIE CLINIQUE, PCYCHOLOGIE SOCIALE 16**

AGHABABIAN Valérie (PR)

LAZZAROTTO Sébastien (MAST)

TOMASINI Pascale (MCU-PH)

RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE 4302BARTOLI Jean-Michel (PU-PH)
CHAGNAUD Christophe (PU-PH)
CHAUMOITRE Kathia (PU-PH)
GIRARD Nadine (PU-PH)
JACQUIER Alexis (PU-PH)
MOULIN Guy (PU-PH)
PANUEL Michel (PU-PH) surnombre
PETIT Philippe (PU-PH)
VAROQUAUX Arthur Damien (PU-PH)
VIDAL Vincent (PU-PH)

STELLMANN Jan-Patrick (MCU-PH)

RHUMATOLOGIE 5001GUIS Sandrine (PU-PH)
LAFFORGUE Pierre (PU-PH)
PHAM Thao (PU-PH)
ROUDIER Jean (PU-PH)**THERAPEUTIQUE; MEDECINE D'URGENCE; ADDICTOLOGIE 4804**AMBROSI Pierre (PU-PH)
VILLANI Patrick (PU-PH)

DAUMAS Aurélie (MCU-PH)

REANIMATION MEDICALE ; MEDECINE URGENCE 4802GAINNIER Marc (PU-PH)
GERBEAUX Patrick (PU-PH)
PAPAZIAN Laurent (PU-PH)
ROCH Antoine (PU-PH)

HRAIECH Sami (MCU-PH)

UROLOGIE 5204BASTIDE Cyrille (PU-PH)
KARSENTY Gilles (PU-PH)
LECHEVALLIER Eric (PU-PH)
ROSSI Dominique (PU-PH)

REMERCIEMENTS

Aux membres du Jury

A Monsieur le Professeur Laurent Daniel,

Je vous remercie de me faire l'immense honneur de présider mon Jury de Thèse.

Merci également pour tout l'apprentissage en Urophathologie dont j'ai pu bénéficier pendant ces 3 semestres auprès de vous à la Timone. Merci pour votre bienveillance et vos précieux conseils dans mes projets personnels.

A Madame le Docteur Corinne Labit-Bouvier,

Tout d'abord, je te remercie d'avoir si bien dirigé ce travail de thèse, avec patience, douceur et bienveillance dont tu fais preuve au quotidien. J'espère de tout cœur pouvoir retravailler avec toi très bientôt.

Merci également de m'avoir fait partager une parcelle de ton infime connaissance de la pathologie des tissus mous, qui s'est révélée passionnante pour moi.

Enfin, ce fut un réel plaisir d'avoir eu de nombreux échanges en dehors du cadre professionnel.

A Monsieur le Professeur Christophe Chagnaud,

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de mon Jury ainsi que de l'intérêt porté à mon travail.

A Monsieur le Professeur Sébastien Salas,

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de mon Jury de thèse ainsi que de l'intérêt porté à mon travail.

A Monsieur le Docteur André Maues de Paula,

Je te remercie de faire partie de mon Jury, ainsi que de m'avoir accordé du temps et de la disponibilité pour découvrir le monde de la cytogénétique.

A tous les médecins pathologistes qui m'ont formée et entourée pendant ces longues années d'internat :

Tout d'abord, je remercie toute l'équipe de l'Hôpital Nord, qui m'a vu grandir professionnellement et personnellement (avec mes 4 grossesses 😊), du premier jour d'internat jusqu'au dernier, où j'ai voulu terminer cette belle aventure avec vous.

Au Professeur Stéphane Garcia, merci pour tout votre apprentissage dans les domaines de la pathologie thoracique et digestive. Merci également d'avoir pris du temps personnel en première année d'internat pour me former en macroscopie (ce n'était pas tâche facile), ainsi que tous les précieux et nombreux conseils que vous m'avez donnés pendant toutes ces années. Merci pour toute votre bienveillance au quotidien, c'était un immense plaisir de travailler à vos côtés pendant plusieurs semestres.

A Amina, merci pour ta formation en Gynecopath ainsi qu'en cythopathologie où tu rayonne dans ce si difficile domaine.

A Sophie Gusiano, 'la chef des mésothéliomes', merci pour ta gentillesse et ta sympathie surtout pendant ces fameux staff d'uro qui duraient des heures le jeudi matin...merci infiniment pour ta pédagogie et ta rigueur que j'affectionnent tout particulièrement.

A Véronique Secq, 'la patronne des thymus et du poumon inflammatoire'. Je te remercie pour toutes tes belles connaissances que tu m'as fait partager dans ces domaines, ainsi que pour ta précision et ton professionnalisme en macroscopie.

A Jean-Philippe Dales, merci pour ta formation en Dermopathologie au début de mon internat qui m'a été très utile par la suite.

A Kevin, merci pour ton excellente formation en Gynécopathologie ainsi que toutes connaissances générales que tu m'as apprises, j'ai adoré travailler avec toi ce dernier semestre et j'espère vraiment que l'occasion se représentera.

Aux deux meilleurs assistants : ma belle Donatienne et mon petit Julien. Je vous ai vu grandir au fil des années et je n'ai qu'un mot à dire : bravo pour tout ce que vous faites, quelle magnifique évolution ! Vous étiez mes premiers co-internes et j'ai la chance de finir mon internat à vos côtés (même si je ne suis pas encore assistante comme vous 😊). Vous m'en apprenez tous les jours et je vous en remercie infiniment.

Bien évidemment je remercie toute l'équipe des techniciennes de Nord, et particulièrement ma chère Laurence et Hélène, pour qui j'ai un profond respect, vous m'avez connue depuis le début et vous m'avez suivie jusqu'à maintenant. Merci pour votre soutien au quotidien !!! Merci également à Samia et Valérie, mes deux secrétaires que j'apprécie tant, vous êtes mes deux chouchous !

Je remercie également toute l'équipe de l'IPC, où là aussi, j'ai passé quelques semestres de bonheur...

Merci au Professeur Luc Xerry, de m'avoir si bien accueillie dans votre service, et de m'avoir fait connaître le domaine de l'Hématopathologie.

A Jeanne, je ne sais pas par quoi commencer et comment te dire merci, tu m'as appris tellement de choses en Gynécopathologie, ça été notamment grâce à toi où j'ai eu le déclic pour cette spécialité. Tu as une pédagogie propre à toi qui allie travail et rigueur, le tout dans la bonne humeur et dans la joie. Merci également pour tes nombreux conseils dans mes choix personnels et les moments d'écoute pendant les périodes de doute...

A Sébastien, tu es un chef exceptionnel, tu as su me faire aimer et surtout comprendre l'Hématopathologie (domaine qui n'était pas trop ma tasse de thé au départ). Excellent pédagogue, j'ai passé également de très bons et nombreux moments de fous rires ! Tu me manques, j'espère qu'on pourra retravailler ensemble dans l'avenir.

Merci aussi à Lena, Flora, Maria, Marie Mélanie et Cécile pour votre apprentissage tout au long de ces semestres.

Enfin je remercie toute l'équipe médicale de la Timone,

Merci au Professeur Dominique Figarella, pour m'avoir accueillie tant de fois dans votre service et de votre bienveillance au cours de ces semestres passés.

A Marie-Christine, merci pour votre professionnalisme et votre précision en macroscopie qui m'ont perfectionné dans le domaine de la Gynécopath. Merci pour tous ces moments de soutien, d'écoute, et de partage. Vous savez tout le respect et la tendresse que j'ai envers vous. J'espère vous revoir bientôt.

A Wassim et Radia, ne changez pas, vous êtes deux chefs au top, et tous ces semestres à vos côtés ont été un réel plaisir.

A *Nicolas*, merci infiniment pour toute la formation que tu m'as léguée dans le domaine si vaste et si compliqué de la Dermatopathologie. Tu es un personnage atypique mais touchant que j'ai appris à connaître et que j'affectionne beaucoup malgré nos quelques différents.

Merci au Professeur Lépidi, à Jean, et à Julia pour leur formation et leur sympathie.

Enfin merci à mes deux assistantes de feu : Aurélie et Anaïs, vous formez une équipe de choc !!! Vous aussi vous avez fait du chemin depuis notre internat ensemble et je suis fière de vous ! Merci d'être présentes dans les moments durs (pardon pardon pardon et encore désolée Anaïs si je t'ai autant harcelé pendant cette période de thèse, heureusement que tu étais là...)

Je voulais remercier également Fred Fina, qui m'a été d'une aide précieuse dans le travail de cette thèse. De jours en jours, tu m'impressionnes avec tes connaissances, et merci également pour ta sympathie et ta bonne humeur qui te caractérisent.

Merci à toute l'équipe des techniciennes et des aides de laboratoire de la Timone (Virginie, Maguy, Aicha, Eden, Elodie, Justine et j'en passe...) avec qui j'ai noué un lien particulier et fort. Vous avez suivi ma 4^{ème} grossesse de près et je vous remercie de m'avoir autant soutenue pendant toute cette période.

Merci à Dominique, pour avoir passé autant de temps à lire et relire ces fameux cas de FISH ensemble...

Aux internes d'anapath,

Tout d'abord merci à mes co-internes de ce dernier semestre d'internat : Loïc, Grégoire, Valentin, Anna, Hussam et Elsa. Vous m'avez tant soutenue et supportée chaque jour et sans vous plaindre qui plus est ! Alors je vous en remercie du fond du cœur. Je n'aurai pas pu mieux tomber pour ce dernier semestre où j'ai passé d'excellents moments en votre compagnie. Ça été des moments de fous rires, de bonne entente, de pleurs (pour ma part mais pas à cause de vous hihihi), en tout cas encore merci nous avons formé une team parfaite ! Grâce à ce stage, j'ai découvert de belles personnes et j'espère qu'on gardera contact à l'avenir.

Loïc, petite dédicace personnelle (désolée pour les autres, mais c'est mon petit chouah ahahah, vous le savez), pour te dire à quel point tu comptes pour moi (et tu le sais déjà) merci pour ce que tu es, une personne entière, intelligente et surtout sensible (cette fameuse histoire de vache ahaha qui nous a bien fait rire). A tous nos fous rires et nos moments de grande réflexion, merci pour tout ton soutien au quotidien.

A tous les autres internes avec qui j'ai partagé des semestres, Hugo, Ilona, Marie, Elicia, Agathe, Romain, Amine, Coralie, Clément, ça été un réel plaisir de partager ces moments avec vous.

Pour les autres internes, Claire, Alexandre, Bastien, Mathias, nous n'avons pas eu l'occasion de passer un stage ensemble mais j'espère que nos chemins se recroiseront.

Je voulais aussi faire une dédicace spéciale à Anne-Claire, je n'ai pas eu la chance de te connaître personnellement mais tu m'as été d'une grande aide avec tes codes pour me connecter de Nord pendant cette grande période de stress. Cela m'a évité de nombreux allers retours donc un grand merci et un bon courage pour la suite !

A ma famille,

A mes 4 merveilleux et magnifiques enfants que j'ai la chance d'avoir auprès de moi, vous êtes toute ma joie, mon bonheur, ma force au quotidien, je vous aime si fort. Tout ce long et dur travail est en partie pour vous mes amours.

A toi, ma petite groseille, alias Révital, du haut de tes 5 ans, tu es déjà une merveilleuse petite fille, plein d'enthousiasme, de sensibilité, de caractère et de folie. Quand tu arriveras à lire toute seule (encore quelques mois et on y arrive 😊), et que tu liras ces phrases, j'espère que tu comprendras à quel point je suis fière de toi d'être autant responsable à ton âge et à quel point je t'aime.

A toi mon bonbon d'amour, alias Eliron, tu es ma douceur et mon démon à la fois. Tu as un caractère bien trempé qui te rend si unique et si spécial dans mon cœur. Je t'aime à la folie (tu es mon premier amoureux et pour toujours), je suis fière de toi et du petit garçon que tu deviens.

A toi mon petit beignet d'amour, alias Naor, tu es un enfant à la fois si doux, si affectueux, et si malicieux. Avec ta bonne bouille et ton sourire charmeur tu fais craquer tout le monde. Tu t'affirmes de jour en jour, ne change rien, je t'aime très fort et je suis très fière de toi.

Enfin, mon petit dernier (pour le moment 😊), mon petit ange, mon rayon de soleil, je t'aime tellement fort mon Avihay, merci pour toute la joie que tu nous procures depuis 9 mois, tu es le bébé parfait dans toute sa splendeur, tu as fait de moi une maman comblée.

A mon doudou, alias Efraim, mon amour, ces quelques mots ne suffiront pas pour te dire à quel point je suis reconnaissante pour tout ce que tu m'apportes au quotidien. Je sais que je ne suis pas une personnalité facile à vivre au quotidien, entre mes doutes et mes angoisses, tu as toujours su me rassurer, me reconforter dans les moments durs et être à l'écoute pendant tout ce temps. Tu es un mari exceptionnel (très drôle qui plus est) et un père formidable. J'espère que nous aurons encore de nombreux moments de joies à partager ensemble, je t'aime très fort, merci pour tout cela et bien plus encore.

A mes parents, malgré nos nombreux désaccords, vous savez à quel point je tiens à vous, et que je vous aime fort. Même si je ne vous le dis pas souvent, je vous suis reconnaissante de tout ce que vous m'avez apporté dans ma vie. Je vous souhaite une longue vie entourée de tous vos petits-enfants et un bon rétablissement pour mon papa chéri.

A mon frère, nos chemins se sont séparés avec la distance et nos différences d'horizons, mais tu resteras toujours mon frère. J'espère qu'avec le temps, les choses évolueront et qu'on se pardonnera nos erreurs.

A ma tante adorée, ma chère Nelly, qui m'a tant apporté dans mon enfance, je te suis reconnaissante pour tout cela, je t'adore reste comme tu es, aussi fofolle et excentrique avec une personnalité bien trempée. Je te souhaite d'être parmi nous pour encore de longues années, en bonne santé.

A mes autres tantes, Nicole, Gisèle, Muriel, et à mon oncle Lucien, la distance a fait que nous sommes moins proches, mais je vous aime tout autant et je vous souhaite une bonne santé et de longues années parmi nous.

A ma belle-famille, merci d'être autant respectueuse et tolérante de nos choix de vies, juste une chose à vous dire : venez nous voir plus souvent, on vous attend avec plaisir !

A mes amies et amis,

A ma chère Morgane, mon amie depuis petite, tu as toujours su me redonner le sourire avec ta personnalité excentrique et déjantée, que de bons souvenir avec toi, et j'espère qu'il y en aura encore d'autres. Je te souhaite le meilleur à venir.

A Ornella, on se connait depuis nos deux ans, on a grandi ensemble, on se connait par cœur, merci pour tous ces moments.

A Eva, ma radiologue préférée, on se ressemble sur plusieurs points, merci d'être là pour tous tes conseils dans ma vie de maman et de futur médecin.

A Sarah, ma petite israélienne, tu as toujours été là pour moi et même avec la distance, tu arrives à tenir tes engagements d'amitié, je te remercie pour tout et j'espère rapidement te rejoindre...

A ma Carole, qui a toujours été là pour moi depuis la première année de médecine, merci de m'avoir autant de fois rassurée dans tous mes moments de doutes. Aujourd'hui tu es une maman comblée et j'en suis très heureuse pour toi. Tu mérites pleins de bonnes choses !

A toutes mes autres copines, Estelle, Sarah, Audrey, Nancy, merci pour tous ces bons moments de joie et de kiff passés en votre compagnie.

Pour finir, je ne pouvais pas écrire cette page de remerciements sans parler du Docteur Jonathan Rouche. Comment te remercier pour tout ce que tu m'as apporté depuis que nous nous sommes rencontrés ce fameux soir à Dijon... grâce à toi, j'ai rencontré mon mari (ce qui est déjà beaucoup !!), tu m'as appris la néphrologie (mais j'ai tout oubliéahaha), tu es toujours là quand nous avons besoin de toi, et notamment quand tu nous as fait l'honneur de porter Naor à la circoncision. Je te suis entièrement reconnaissante pour tout cela, pour ton soutien et ta générosité dont tu as toujours fait preuve. Je te souhaite une merveilleuse vie auprès de ta femme (que j'adore, grosse dédicace à Ora) et de tes enfants, tu mérites le meilleur.

Merci et désolée à tous ceux que j'ai oubliés mais qui sont dans mon cœur, c'est une grosse page de vie qui se termine, qui a été plus longue que prévue mais pour la bonne cause.... Merci pour tout votre soutien.

Table des matières

I/ INTRODUCTION	2
1) Généralités et définitions des tumeurs conjonctives adipeuses de l'adulte	2
2) Diagnostic clinico-radiologique des tumeurs adipeuses bien différenciées	4
3) Diagnostic histologique	9
4) Diagnostic moléculaire et cytogénétique	10
5) Diagnostic immunohistochimique	14
6) Objectifs principaux et secondaires de notre étude	15
II/ MATERIEL ET METHODES	16
1) Matériel	16
2) Méthodes	17
a) IHC	17
b) FISH	17
c) Droplet Digital PCR	18
III/ RESULTATS	20
1) Données cliniques et paracliniques de la cohorte	20
2) Données microscopiques et moléculaires de la cohorte/ cas discordants	22
3) Comparaison des résultats obtenus en FISH et en Droplet Digital PCR	33
IV/ DISCUSSION	39
1) Performance diagnostique de la FISH sur microbiopsie pour le diagnostic des tumeurs adipeuses atypiques	39
2) Cas du liposarcome myxoïde avec territoires adipeux bien différenciés extensifs	44
3) Place de l'immunohistochimie sur microbiopsie	46
V/ CONCLUSION	47
ANNEXES	48
1) Technique de FISH	48
2) Technique de ddPCR	54
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	57
ABREVIATIONS	62

I/ INTRODUCTION

1) Généralités et définitions des tumeurs conjonctives adipeuses de l'adulte

Comme dans tous les types de tumeurs, les tumeurs des tissus mous sont constituées de lésions bénignes ainsi que des lésions malignes appelées sarcomes (1).

Le lipome représente la tumeur bénigne la plus fréquente (environ 50%) des tissus mous de l'adulte (1).

Les sarcomes, quant à eux, sont plus rares et représentent 0,5 à 1% des cancers de l'adulte (1).

Au sein de ces sarcomes, le liposarcome est la tumeur maligne la plus fréquente de l'adulte, représentant 20 à 25% (2) (3).

Dans la dernière classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) des Tumeurs des Tissus Mous et des Os parue en 2020, les liposarcomes sont divisés en 5 sous types histologiques et moléculaires, selon leur étape de différenciation adipocytaire et leurs caractéristiques moléculaires : la tumeur lipomateuse atypique / liposarcome bien différencié (ALT/WDLs), le liposarcome dédifférencié (DDLs), le liposarcome myxoïde / à cellules rondes, le liposarcome pléomorphe (PSCL) et le liposarcome myxoïde pléomorphe (1).

Le liposarcome bien différencié et le liposarcome myxoïde sont les plus fréquents des liposarcomes. En effet, le liposarcome bien différencié représente près de la moitié des liposarcomes (40-45%). Le liposarcome myxoïde représente environ 20 à 25% des liposarcomes (2) (3) (4).

Il est nécessaire de distinguer le lipome de la tumeur adipeuse atypique (ALT) / liposarcome bien différencié car leur évolution est différente et requiert donc une prise en charge thérapeutique et un suivi différent (5).

Les tumeurs adipeuses atypiques/ liposarcomes bien différenciés sont des sarcomes à génétique simple caractérisés par une amplification de la région chromosomique 12q13-15 contenant le gène *MDM2* (1) (2) (3) (6). Les liposarcomes pléomorphes sont

des tumeurs « à génétique complexe » caractérisés par de nombreuses anomalies non récurrentes et non spécifiques tandis que les liposarcomes myxoïdes /à cellules rondes sont définis par le plus souvent la translocation t (12 ;16) (q13 ; p11) générant le gène de fusion *FUS-DDIT3* (1) (3).

Les aspects moléculaires seront développés dans la section diagnostic moléculaire.

Le lipome, quant à lui, est une tumeur bénigne, qui nécessite soit une simple surveillance soit une exérèse chirurgicale en marges réduites.(5)

La tumeur adipeuse atypique/ liposarcome bien différencié, est un liposarcome de bas grade présentant un risque de récurrence locale (variable selon les études : de 5% à 22%) ainsi qu'un faible risque de dédifférenciation (6-17%) rarement d'emblée mais au cours d'éventuelles récurrences locales (4) (5) (7). La dédifférenciation si elle survient implique la possibilité d'apparition de métastases (8). Le terme tumeur adipeuse atypique doit être réservé aux localisations permettant une exérèse complète (tissus mous des membres) tandis que le terme liposarcome de bas grade doit être utilisé pour les localisations axiales : rétropéritone, médiastin ne permettant pas d'exérèse complète (6) (9) (8) (10). Les facteurs qui déterminent le risque de récurrence locale sont donc la localisation de la tumeur et la qualité d'exérèse (7) (8).

Les délais de récurrence de ces tumeurs de bas grade peuvent être long nécessitant un suivi prolongé des patients clinique et en imagerie (IRM) (7) (8).

La place de la radiothérapie dans le traitement du liposarcome bien différencié, est controversée et il n'existe pas à ce jour de gold standard bien défini (6). En effet, des études ont montré que la survie globale n'était pas modifiée quand il s'agit d'une tumeur des membres (ALT), mais peut s'avérer indiquée si les marges chirurgicales ne sont pas saines (R1) ou en cas de récurrences lorsque la chirurgie n'est pas possible ou mutilante (6) (8). Le risque de récurrence après radiothérapie est alors diminué de 74% selon certaines études (6) (8).

Le diagnostic des tumeurs adipeuses comme toute tumeur des tissus mous doit s'effectuer en centre de référence de « sarcomes » (5) (6) (7) (8).

2) Diagnostic clinico-radiologique des tumeurs adipeuses bien différenciées

Le lipome intéresse le plus souvent l'adulte, de 40 à 60 ans. Il est plus rare chez le jeune adulte et l'enfant, et il est plus fréquent chez les personnes obèses. Le lipome conventionnel intéresse les tissus sous cutanés superficiels, les tissus mous profonds (lipome intramusculaire) et rarement la surface des os (11) (12).

Cliniquement, il s'agit d'une tumeur asymptomatique ; mais peut devenir douloureuse et gênante en cas de compression nerveuse. Généralement il s'agit de petites tumeurs bien limitées < 5cm, saillantes sous la peau lorsque leur localisation est superficielle (12) (10).

Macroscopiquement, le lipome est une tumeur bien circonscrite, encapsulée, de surface jaune, et de consistance molle et homogène à la coupe. Le lipome intra ou intermusculaire est définie par la présence d'une portion de muscle squelettique en périphérie de la tumeur (12).

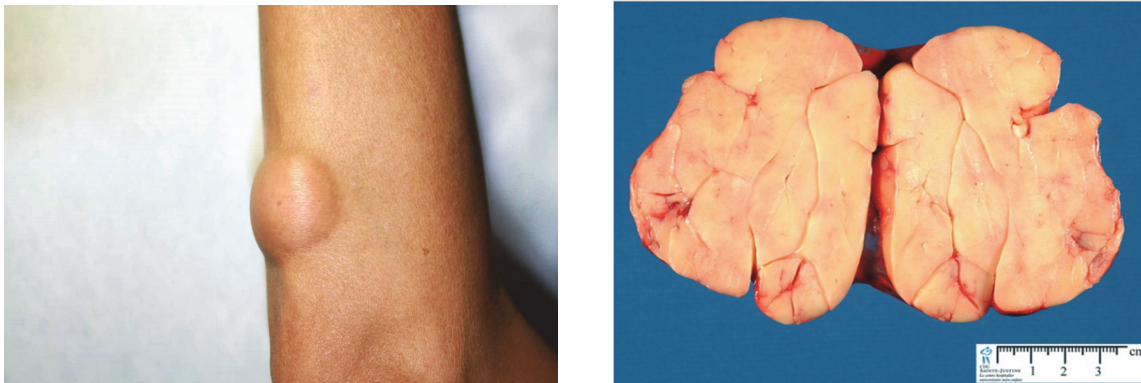


Photo clinique et macroscopique d'un lipome (Web Pathology)

La tumeur adipeuse atypique/ liposarcome bien différencié touche le plus souvent une population plus âgée que celle du lipome (âge moyen de 60 ans). Les tumeurs adipeuses atypiques correspondent à une tumeur développée dans le tissu sous-cutané ou dans le muscle des membres (cuisses et jambes le plus souvent). Les liposarcomes bien différenciés se développent dans le rétropéritoine, la zone para testiculaire ou le médiastin. *Cliniquement*, il s'agit le plus souvent d'une tumeur peu symptomatique, parfois palpable, dont la taille évolue lentement et progressivement pouvant atteindre plusieurs dizaines de centimètres notamment dans la localisation rétropéritonéale entraînant des compressions d'organes voisins (10) (11) (12).

Macroscopiquement, il s'agit d'une tumeur souvent de grande taille (> 5 cm) de couleur jaunâtre à blanchâtre (selon le pourcentage de zone adipeuse, fibreuses ou myxoides au sein de la tumeur). Elle est souvent bien circonscrite, et parfois plurilobulée. A la coupe, des remaniements hémorragiques et nécrotiques peuvent être observés. Dans la localisation rétropéritonéale, les masses tumorales peuvent être multiples et discontinues (10).

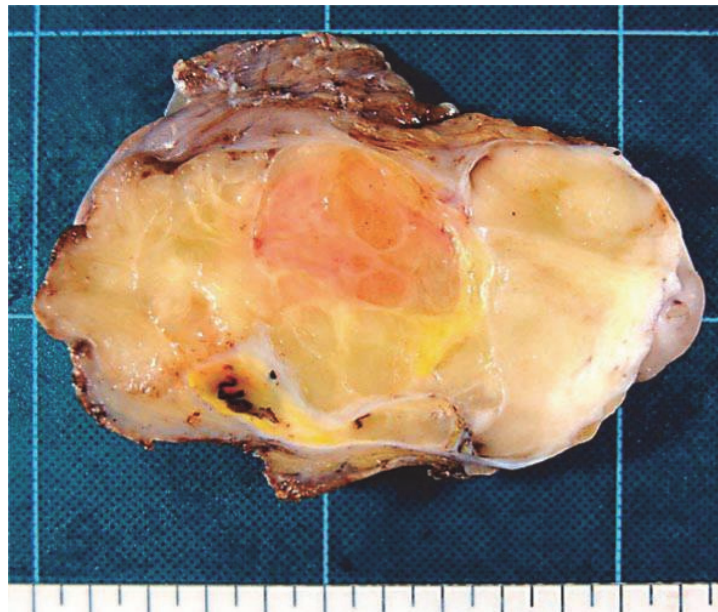
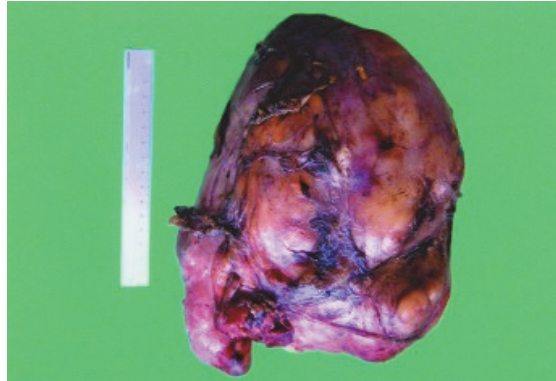


Photo clinique et macroscopiques d'un liposarcome bien différencié

Certains paramètres cliniques tels que l'âge (> 60 ans), la taille tumorale (> 10 cm) et la localisation tumorale (membres inférieurs : cuisse) doivent faire envisager la possibilité d'une tumeur maligne (2) (4) (13).

Cependant, la clinique, bien que différente entre ces deux entités, ne permet pas à elle seule de poser un diagnostic de certitude et des examens paracliniques doivent être réalisés.

L'échographie, peut être réalisé en première intention, permettant de confirmer la nature adipeuse de la tumeur.

Un lipome apparaîtra comme une masse superficielle (sus aponévrotique) homogène, iso ou hyperéchogène par rapport à la graisse sous cutanée. Il peut être encapsulé ou non, bien limité et souvent de taille < 10 cm. On notera également une absence de flux au doppler, évocateur de tumeur bénigne.

A elle seule, elle ne permet pas de confirmer la bénignité ou la malignité d'une lésion tumorale.

La radiographie et le TDM en fonction du siège tumoral peuvent également aider au diagnostic de tumeur adipeuse mais l'examen d'imagerie de référence reste l'IRM (14).

En effet, le protocole d'imagerie, en général, impose devant toute tumeur lipomateuse des tissus mous de réaliser plusieurs séquences sur plusieurs coupes telles que : T1, T2, sans et avec injection de produit de contraste ainsi que les séquences de suppression de graisse qui sont essentielles dans ce contexte : Fat-Sat (sur T1 ou T2) et STIR (sur T2). Ces séquences doivent être faites sur plusieurs coupes : coupe coronale, coupe sagittale, et plan axial (14) (15).

Ainsi, un lipome est décrit en IRM comme une lésion entièrement homogène, souvent encapsulée, de même intensité que la graisse sous cutanée sur toutes les séquences avec suppression du signal sur les séquences de saturation en graisse. On décrit l'absence de rehaussement après injection de produit de contraste très évocateur d'une lésion bénigne. Des cloisons intra lésionnelles peuvent être observées mais avec une épaisseur qui doit rester inférieure à 2 mm. De plus, des zones hétérogènes peuvent malgré tout être observées au sein d'un lipome en raison de la présence de zones nécrotiques (cytostéatonécrose), conduisant à des erreurs diagnostiques en imagerie (2) (4).

Un lipome intramusculaire peut présenter des contours irréguliers, et des aspects striés (secondaire à la présence de fibres musculaire intra lésionnelles) pouvant également parfois être trompeur en IRM (2).

Dans la littérature, certains critères d'imagerie ont été rapportés aidant à la distinction entre un lipome et un liposarcome bien différencié (2) (14) (15) :

- une localisation tumorale profonde (sous aponévrotique)
- une taille tumorale > à 10 cm
- un aspect tumoral hétérogène
- la présence de septas fibreux irrégulier et épais, (épaisseur souvent > 2 mm)
- aspect nodulaire tissulaire, contingent adipeux < 75%
- renforcement du signal après injection de Gadolinium sur une zone de plus d'un centimètre

La présence de remaniements hémorragiques ainsi que les calcifications ne sont pas considérées comme des facteurs discriminants, cependant les remaniements kystiques sont plus souvent décrits au sein des tumeurs malignes.

Cependant la rentabilité diagnostique de l'imagerie dans le cadre de ces tumeurs adipeuses bien différenciées, reste faible pour les tumeurs adipeuses bien différenciées, de l'ordre de 73%, avec une sensibilité de 83% et une spécificité de 67%. Ainsi, une étude par *Wang and al* préconise d'utiliser un score reprenant quelques-uns de ces facteurs radiologiques (genre, taille tumorale, profondeur tumorale, la présence de septas ou nodule, et remaniements kystiques) pour l'orientation diagnostique. Un Z score > 35 est considéré dans cette étude comme évocateur d'une tumeur maligne, avec une valeur prédictive négative de 100%. Dans cette étude, ils proposeraient ce système de scoring en imagerie comme méthode alternative à la biopsie diagnostique. Cependant plusieurs de ces tumeurs dans cette étude ont été mal classées ce qui nécessite une revalidation de ce système de scoring et surtout une analyse en Biologie Moléculaire pour confirmer le diagnostic (14).

Par conséquent, il est donc admis que l'IRM reste un examen indispensable pour le diagnostic des tumeurs adipeuses notamment profondes. Cependant le diagnostic définitif repose sur la documentation histologique de la lésion (14) (15).

Dans la littérature (4) (16) (17) (18) , il est recommandé de biopsier les lésions suivantes pour réaliser une étude histologique et moléculaire :

- un lipome récidivant
- une tumeur adipeuse bien différenciée mais avec présence d'atypies cytologiques modérées
- toute tumeur adipeuse de localisation rétropéritonéale, intra abdominale ou pelvienne, même en l'absence d'atypies cytologiques en microscopie (ni même en l'absence d'autres facteurs suspects associés)
- les tumeurs profondes des extrémités de grande taille (>10 cm), chez des patients âgés de plus de 60 ans, et précisément s'il s'agit du genre masculin, même en l'absence d'atypies cytologiques en microscopie.
- enfin les tumeurs suspectes de malignité en imagerie

Cependant, à l'inverse, il n'est pas toujours justifié de rechercher une amplification devant une tumeur lipomateuse bien différenciée avec les caractéristiques suivantes (18) :

- les tumeurs superficielles
- les tumeurs de taille tumorale < 5 cm des extrémités, sans autre facteur suspect ajouté
- les tumeurs des extrémités chez les patients de moins de 50 ans, sans autre facteur suspect ajouté
- les tumeurs des mains et des pieds
- les tumeurs adipeuses de localisation inhabituelles (larynx, épiglotte, langue...), localisation très rare de liposarcome, sans autre indicateur de possible malignité surajoutés.

3) Diagnostic histologique

Pour poser un diagnostic précis devant une tumeur adipeuse bien différenciée, il convient de réaliser un examen microscopique.

De nombreuses études (19) (20) (21) ont démontré que la microbiopsie scannoguidée, réalisée avec des aiguilles en générale de calibre 16G, était le gold standard.

Ainsi, *en microscopie*, le lipome conventionnel est composé d'un tissu adipeux bien différencié, fait de lobules d'adipocytes matures, de taille et forme variable. On peut observer des zones de remaniements myxoïdes ou de nécrose associée à des histiocytes qui ne doivent pas être interprétés à tort comme des lipoblastes (10) (18).

Histologiquement, la tumeur adipeuse atypique/liposarcome bien différencié est subdivisée en 3 sous-groupes (11) (22) :

- « lipoma-like » (le sous-groupe le plus souvent observé)
- sclérosant (deuxième sous-groupe rencontré)
- inflammatoire

Le liposarcome « lipoma-like » est constitué d'adipocytes matures, de taille cellulaire variable indistinguishable d'un authentique lipome. Quelques atypies nucléaires minimales et subjectives tels que des noyaux hyperchromatiques ou la mise en évidence de lipoblastes ne permettront pas d'affirmer la malignité (17) (19) (23).

Dans le type « sclérosant » il existe des travées collagéniques contenant des éléments cellulaires fusiformes ou plus globuleux à noyau hyperchromatique de type 'floret cells' (24).

Le liposarcome *de* type inflammatoire, est un variant rare de liposarcome bien différencié, qui siège dans le rétropéritoine principalement. Dans ce cas, l'infiltrat inflammatoire est prédominant par rapport aux cellules adipocytaires et peut poser le problème du diagnostic différentiel avec une tumeur myofibroblastique inflammatoire ou un lymphome. C'est la présence des cellules stromales multinuclées qui permet d'orienter vers le diagnostic de liposarcome inflammatoire (24).

Ainsi, la morphologie seule est insuffisante pour différencier le lipome de la tumeur adipeuse atypique/ liposarcome « lipoma-like » (16) (19) (20) (21) (25).

De plus, il est important de souligner que certains lipomes dits à cellules fusiformes et pléomorphes, peuvent comporter des cellules atypiques parfois multinuclées ainsi que des lipoblastes tout en restant des tumeurs bénignes. Dans ce cas il peut être intéressant d'avoir recours à l'immunohistochimie et à la FISH. En effet ces lipomes se caractérisent par une expression du CD34 et une délétion du gène *RB1* qui peut être mise en évidence en FISH. Ils ne comportent pas en revanche d'amplification du gène *MDM2* (26).

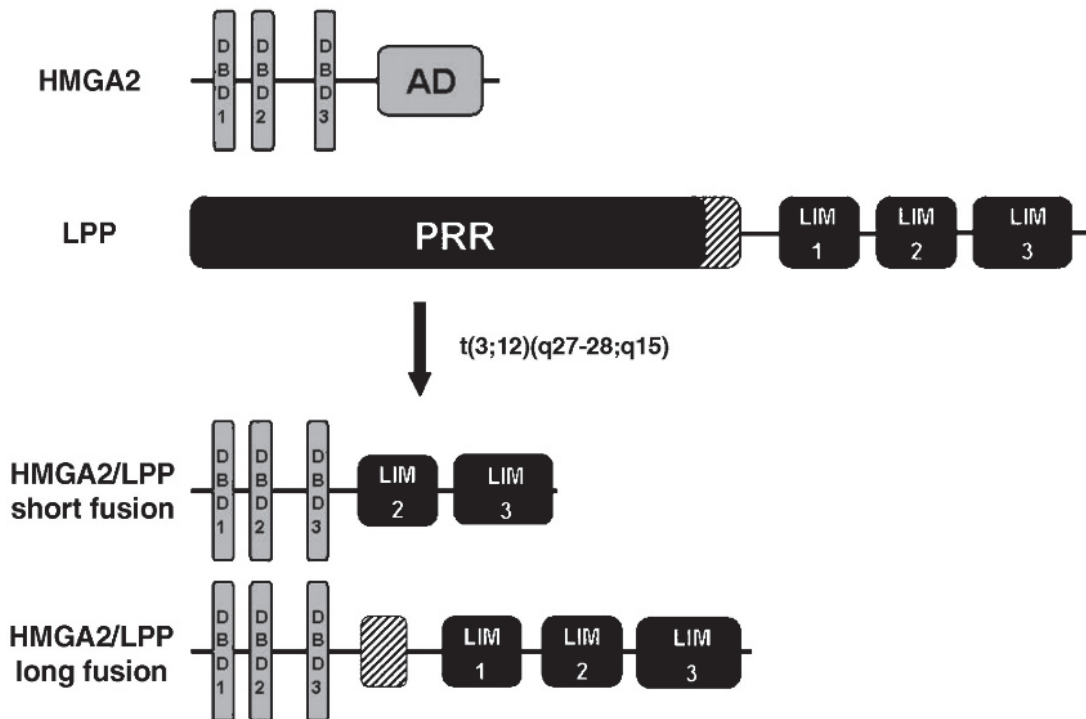
Devant la difficulté morphologique de ces tumeurs, on peut donc recourir, à des techniques complémentaires pour l'obtention du diagnostic final.

4) Diagnostic moléculaire et cytogénétique

Le lipome et la tumeur adipeuse atypique/liposarcome de bas grade (ATL/WD) ont des caractéristiques moléculaires et cytogénétiques spécifiques, ce qui permet leur distinction (10) (23).

En cytogénétique, on retrouve dans 60% des lipomes des anomalies (11). Les aberrations chromosomiques les plus souvent retrouvées (2/3 des tumeurs) au sein des lipomes impliquent le segment 12q13-15 et concernent des insertions ou des translocations (27). On y rencontre des réarrangements des gènes de la famille HMGIC, ciblant par exemple le gène *HMGA2* sur le chromosome 12 (high mobility group AT-look 2), et dont la translocation la plus fréquente est la t (3 ;12) (q27-28 ; q13-15). Le transcrit de fusion le plus souvent observé est celui entre les gènes *HMGA2* et *LPP* (19). Des études ont démontré que la régulation de la prolifération cellulaire adipeuse résulte de la balance entre les protéines HMGA1a/b et HMGA2. En effet, un gain d'activité de la protéine HMGA2 conduit à une prolifération des adipocytes, responsable de l'apparition de la tumeur adipeuse. C'est donc la perte d'équilibre de cette balance entre ces deux protéines qui serait à l'origine des lipomes ou des liposarcomes (28) (29).

Certains lipomes conventionnels (15-20%) peuvent présenter d'autres anomalies cytogénétiques intéressant le segment 6p21 ainsi qu'une délétion du segment 13q n'intéressant pas le locus Rb1 et n'affectant pas l'expression de la protéine Rb1 (observée dans les lipomes à cellules fusiformes). Dans ce cas-là, l'expression immunohistochimique de l'anticorps anti HMGA2 peut ne pas être observée (11) (28)



Schématisation de la translocation HMGA2/LPP dans le lipome
(illustration prise sur le site Pathology Outlines)

En revanche les liposarcomes bien différenciés, comportent dans plus de 93% des cas des chromosomes géants et en anneaux, concernant la région 12q13-15. Cette région est complexe comporte de nombreux gènes qui sont amplifiés, tels que MDM2, CDK4, HMGI-C, SAS, GLI, CHOP...jouant tous un rôle important dans la tumorigénèse des liposarcomes. D'autres gènes peuvent être donc amplifiés dans cette région : YEATS4 dans 85% des cas, DDIT3 (30%), PTPRQ (45%), FRS2(95%) (11) (30) (31) (32).

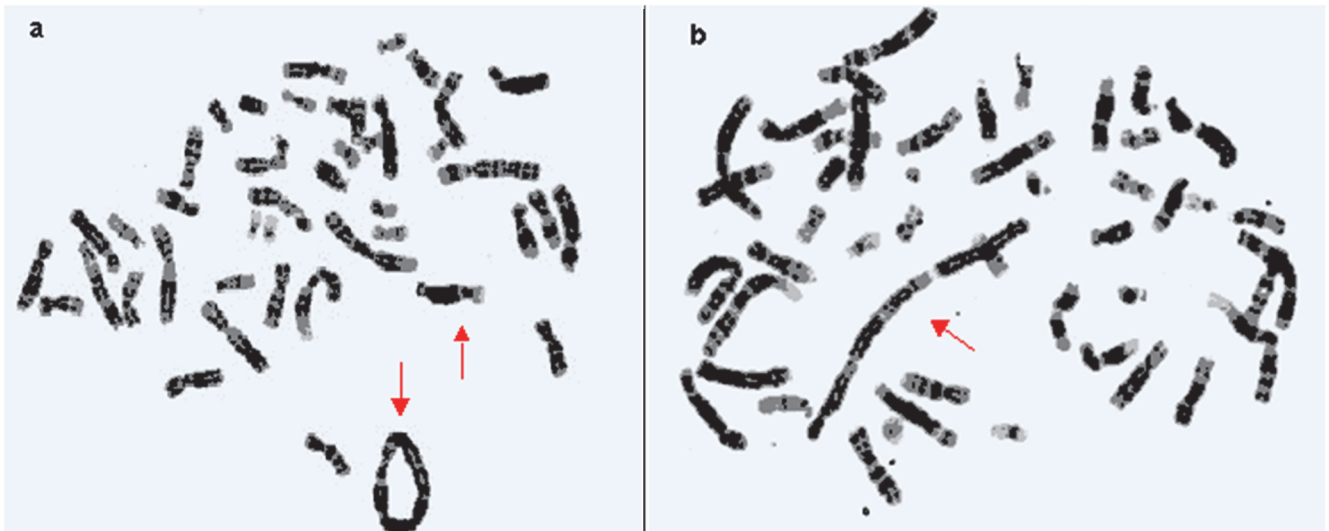


Illustration d'un chromosome en anneau et géant (photos a et b) (Pathology Outlines)

Concernant la pathogénèse : le gène *MDM2* inhibe la transcription de la *Tp53*, tandis que le gène *CDK4* intervient dans la voie de régulation de la protéine *Rb1* et de la prolifération cellulaire (21) (25) (31).

Le gène *HMGI-C* est également impliqué dans la tumorigénèse des liposarcomes (86%) par mécanisme d'amplification (28) (30).

Ces anomalies génétiques peuvent être également associées à des amplifications d'autres régions chromosomiques, telles que la région 12q21-22 ou 1q21-25.

Ainsi, l'amplification des gènes *MDM2* (95-100%) et *CDK4* (60-95%) est donc très évocatrice de liposarcome bien différencié car absente dans les lipomes (24) (30). L'amplification du gène *MDM2* seule sans amplification du gène *CDK4* est rarement décrite dans les tumeurs bien différenciées des membres, et serait plus observée au niveau des tumeurs développées dans le rétropéritoine ou dans les liposarcomes dédifférenciés (33). Les autres types de liposarcomes tels que les liposarcomes pléiomorphes et myxoïdes, ne comportent pas cette amplification (30).

La recherche d'amplification du gène *MDM2* peut s'effectuer actuellement grâce à différentes techniques :

- Après la cytogénétique conventionnelle (caryotype), la *Comparative Genomic Hybridization (CGH array)* est l'une des techniques à mettre en évidence cette amplification (30). Elle permet de visualiser sur l'ensemble des chromosomes des gains ou des pertes de segments chromosomiques. De meilleure résolution qu'un simple caryotype, elle permet également de mieux préciser la localisation génomique

de ces altérations. Cependant, elle ne permet pas la détection des anomalies chromosomiques équilibrés (translocation, inversion) et reste malgré tout de faible résolution par rapport à d'autres techniques (résolution de 100 kb). D'autant plus que cette méthode est longue et non accessible dans tous les centres hospitaliers. De nos jours, elle est moins utilisée pour la recherche de l'amplification du gène *MDM2* en comparaison avec les autres techniques.

- la *FISH* est la méthode de cytogénétique moléculaire la plus souvent utilisée pour rechercher l'amplification de *MDM2* dans les tumeurs adipeuses bien différenciées (21) (25) (34).

C'est une technique utilisant l'ADN (noyau interphasique) sur tissus frais, congelé ou fixé dans le formol, permettant ainsi, en général, la détection de nombreuses anomalies chromosomiques (amplification ou duplication / délétion / translocation), et est basée sur 3 principes (détaillée au Chapitre Matériel et Méthodes et fiche Annexe) :

- ❖ Dénaturation de l'ADN
- ❖ Hybridation avec des sondes spécifiques cibles
- ❖ Analyse de la fluorescence

Dans la littérature, dans le cadre des tumeurs adipeuses bien différenciées, le ratio pour lequel on considère qu'il y a amplification du gène *MDM2* doit être ≥ 2 ($MDM2/CEP12 \geq 2$), mais le seuil de positivité (nombre de noyaux tumoraux amplifiés) n'est pas clairement défini (21) (25) (33).

Cette technique est considérée comme la méthode de référence pour aider à discerner un lipome d'un liposarcome bien différencié, sur matériel biopsique (20) (35).

- la *PCR* quantitative peut également être utilisée pour rechercher une amplification des gènes *CDK4* et *MDM2* (19) (36).

- enfin, récemment, une nouvelle technique de Biologie Moléculaire : *PCR* dite de '3^{ème} génération' la *droplet digital PCR (ddPCR)* pourrait également être utilisée mais il n'existe pas de données publiées dans la littérature.

5) Diagnostic immunohistochimique

Le gène *HMGA2* est exprimé à des taux élevés durant le développement embryonnaire, et intervient dans le développement et la différenciation des tissus mous. Cependant, il n'est pas exprimé à un taux significatif dans les tissus adultes normaux, notamment dans le tissu adipeux non tumoral. Il est en revanche exprimé en immunohistochimie dans les lipomes conventionnels dans 75 à 86% des cas ainsi que dans les lipomes à cellules fusiformes ou pléomorphes (18%) (28). Il s'agit d'un marquage nucléaire. L'expression d'*HMGA2* en immunohistochimie est alors corrélée au réarrangement chromosomique intéressant la région 12q13-15 avec fréquente translocation du gène *HMGA2* (29) (28).

On décrit une expression d'*HMGA2* en immunohistochimie dans d'autres tumeurs bénignes des tissus mous telles que l'histiocytofibrome (88%), la fascite nodulaire (90%), les léiomyomes (30%) ou le schwannome (28).

Concernant les tumeurs malignes, *HMGA2* est positif en immunohistochimie dans les tumeurs adipeuses atypiques/liposarcome de bas grade ainsi que dans les territoires de dédifférenciation mais également plus rarement dans des léiomyosarcomes, myxofibrosarcomes, sarcomes indifférenciés... Le liposarcome myxoïde est en revanche négatif (28).

En pratique quotidienne, l'immunodétection anti-*HMGA2* permet de distinguer le tissu adipeux normal d'un tissu adipeux tumoral bien différencié, notamment sur matériel biopsique, attestant d'un échantillonnage satisfaisant (28).

En revanche, l'immunodétection anti-*HMGA2* ne permet pas de distinguer les tumeurs adipeuses bénignes des malignes (28.)

- L'amplification du gène *MDM2* conduit à une surexpression protéique de *MDM2* qui peut être mise en évidence en immunohistochimie avec un anticorps anti-*MDM2* (21) (31) (37) (38).

Son utilisation est controversée pour le diagnostic des liposarcomes bien différenciés en raison essentiellement d'un manque de sensibilité comparativement à la technique de FISH(36). Des faux positifs ont plus rarement été rapportés (35) (37).

Enfin l'immunodétection anti-*CDK4*(cyclin-dépendent kinase 4) apparaît moins sensible (68,4%) (19), en raison de l'absence dans certains cas de co-amplification du gène

CDK4 dans les liposarcomes bien différenciés (environ 10% des liposarcomes) (35) (39) (38) et n'est pas utilisée en pratique dans le réseau des pathologistes de RREPS.

6) Objectifs principaux et secondaires de notre étude

L'objectif principal de notre étude a été d'évaluer la fiabilité diagnostique des micro-biopsies des tumeurs adipeuses bien différenciées profondes des membres de l'adulte (ALT), au sein d'un centre expert français appartenant au réseau RREPS lorsque l'histologie est associée aux données moléculaires (recherche d'amplification du gène *MDM2*).

Le diagnostic préopératoire obtenu grâce à l'histologie et à la recherche d'amplification de *MDM2* en FISH a été comparé au diagnostic final retenu sur la pièce opératoire. Une analyse des discordances a été réalisée.

L'objectif secondaire a été de comparer les données moléculaires obtenues par deux techniques différentes l'examen de référence : la FISH et la Droplet Digital PCR (ddPCR) en développement dans le service.

III/ MATERIEL ET METHODES

1) Matériel

Critères d'inclusion :

Notre étude est une analyse rétrospective, menée sur 107 microbiopsies réalisées pour suspicion de tumeurs adipeuses bien différenciées : lipomes ou tumeurs adipeuses atypiques des membres de l'adulte, de 2010 à 2018.

Matériel :

Les prélèvements micro-biopsiques ont été réalisés par le Professeur C. Chagnaud, le plus souvent à partir d'aiguilles de calibre 16G. Il s'agissait, en moyenne, de 3 tirs biopsiques fixés dans le formol accompagnés d'un prélèvement frais pour mise en tumorotheque. A partir des blocs d'inclusion, étaient réalisées des coupes de 5 microns mètres d'épaisseur qui étaient ensuite colorées à l'HES.

La lecture a été réalisée par les Docteurs C. Bouvier et N. Macagno, tous deux pathologistes référents au sein du réseau RREPS, dans le service d'Anatomie Pathologique et de Neuropathologie du Pr D. Figarella-Branger, au CHU de la Timone. Les données cliniques et paracliniques (examen d'IRM) de l'ensemble des patients ont été répertoriées dans notre étude.

Ces tumeurs adipeuses bien différenciées pouvaient présenter des remaniements myxoïdes à l'imagerie et/ou à l'examen microscopique, cela ne constituait pas un facteur d'exclusion.

Les pièces opératoires qui ont suivi les prélèvements biopsiques ont été également incluses et analysées dans notre étude.

Critères d'exclusion :

Les tumeurs adipeuses présentant des critères morphologiques de dédifférenciation et les liposarcomes pléomorphes ont été exclues de l'étude, ainsi que les tumeurs adipeuses rétropéritonéales.

De plus, nous avons exclu les cas où le matériel biopsique n'était pas suffisant pour réaliser une technique de FISH initialement.

Enfin, les patients pour lesquels la pièce opératoire n'a pas pu être analysée par la suite (perdus de vue ou non opérés au sein de l'APHM), n'ont pas été inclus dans notre étude.

2) Méthodes

a) IHC

Pour certains cas (les plus anciens) une immunodétection anti-MDM2 a été réalisée. Devant la faible sensibilité de l'examen elle a été rapidement abandonnée. Dans de rares cas, nous avons utilisé également l'anticorps anti-CD34, en cas de suspicion de lipome à cellules fusiformes. Pour les autres cas, nous avons préféré économiser le matériel pour réaliser la technique de FISH et de Biologie Moléculaire par la suite.

Dans quelques cas HMGA2 a également été réalisée rétrospectivement.

MDM2 et HMGA2 sont des marqueurs nucléaires et CD34 est un marqueur cytoplasmique.

b) FISH

Pour toutes les microbiopsies la recherche d'amplification du gène MDM2 a été réalisée initialement par FISH.

La FISH a été également réalisée sur les pièces opératoires de liposarcomes diagnostiqués en préopératoire ainsi que sur 4 cas de tumeurs adipeuses pour laquelle la FISH préopératoire ne montrait pas d'amplification du gène MDM2 mais qui comportaient des atypies cytonucléaires ou une taille très importante sur la pièce opératoire.

La FISH a également été réalisée sur 22 pièces opératoires de lipomes.

4 lames blanches étaient coupées. La technique était réalisée sur l'une d'entre elles selon le protocole joint en annexe.

La lecture des lames se faisait à l'aide d'un microscope à fluorescence équipé d'un logiciel d'analyse d'images de type *Axiophot de Zeiss Imager Z2 Metasystem*[®].

Conditions d'interprétation de la FISH dans notre service

L'analyse était portée en général sur 200 noyaux tumoraux, sur pièce opératoire. En revanche, sur biopsie, la quasi-totalité des noyaux était analysée.

Les superpositions nucléaires, ainsi que les signaux extra nucléaires et les signaux mal visibles n'étaient pas retenus. Le comptage des noyaux s'effectuait au fort grossissement (X100). Le résultat (pour les pièces opératoires) était ainsi rendu sous forme de pourcentage de noyaux analysés en essayant au mieux de préciser le nombre spots fluorescents verts et spots fluorescents rouges.

On concluait à une amplification du gène *MDM2*, lorsque qu'il y avait d'innombrables spots rouges pour deux spots verts.

Les cas dont les noyaux présentaient plusieurs spots fluorescents verts et plusieurs spots fluorescents rouges, correspondant à une polysomie du chromosome 12, n'étaient pas exclus de l'étude mais on ne pouvait être certain dans ce cas de la présence ou non d'une amplification.

Chaque cas faisait l'objet d'une lecture et d'une interprétation en aveugle par deux observateurs (par le Docteur Maues de Paula ainsi que par la technicienne de FISH).

En cas de discordance des résultats entre ces deux observateurs, il y avait deux possibilités :

- ❖ Soit une deuxième lecture était effectuée avec une confrontation anatomoclinique
- ❖ Soit une deuxième technique de FISH était faite, si possible sur un bloc tumoral différent, et faisait également l'objet d'une double lecture.

Le seuil de positivité de notre centre expert du CHU de la Timone à Marseille, était fixé à un ratio ≥ 2 (copies *MDM2* / chromosome 12 ≥ 2). Les témoins négatifs de la FISH *MDM2* étaient les cas de tumeur adipeuse bénigne de type lipome, dont les noyaux analysés présentaient autant de spots verts que de spots rouges, dépourvus d'amplification du gène *MDM2*.

c) *Droplet Digital PCR*

Il s'agit d'une PCR de troisième génération permettant de quantifier de manière absolue des échantillons, sans courbe standard. En effet, la particularité principale de cette technique est de répartir le volume de réactif total d'une PCR dans un grand nombre de compartiments, de très faible volume (nanolitre voire moins). Ces compartiments se présentent comme des logettes d'émulsion huile/eau sous la forme de nano-gouttelettes. Les matrices dans chacune des gouttelettes sont ensuite amplifiées par réaction de PCR, dont la fluorescence est mesurée et le nombre de copie /microlitres est calculé selon la loi statistique de Poisson. Il s'agit d'une technique extrêmement sensible permettant de détecter des séquences rares. Les altérations en nombre du génome (CNV) étaient ainsi mesurées à partir de l'ADN extrait suivant la technique de Droplet PCR en sonde TaqMan.

Dans notre service, les conditions d'interprétation définies au préalable à partir d'une cohorte indépendante sont les suivantes :

On considère une amplification du gène *MDM2* lorsque le CNV est \geq à 9.

Il n'y a pas d'amplification si le CNV est \leq 4.

Lorsque le $4 < \text{CNV} < 9$, on ne peut conclure.

(Partie détaillée dans la Discussion et en Annexe).

Cette technique a été réalisée secondairement sur l'ensemble des biopsies et des pièces opératoires comportant une amplification de *MDM2* en FISH (donc tous les cas de liposarcomes), ainsi que dans 22 lipomes.

III/ RESULTATS

1) Données cliniques et paracliniques de la cohorte

Données cliniques

Il s'agit d'une étude rétrospective, menée sur des biopsies de tumeurs adipeuses bien différenciées de l'adulte, de 2010 à 2018, au sein du centre expert des sarcomes du CHU de la Timone, dans le service de Neuropathologie et d'Anatomie Pathologique du Pr D. Figarella-Branger, à Marseille.

111 patients ont été inclus initialement dans notre étude. Nous avons exclu tous les cas dont on n'avait pas pu examiner les pièces opératoires correspondantes, ainsi que 3 cas dont les tumeurs étaient localisées au niveau du rétropéritoine. Nous avons également dû exclure un cas pour lequel nous n'avions pas réalisé de FISH (matériel biopsique insuffisant).

Ainsi notre étude se composait, finalement, de 107 prélèvements biopsiques, et de 107 pièces opératoires correspondantes.

Les microbiopsies étaient toutes issues du service de Radiologie du Pr Chagnaud, à l'Hôpital de la Conception. Les pièces opératoires suivantes provenaient du service du Pr Curvale.

Les patients étaient âgés de 25 ans à 77 ans (âge médian de 60,5 ans).

53 hommes (49,5 %) et 54 femmes (50,5%) composaient notre cohorte d'étude.

Le sex-ratio H/ F était de 0,98.

Nous avons donc réalisé dans un premier temps pour l'ensemble des prélèvements biopsiques une recherche d'amplification du gène *MDM2* par FISH, pour confirmer le diagnostic.

Sur les 107 biopsies analysées, 83 cas ne présentaient pas d'amplification du gène *MDM2* en FISH. Ainsi, ils étaient diagnostiqués initialement comme des lipomes.

L'âge médian des cas de lipomes était de 61 ans, le sexe ratio H/F était de 0,93 (48,2% d'hommes et 51,8% de femmes). Les localisations tumorales les plus fréquentes étaient cuisse ou la fesse. Un seul cas de localisation superficielle sous cutanée était observé. La taille médiane tumorale était de 10 cm, variant de 3,5 à 35 cm.

24 cas présentaient une amplification significative du gène *MDM2* en FISH, et étaient donc considérés comme des tumeurs adipeuses atypiques /liposarcomes bien différenciés.

L'âge médian des cas de liposarcomes bien différenciés était de 60 ans, le sexe ratio H/F était 1,2 (54,2% d'hommes 45,8% de femmes) ; la taille médiane tumorale de 18,25 cm (taille variant de 8 à 30 cm). La localisation tumorale la plus souvent rapportée était la cuisse en position sous aponévrotique. On rappelle qu'il n'y avait pas de localisation profonde du rétropéritoine dans notre cohorte (cas d'exclusion).

AGE	25 à 77 ans	Médian : 60,5 ans
SEXE	53 hommes (49,5%)	54 femmes (50,5%)
LOCALISATION	Cuisse 53 (49,5%)	Autres : 54 (50,5%)
TAILLE TUMORALE	3,5 à 35 cm	Médian : 11cm

Tableau 1 Données cliniques de notre cohorte (N=107)

	LIPOME	LIPOSARCOME
N TOTAL	83	24
AGE MEDIAN	61 ans	60 ans
SEXE	H :48,2% F : 51,8%	H :54,2% F :45,8%
TAILLE MEDIANE	10 cm	18,25 cm
LOCALISATION	Cuisse / intramusculaire	Cuisse

Tableau 2 Comparaison des données cliniques entre lipome et liposarcome (N=107)

Données paracliniques

En imagerie, la plupart des tumeurs ne présentaient pas de signes évocateurs de malignité. (Critères détaillés en Introduction). En effet, il s'agissait, le plus souvent, de tumeurs adipeuses bien limitées, avec des aspects bien différenciés en IRM, ne permettant pas en revanche de diagnostic formel de malignité.

La malignité était ainsi surtout suspectée devant la notion de récurrence ou une taille tumorale (> 10 cm).

Pour un des cas (FISH négative sur la biopsie), l'IRM mettait en évidence au sein de la masse tumorale, un signal hétérogène, hyperT2, associé à une composante grasseuse, périphérique, ainsi qu'une composante kystique sur un des bords de la masse tumorale.

2) Données microscopiques et moléculaires de la cohorte / cas discordants

Données microscopiques

En morphologie, sur biopsie, les tumeurs se présentaient comme des tumeurs bien différenciées, pouvant correspondre à un lipome ou un liposarcome « lipoma-like ». En effet, on observait, le plus souvent, la présence d'un tissu adipeux mature lobulé par des cloisons conjonctivo-vasculaires grêles sans atypies cytonucléaires. Dans 7 cas, quelques atypies cytonucléaires étaient mentionnées dans le compte-rendu anatomopathologique sans pour autant permettre d'affirmer la malignité.

Immunohistochimie

L'immunodétection anti-MDM2 réalisée dans 16 cas de liposarcomes bien différenciés s'est avérée positive dans 9 cas et le plus souvent de façon focale (sensibilité de 56%). A l'inverse, sur 25 tumeurs testés (lipome/ liposarcome intriqués), HMGA2 était positif dans 23 cas (sensibilité de 92%).

L'utilisation de l'anticorps anti-CDK4 a été trop irrégulière : 4 liposarcomes testés seulement, pour pouvoir interpréter les résultats avec une absence de marquage dans les 4 tumeurs testées.

Dans 5 cas de suspicion de lipomes à cellules fusiformes en morphologie l'immunodétection anti-CD34 a été réalisée. Le marquage était positif dans 2 liposarcomes bien différencié (FISH *MDMD2* amplifiée), dans un 1 lipome commun (absence de délétion *Rb1* en FISH), et dans 2 lipomes à cellules fusiformes comportant une délétion du gène *Rb1* en FISH caractéristique de cette entité. Ainsi, la sensibilité de ce marqueur dans notre étude était de 100%, mais avec une spécificité faible de 25%.

Données moléculaires

24/107 cas avaient présenté une amplification significative du gène *MDM2* en FISH (on rappelle que notre ratio était $MDM2/CH12 \geq 2$ concernant un minimum de noyaux analysables) sur la microbiopsie et étaient donc classés initialement comme des tumeurs adipeuses atypiques/ liposarcomes bien différenciés de bas grade.

83/107 tumeurs étaient alors considérées comme des lipomes en l'absence de cette amplification sur la biopsie (ratio $MDM2/CH12 < 2$).

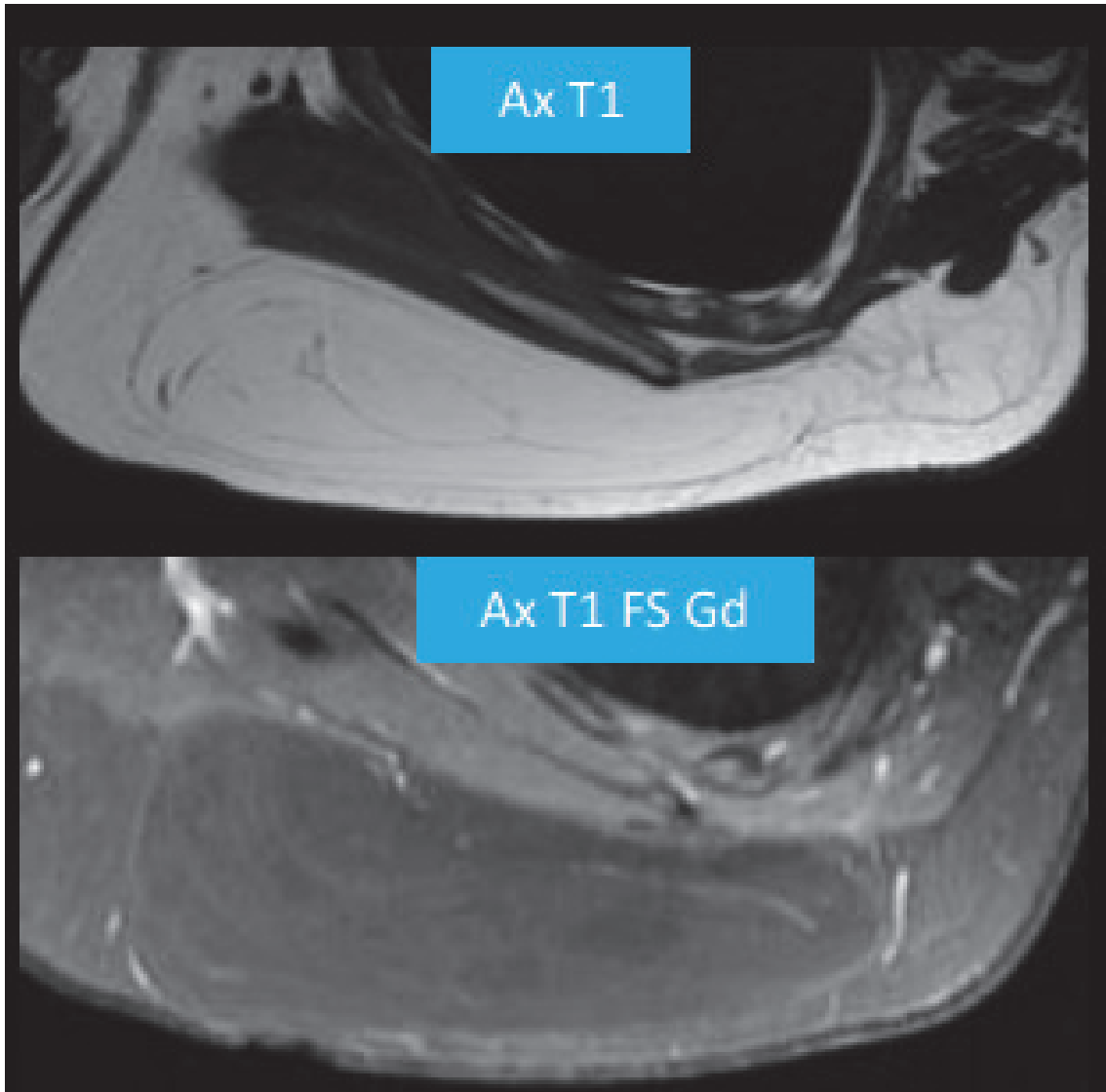


Figure 1 : Imagerie non suspecte évocatrice d'un lipome

IRM (signal homogène à la graisse en T1 et absence de rehaussement après Gadolinium)

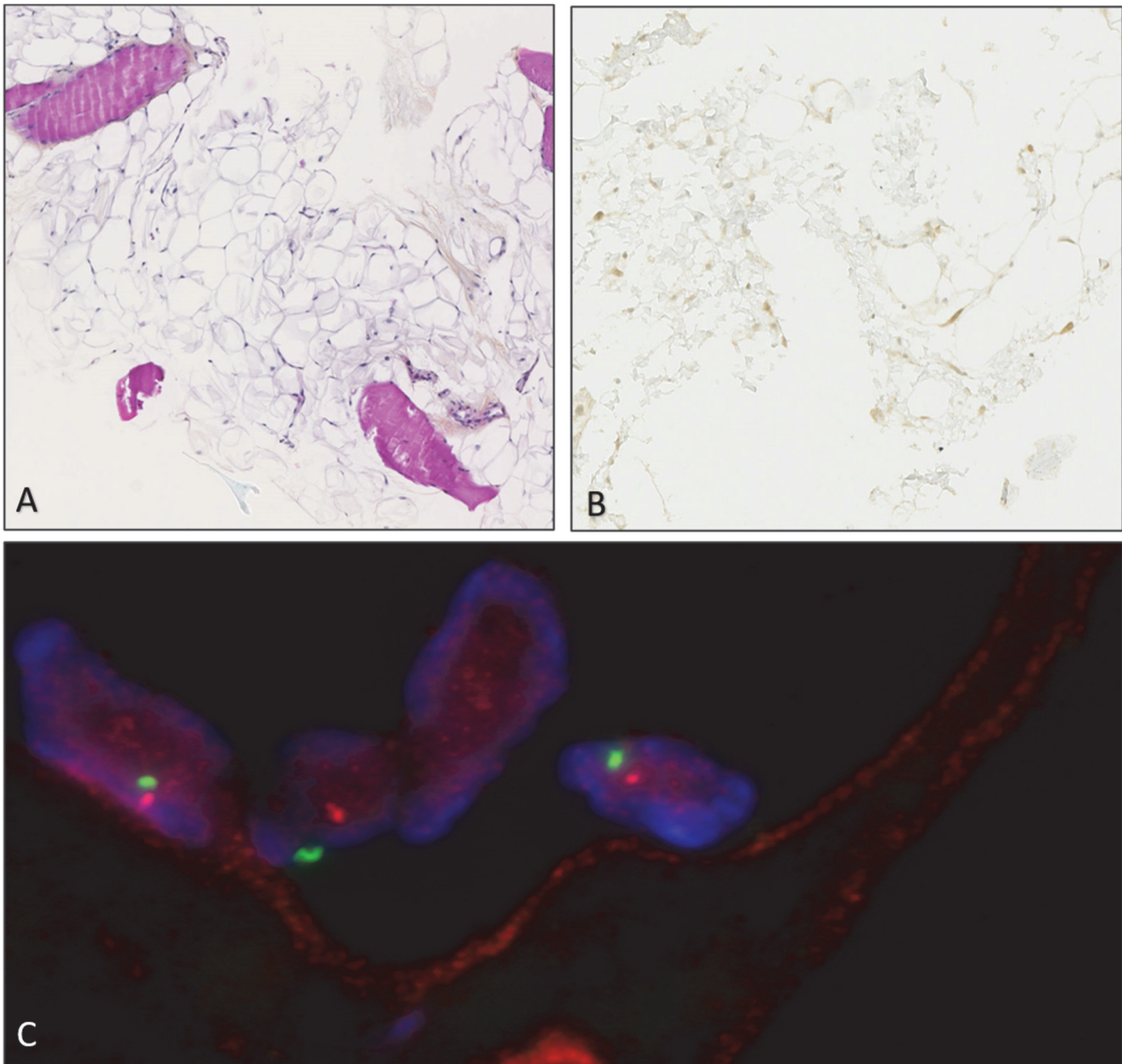


Figure 2

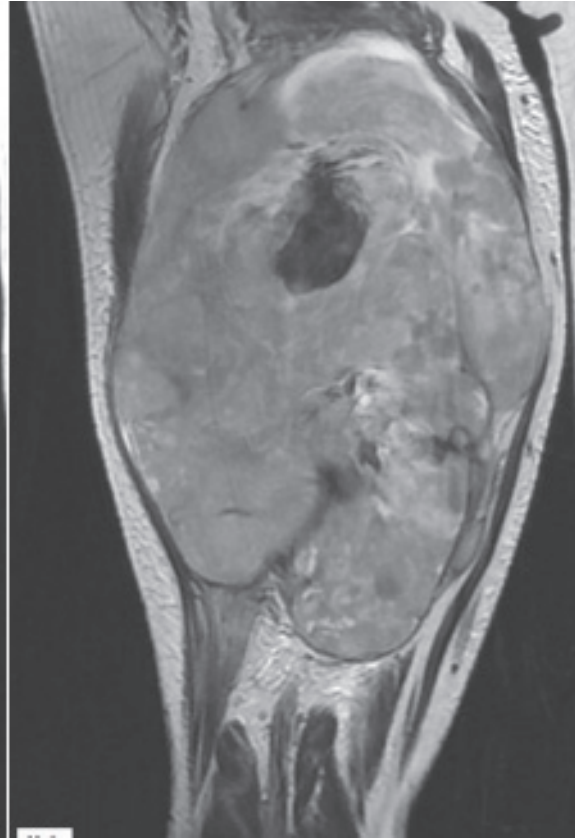
A/ Microscopie d'une biopsie évocatrice d'un lipome : adipocytes réguliers de taille et de forme variable sans atypies cytologiques

B/ Expression nucléaire de l'anticorps anti HMGGA2 sur biopsie confirmant la nature tumorale adipeuse du prélèvement

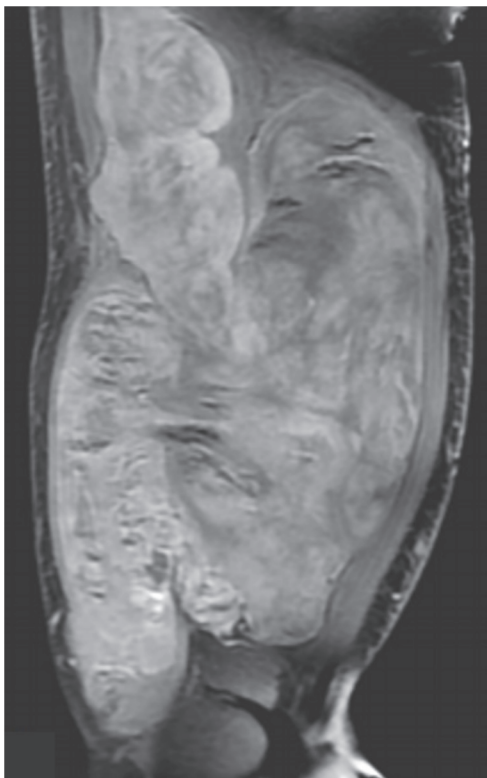
C/ FISH *MDM2* négative non amplifiée (ratio signal rouge/signal vert = 1) compatible avec le diagnostic de lipome.



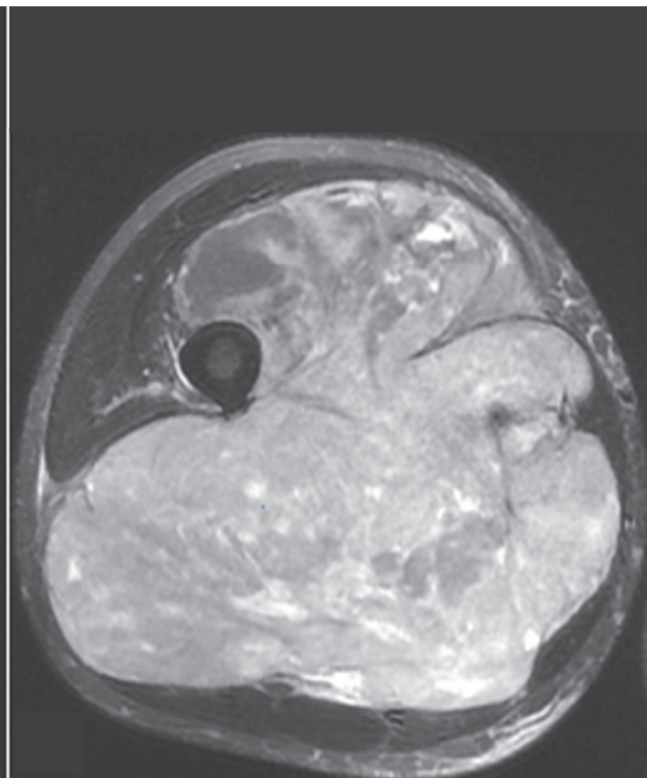
IRM T1 CORONAL (signal hétérogène)



T2 CORONAL (hyper T2)



IRM T1 GADO



T2 FAT SAT GADO (prise de contraste)

Figure 3 : Imagerie suspecte évocatrice d'une tumeur adipeuse atypique

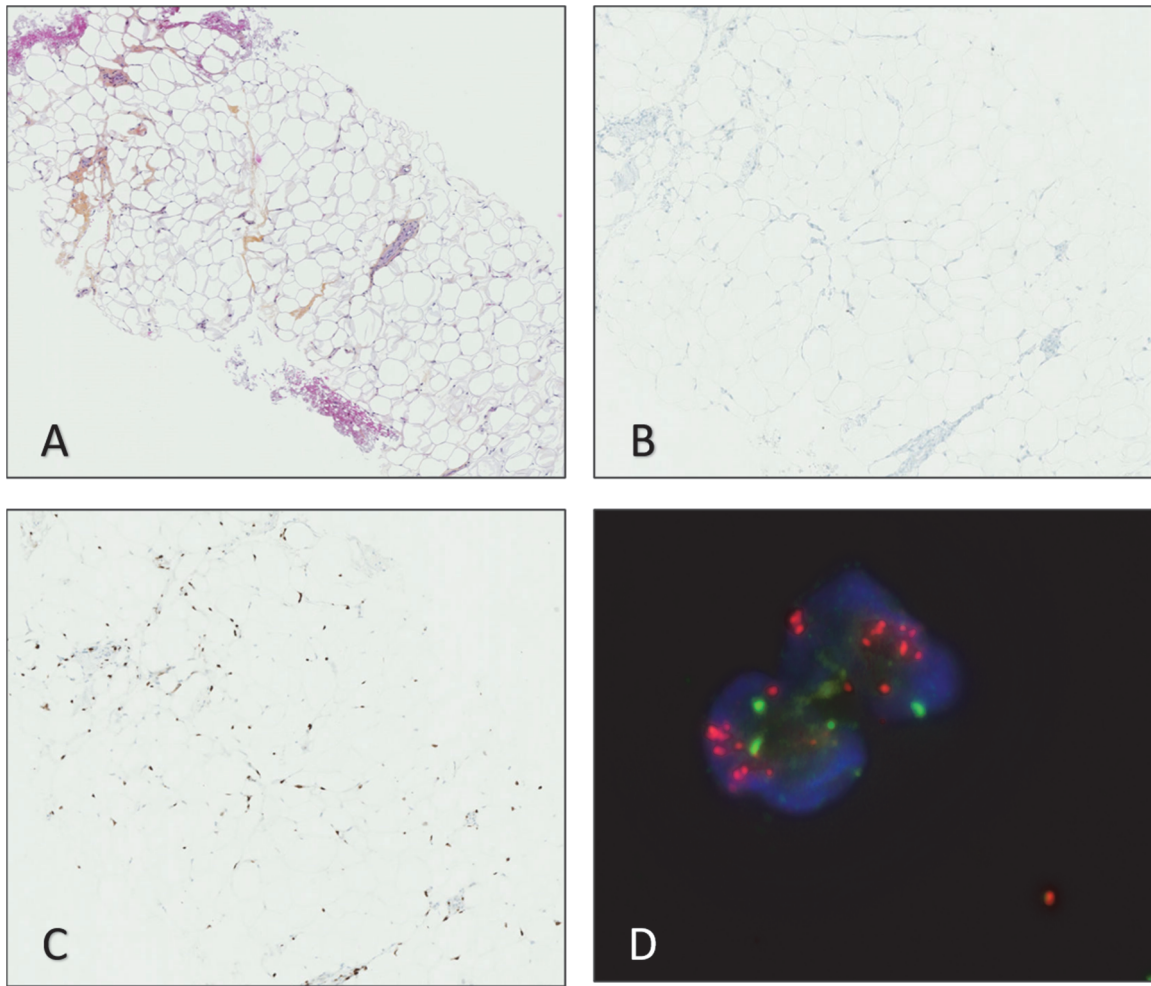


Figure 4

A/ Microscopie d'une biopsie de tumeur adipeuse bien différenciée : morphologie similaire à celle d'un lipome. Adipocytes réguliers de taille variable sans atypie cytologiques.

B/ Absence d'immunomarquage avec l'anticorps anti-MDM2 sur biopsie.

C/ Expression nucléaire diffus de l'anticorps anti-HMGA2, confirmant la nature tumorale adipeuse de la biopsie.

D/ FISH *MDM2* positive amplifiée (ratio signal rouge/signal vert >2) compatible avec le diagnostic d'ALT / liposarcome bien différencié « lipoma-like »

Dans de rares cas (N = 7 cas), nous avons pu observer sur biopsie de focales atypies (flèches noires) orientant vers un diagnostic de malignité.

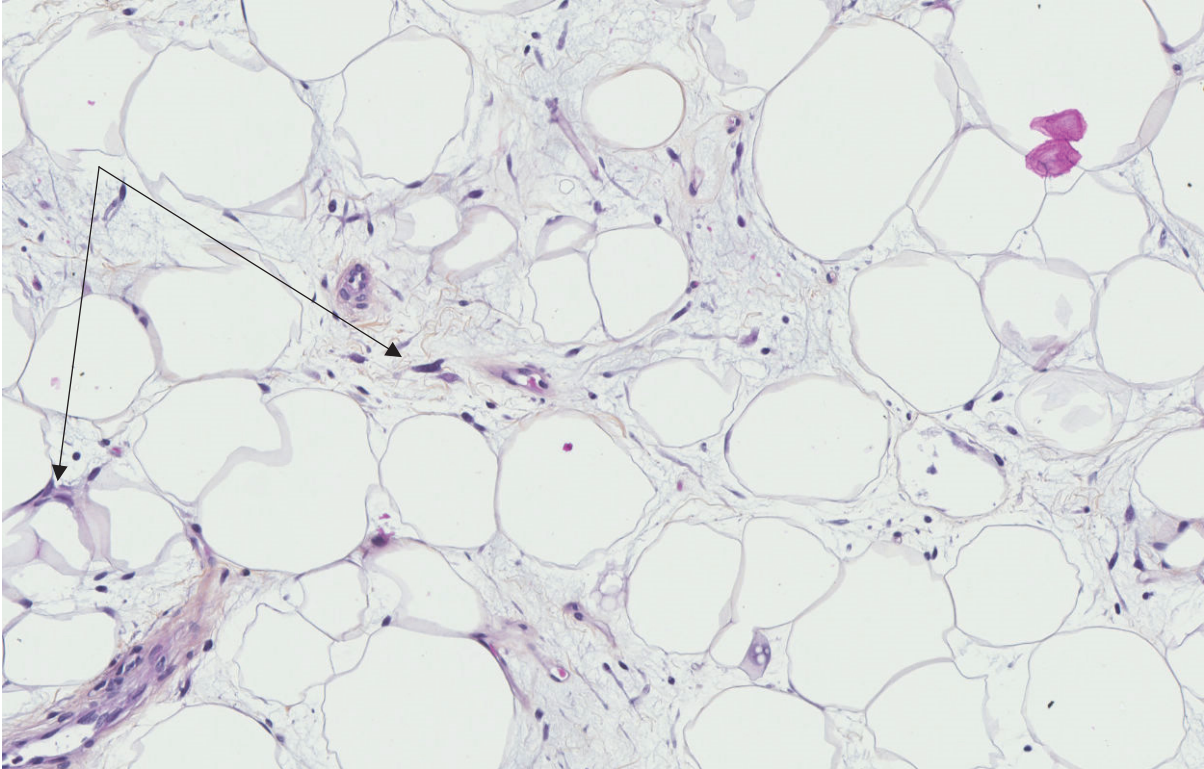


Figure 5 : atypies focales

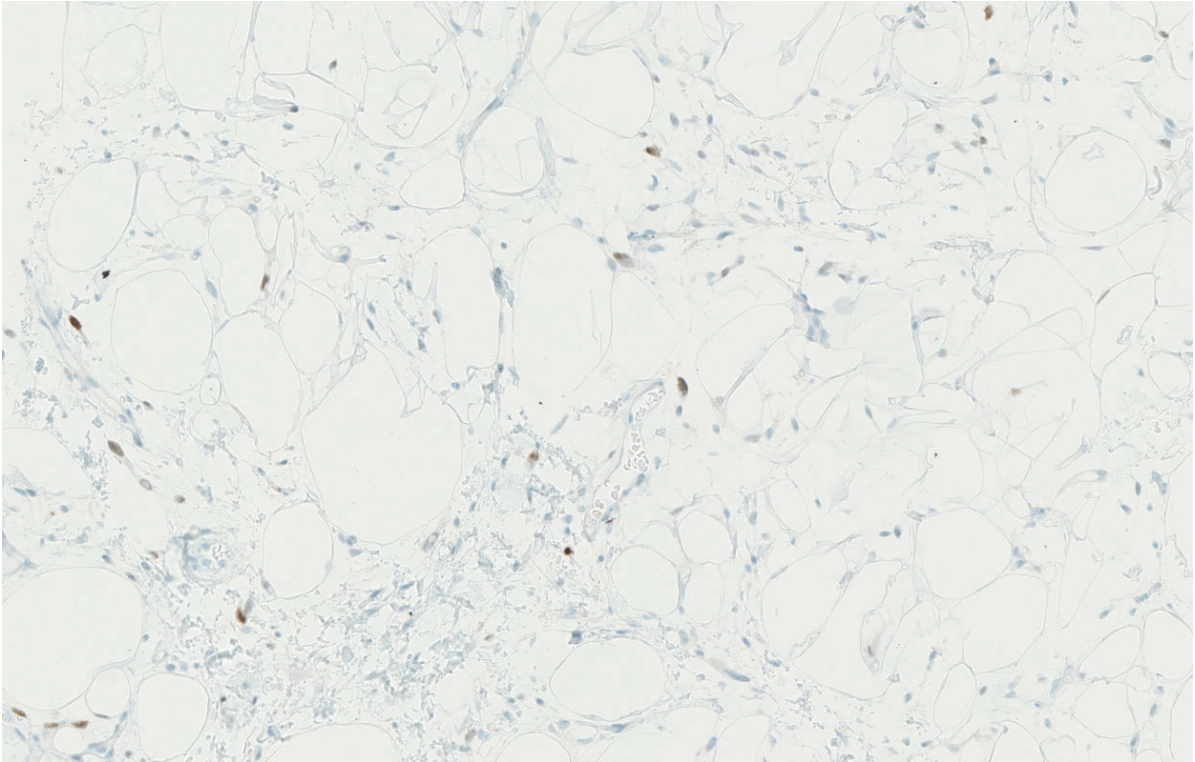


Figure 6 : Dans de rares cas, expression focale de l'anticorps anti-MDM2 sur biopsie d'une ALT

Cas discordants

Cependant, 5 cas initialement diagnostiqués comme lipomes (absence d'amplification de *MDM2* en FISH) sur la biopsie se sont avérés être des liposarcomes sur la pièce opératoire.

Trois ont présenté des atypies cytologiques minimales sur la pièce opératoire justifiant la répétition de la recherche d'amplification de *MDM2*. Pour un cas la technique a été répétée en raison des dimensions de la tumeur : 30 cm et un poids de 2,7 kg.

Enfin, pour un de ces cinq cas, ce ne sont pas les critères de taille ni de poids tumoral qui étaient suspects. En effet, il s'agissait d'une tumeur, localisée au mollet gauche, de 7,5 cm de grand axe, pesant 150 g, donc pouvant correspondre cliniquement à un simple lipome. Cependant, l'IRM mettait en évidence une masse hétérogène en hyper T2 associant une composante grasseuse et « kystique », évocateur d'un contingent myxoïde. L'examen microscopique de la pièce opératoire faisait apparaître des territoires bien différenciés associés à des secteurs myxoïdes. Dans ces territoires il existait une vascularisation faite de capillaires fins et branchés. Les cellules tumorales comportaient un noyau ovalaire et un cytoplasme fusiforme peu visible. Ces aspects étaient fortement évocateurs de liposarcome myxoïde. Ils n'étaient pas présents sur la microbiopsie qui n'avait intéressé que les territoires adipeux matures.

Pour les 4 cas suspects d'être des tumeurs adipeuses atypiques, la FISH à la recherche d'amplification de *MDM2* a été réalisée. Ainsi, 3 de ces 4 cas (2 cas ayant présenté une morphologie suspecte sur la pièce opératoire et 1 cas cliniquement suspect du fait de sa taille tumorale) ont montré une amplification significative du gène *MDM2* en FISH réalisée sur la pièce opératoire. Ce qui a donc permis de rétablir le diagnostic de tumeur adipeuse atypique/ liposarcome bien différencié de type « lipoma-like ».

Pour un cas, il a été mis en évidence une polysomie du chromosome 12 en FISH, rendant non interprétable la présence ou non d'une éventuelle amplification du gène *MDM2* en FISH sur la biopsie ou sur la pièce opératoire. On observait ainsi, la présence dans tous les noyaux analysés, de 2 à plusieurs spots verts ainsi que 2 à plusieurs spots rouges, traduisant une polysomie.

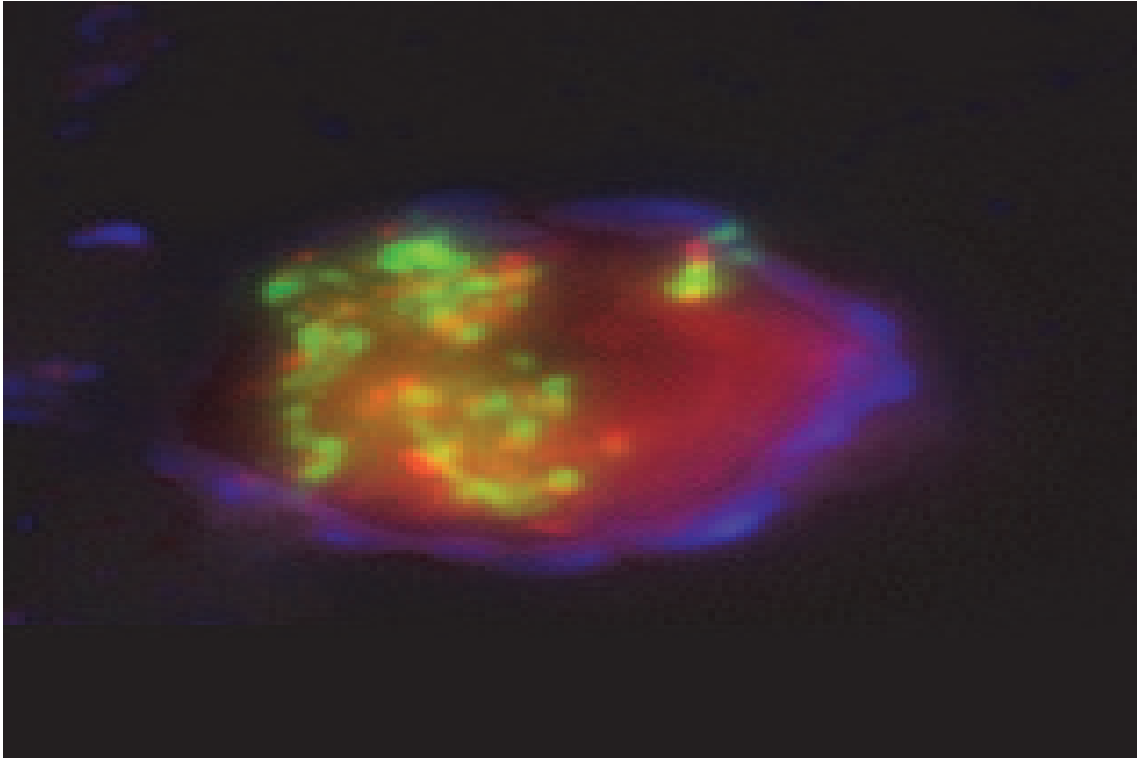


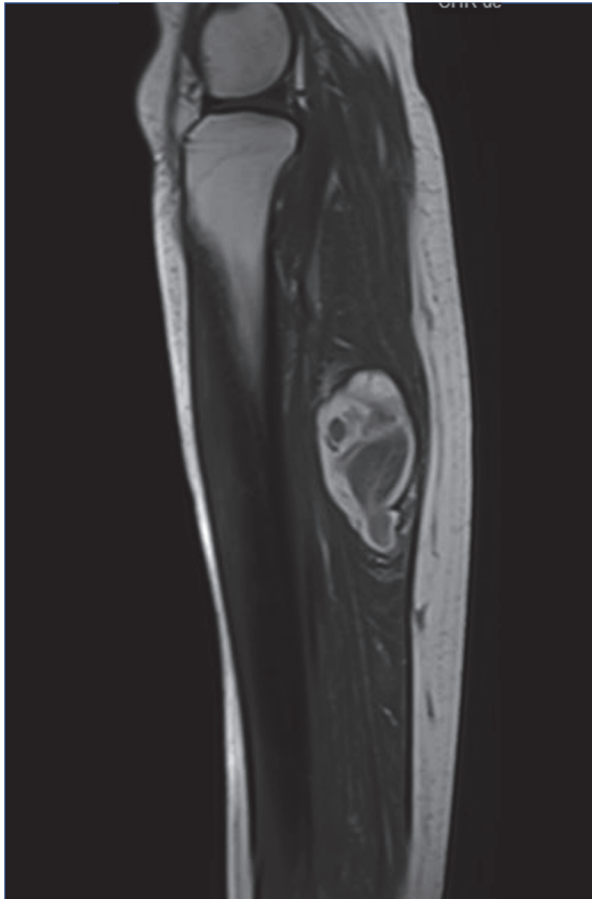
Figure 7 : FISH polysomie CH 12 (nombreux spots rouges et verts)

Pour ce cas de polysomie du chromosome 12, il a été nécessaire de réaliser d'autres techniques complémentaires à la recherche de l'amplification *MDM2*, pour pouvoir poser un diagnostic de malignité.

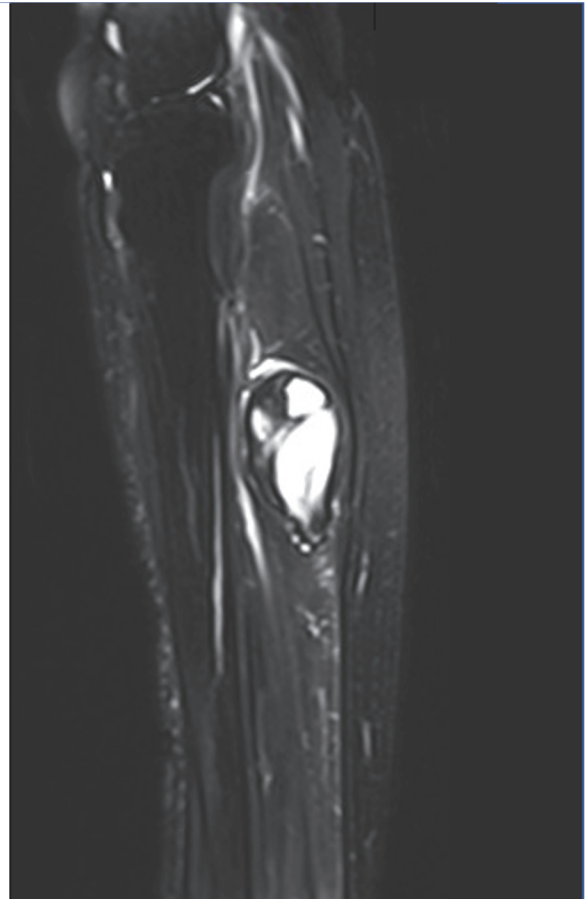
Une étude par CGH array a donc été réalisée à Nice (Service du Professeur Pedeutour), révélant ainsi une amplification de la région 12q12-21, incluant les gènes *MDM2* et *CDK4* permettant de faire le diagnostic de tumeur adipeuse atypique.

Enfin, pour le cas suspect d'être un liposarcome myxoïde une nouvelle technique de FISH, a été réalisée à la recherche d'un réarrangement des gènes *FUS* et *CHOP* (*DDIT3*) avec sondes spécifiques de type « Break-apart » sur un prélèvement de la pièce opératoire. Cette recherche s'est avérée positive tandis que la recherche d'amplification de *MDM2* était négative.

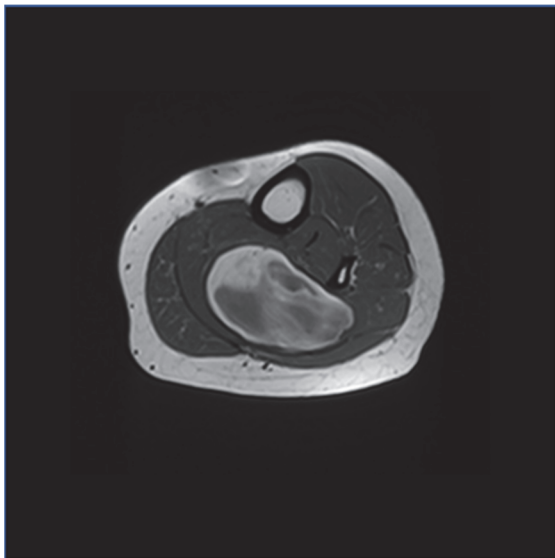
Nous avons également mis en évidence le transcrit de fusion *FUS/CHOP* sur le prélèvement microbiopsique congelé (envoi du cas à l'Institut Curie) ainsi que le réarrangement des gènes *FUS* et *CHOP* par méthode de FISH réalisée a posteriori sur matériel biopsique fixé.



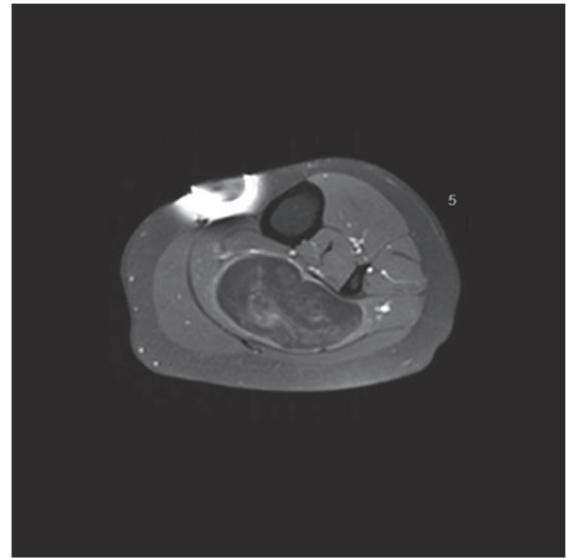
T1 FAT SAT SAGITTAL



T2 FAT SAT SAGITTAL



T1 FAT SAT AXIAL



T1 FAT SAT GADO

Figure 8 : Imagerie évocatrice d'un liposarcome myxoïde

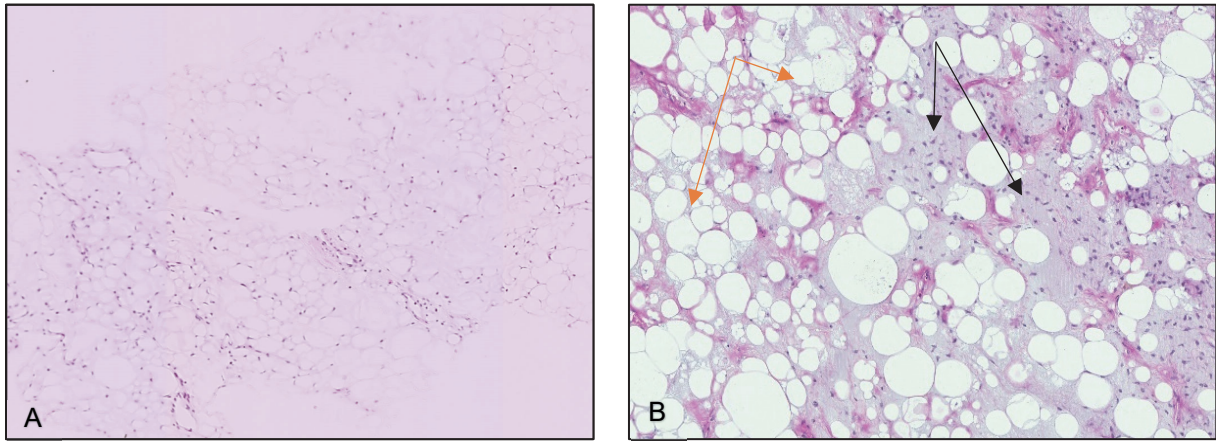


Figure 9

A/ Microscopie de la biopsie : territoire adipeux bien différencié « lipoma-like ».

B/ Microscopie de la pièce opératoire montrant des aspects de liposarcome myxoïde habituel (flèches noires) avec territoires adipeux lipoma-like extensifs (flèches orange)

Un anticorps anti NY ESO1 a été récemment décrit comme sensible et spécifique des liposarcomes myxoïdes. (Partie IHC détaillée dans le chapitre Discussion).

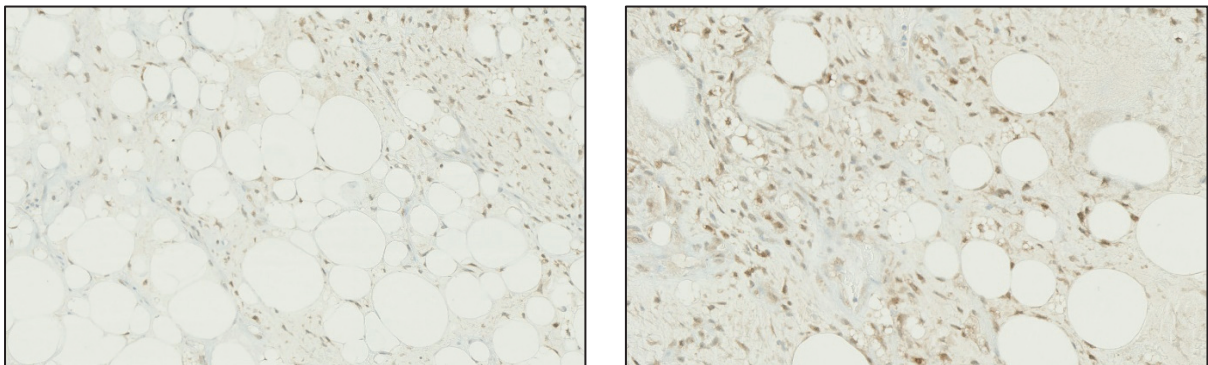


Figure 10

Expression nucléaire diffuse dans les deux contingents (myxoïde et « lipoma-like ») de NY-ESO1

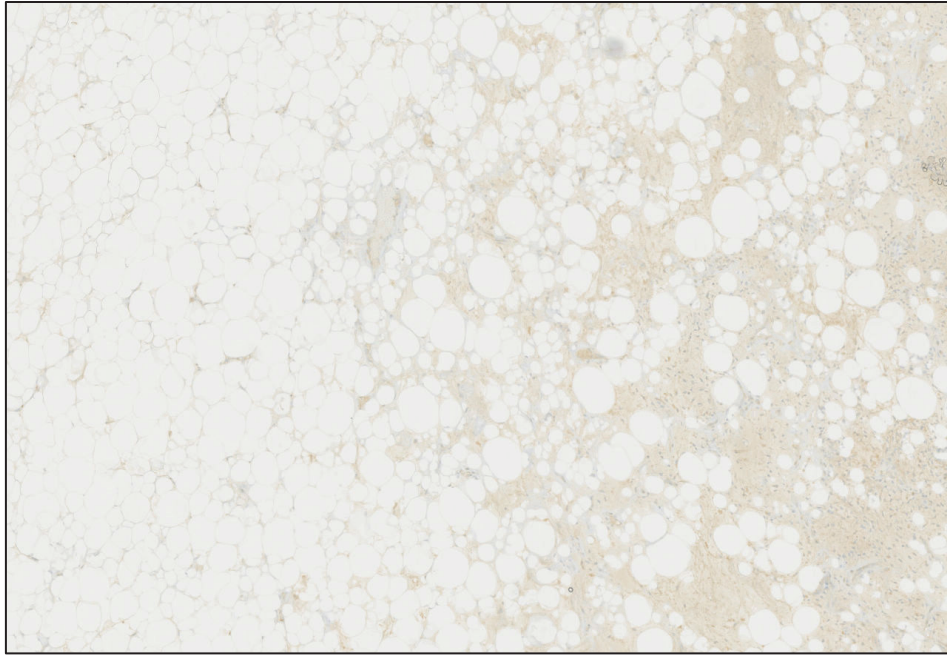


Figure 11 : Absence d'expression de l'anticorps anti-HMGA2 dans les deux contingents (myxoïde et lipoma like)

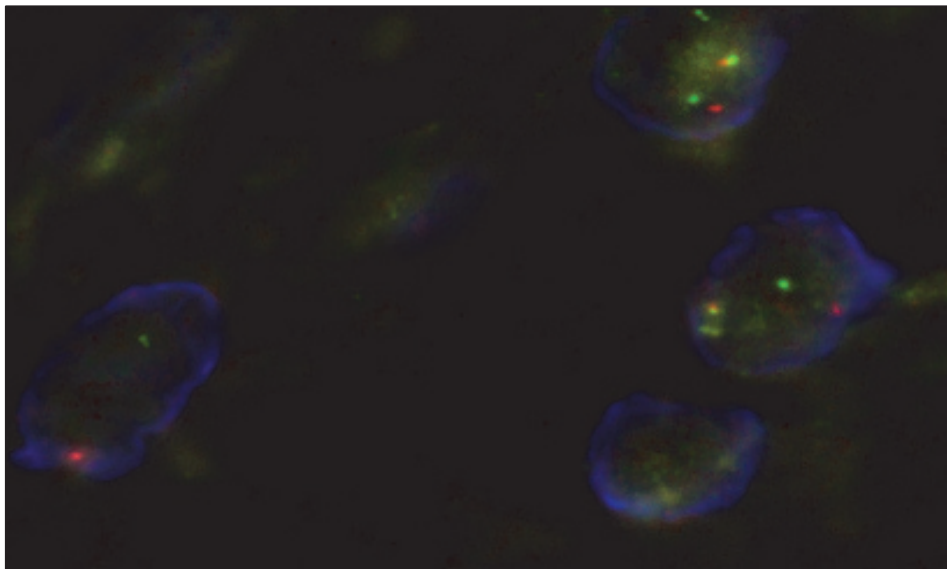


Figure 12 : FISH sonde break apart *FUS* (liposarcome myxoïde) : séparation des spots verts et rouges

Les discordances observées avec les résultats obtenus en FISH du statut *MDM2* pour les tumeurs adipeuses bien différenciées nous ont incités à développer une autre technique de mise en évidence : la droplet digital PCR (ddPCR). Nous avons réalisé cette technique sur tous les cas de microbiopsies pour lesquelles il restait du matériel tissulaire (N = 23 cas) et sur un prélèvement représentatif de la pièce opératoire des cas de liposarcomes ainsi que sur 22 lipomes (microbiopsies et pièces opératoires).

3) Comparaison des résultats obtenus en FISH et en Droplet Digital PCR

LIPOSARCOMES	FISH MDM2 BIOPSIE	DDPCR MDM2 BIOPSIE	FISH MDM2 PO	DDPCR MDM2 PO
1	+	10,8	+	19,1
2	+	24	+	18,6
3	+	11,9	+	36,4
4	+	22,6	+	17,7
5	+	64	+	47
6	+	24,8	+	29,6
7	+	41,2	+	28,1
8	+	5,23	+	17,6
9	+	3,33	+	9,3
10	+	6,1	+	13,7
11	+	9,6	+	5,4
12	+	Inexploitable	+	11,2
13	+	15,5	+	29
14	+	Inexploitable	+	5,81
15	+	4,4	+	15
16	+	3	+	11
17	+	10,7	+	73
18	+	2,79	+	5,89
19	+	8,2	+	16
20	+	12,1	+	44,7
21	+	Inexploitable	+	470
22	+	10,1	+	23,7
23	NI	3,22	+	13,2
24	+	Inexploitable	+	9

Tableau 3 : Comparaison FISH / ddPCR des cas de liposarcomes hors cas discordants (N=24) (les valeurs numériques indiquées sont les valeurs de CNV, conditions d'interprétation en ddPCR dans notre laboratoire :

- amplifié si $CNV \geq 9$,
- non concluant si $4 < CNV < 9$
- et non amplifié si $CNV \leq 4$)

NI : non interprétable Inexploitable : matériel d'ADN insuffisant pour réaliser la technique de ddPCR

LIPOSARCOMES	FISH MDM2 BIOP	ddPCR BIOP	ddPCR PO
1	+	3,3	9,3
2	+	3	11
3	+	2,79	5,89
4	+	3,22	13,2

Tableau 4 : cas discordants FISH / ddPCR sur biopsie (N=4)

Résultats de la recherche de l'amplification de MDM2 en FISH

Ainsi, devant l'ensemble de ces résultats de FISH, nous avons pu calculer la sensibilité ainsi que la spécificité de cette technique dans le cadre diagnostique des tumeurs adipeuses bien différenciées de l'adulte, ce qui correspondait à notre objectif principal. Pour les 28 cas de tumeurs adipeuses atypiques/ liposarcomes de bas grade, la sensibilité de la FISH sur microbiopsies à la recherche de l'amplification du gène MDM2 était évaluée à 86% avec une spécificité de l'ordre de 100%.

Cependant, il faut noter que la FISH réalisée sur les pièces opératoires (N=29), a dû être répétée dans 10 cas de liposarcomes pour obtenir un signal interprétable.

Résultats de la recherche de l'amplification de MDM2 en ddPCR

En ce qui concerne la ddPCR, rétrospectivement, nous avons réalisé cette technique sur l'ensemble des microbiopsies dont le matériel tissulaire restant était suffisant (23 cas) et la totalité des pièces opératoires des cas de liposarcomes. Afin de mieux préciser et étalonner notre seuil d'interprétation de cette méthode, nous avons également réalisé la ddPCR sur 22 biopsies et pièces opératoires de cas de lipomes constituant notre cohorte. Le CNV moyen de ces cas de lipomes sur biopsie était de 2,83 compatible avec notre seuil fixé (non amplifié si CNV<4).

Sur matériel biopsique (Tableau 4), nous avons mis en évidence 4 cas discordants entre les résultats de ddPCR et FISH. Ces 4 cas biopsiques étaient amplifiés en FISH mais étaient non amplifiés ddPCR avec des CNV respectifs inférieurs à 4. (CNV=3,3 – 3 – 2,79 – 3,22). Parallèlement, sur pièce opératoire, nous avons pu mettre en évidence une amplification pour trois de ces cas avec des CNV respectivement de 9,3 – 11 – 13,2 compatibles avec le diagnostic de ALT. Cependant, pour le troisième cas, sur pièce opératoire, la ddPCR était non concluante avec un CNV=5,89.

Le diagnostic de liposarcome bien différencié n'a cependant pas été remis en doute en raison d'une FISH amplifiée sur biopsie et sur pièce opératoire.

En ce qui concerne les cas de discordances observés entre les données obtenues en FISH sur microbiopsie puis sur pièce opératoire (Tableau 5), 1 cas sur 5, présentait une amplification de *MDM2* en ddPCR, sur biopsie, avec une valeur de CNV=23. Les 2 autres cas présentaient des valeurs de CNV de 4,45 et 5,9 ne permettant pas d'affirmer l'amplification du gène *MDM2*. Le dernier cas restant n'a pas pu être exploité en ddPCR par manque de quantité d'ADN suffisante pour réaliser la technique.

Le cas de liposarcome myxoïde ne présentait pas d'amplification en ddPCR de *MDM2* (CNV=3,94) en accord avec le diagnostic posé.

Par conséquent, dans le cadre de ces 4 cas discordants, la ddPCR a permis d'établir le diagnostic de ALT dans 1 cas seulement.

CAS DISCORDANTS	FISH MDM2 BIOPSIE	DDPCR MDM2 BIOPSIE	FISH MDM2 PO	DDPCR MDM2 PO
1	Polysomie CH12	CNV = 23	Polysomie CH12	CNV = 2300
2	-	Inexploitable	+	CNV = 14,6
3	-	CNV = 4,45	+	CNV = 13,5
4	-	CNV = 5,9	+	CNV = 50,2

Tableau 5 : comparaison FISH/ddPCR des cas discordants de ALT/liposarcomes bien différenciés/ (N=4)

En parallèle, sur les pièces opératoires de ces 4 cas discordants, la ddPCR a présenté une sensibilité de 100% en comparaison à celle de la FISH (96%) en mettant en évidence pour chacun des cas une amplification (CNV respectifs > 9 : 2300 – 14,6 – 13,5 – 50,2). Seul le cas de polysomie du Chromosome 12 est resté non interprétable en FISH sur pièce opératoire.

Sur les 23 biopsies de liposarcomes (hors cas discordants) testés en droplet, 4 cas (Tableau 6) ont été rendus non concluants avec un $4 < \text{CNV} < 9$ (respectivement CNV= 4,82 – 6,1 – 4,4 – 8,2). Sur leurs pièces opératoires respectives, cette situation a été rétablie avec un CNV pour chacun des cas > 9, concluant à une amplification du

gène MDM2 compatible avec le diagnostic de liposarcome (CNV respectivement : 17,6 – 13,7 – 15 – 16).

CAS	ddPCR BIOPSIE	ddPCR PO
1	NI (CNV= 4,82)	A (CNV=17,6)
2	NI (CNV=6,1)	A (CNV=13,7)
3	NI (CNV=4,4)	A (CNV=15)
4	NI (CNV=8,2)	A (CNV=16)

Tableau 6 : cas ‘incertains’ en ddPCR sur biopsie (N=4)

NI : non interprétable, A : amplifié

L’analyse des 24 pièces opératoires de liposarcomes (hors cas discordants) en droplet PCR a montré dans 3 cas (Tableau 7) des résultats non concluants avec $4 < \text{CNV} < 9$ (respectivement CNV= 5,4 – 5,81 – 5,89). Parallèlement, la biopsie avait permis pour un des cas de montrer une amplification (CNV = 9,6) mais pour les deux autres cas, le matériel était soit inexploitable pour réaliser la technique soit dans le dernier cas était rendue non amplifiée (CNV = 2,79). Le diagnostic de malignité n’a cependant pas été remis en question devant l’amplification de *MDM2* observée en FISH pour chacun de ces cas.

CAS	ddPCR BIOPSIE	ddPCR PO 1	ddPCR PO 2
1	9,6	5,4	INEXPLOITABLE
2	INEXPLOITABLE	5,81	5,7
3	2,79	5,89	2,8

Tableau 7 : cas ‘incertains’ en ddPCR sur pièce opératoire (N=3)

Ainsi, il est important de préciser que pour ces 3 cas décrits ci-dessus, pour lesquels le CNV était dans l’intervalle d’incertitude ($4 < \text{CNV} < 9$), nous avons voulu réitérer la technique de droplet PCR sur deux blocs tumoraux différents afin de pouvoir conclure (Tableau 7). Cependant, pour deux de ces trois cas, nous n’avons pu conclure en raison d’un CNV compris dans les seuils d’incertitude pour un cas, et un matériel inexploitable pour le second cas. Enfin, pour le dernier cas, le CNV était interprétable mais avec une valeur de 2,8 concluant à l’absence d’amplification mise en évidence par cette technique.

Cependant, pour aucun de ces cas, nous n'avons remis en question le diagnostic de liposarcome bien différencié, en raison d'une amplification observée en FISH.

Enfin, pour un des cas de liposarcomes amplifié sur biopsie (CNV = 10,8), nous avons également dû refaire une deuxième technique de droplet en raison d'un résultat non amplifié sur pièce opératoire initialement (CNV = 3,72). Cette deuxième technique a pu permettre de rendre un résultat amplifié compatible avec le diagnostic de liposarcome (CNV = 19,1). Ce qui est intéressant de souligner c'est qu'en parallèle, pour ce même cas, il a fallu deux techniques de FISH sur deux blocs tumoraux différents de la pièce opératoire pour mettre en évidence une amplification du gène *MDM2*.

Pour chacun des cas de liposarcomes où la droplet PCR avait été refaite plusieurs fois, nous avons toujours considéré la valeur la plus élevée de CNV afin de la comparer aux résultats de FISH.

Ainsi, sur biopsie (N = 23), la ddPCR a présenté une sensibilité de 56% et une spécificité de 100%. Sur pièce opératoire (N = 28), la ddPCR a présenté une sensibilité de 86%, et une spécificité de 100%. La réalisation de la ddPCR sur un autre bloc tumoral, dans les cas non concluants initialement, a permis d'augmenter la sensibilité à 89%.

Données pronostiques et de suivi

Sur les 28 cas de liposarcomes, 16 cas ont évolué sans récurrence tumorale observée en clinique ou à l'IRM. 5 cas ont connu une récurrence dans les 6 mois à 1 an qui ont suivi le traitement chirurgical, et ont bénéficié d'un traitement par radiothérapie. Concernant ces cas de récurrences, cela concernait des cas de liposarcomes dont le diagnostic avait été posé initialement, sur le prélèvement biopsique avec une amplification de *MDM2* observée en FISH. Pour les 7 derniers cas, il n'avait pas de précision dans le dossier Axigate du patient concernant son évolution.

En ce qui concerne les 4 cas discordants dont le diagnostic de tumeur adipeuse atypique n'avait pas été fait en préopératoire, 2 cas ne présentaient pas de récurrence à la date des dernières nouvelles (en 2019) et pour les deux autres cas le suivi clinique n'était pas disponible.

Le traitement adjuvant par radiothérapie a été décidé pour 15 cas de liposarcomes, dont 5 cas en récurrence tumorale. Les indications de la radiothérapie n'ont pas été précisées pour ces cas non récidivants. En effet, la taille tumorale ne semblait pas être un facteur indicatif puisque les tailles de ces cas variaient de 8 à 22 cm (moyenne de 16).

Cependant, nous ne pouvions pas réaliser d'analyse statistique concernant les données pronostiques ou de survie de notre cohorte devant le faible nombre de patients suivis (21 cas), ainsi que le faible recul de temps de suivi (6 mois à 1 an).

IV/ DISCUSSION

Comme nous l'avons précisé en amont, bien que l'évolution du lipome et de la tumeur adipeuse atypique/ liposarcome bien différencié soit favorable il est important de pouvoir faire un diagnostic de certitude afin d'orienter au mieux la prise en charge et le suivi des patients.

Ce diagnostic nécessite une étude moléculaire couplée à l'examen morphologique sur matériel biopsique.

1) Performance diagnostique de la FISH sur microbiopsie pour le diagnostic des tumeurs adipeuses atypiques

Comparaison avec les données de la littérature

Dans la plupart des études publiées, la FISH apparaît comme le gold standard pour la recherche de l'amplification de *MDM2* réalisée en général sur des prélèvements chirurgicaux (16) (18). Cependant, il est à noter qu'aucun consensus n'a été clairement défini concernant les conditions d'interprétation de la FISH, ce qui rend difficile la comparaison entre les études.

En effet, dans la plupart des travaux un ratio $MDM2/CH\ 12 \geq 2$ est synonyme d'amplification. Dans d'autres études une évaluation semi-quantitative du niveau d'amplification est fournie avec par exemple une précision concernant le nombre de copies de *MDM2* (le nombre de signal par noyaux exigé). Le nombre de noyaux analysé est variable (50-200) de même que le nombre de cellules porteuses de l'anomalie (seuil). Enfin le nombre de lecteurs est également variable (2 en moyenne cependant) (16) (17) (18) (20).

Peu de travaux ont porté spécifiquement sur des prélèvements microbiopsiques de tumeurs adipeuses bien différenciées des membres. *Weaver et al* (20) ont analysé 17 cas de liposarcomes et 37 cas de tumeurs bénignes adipeuses en comparant les données de *FISH* et de l'immunodétection anti-*MDM2* biopsies et pièces opératoires. Les ratios moyens d'amplification du gène *MDM2* dans le groupe des liposarcomes bien différenciés étaient de 4,7 (sur biopsie) et 4,6 (sur pièce opératoire), ce qui montre comme dans notre travail un faible niveau d'amplification dans les ALT. Ce faible

niveau d'amplification du gène *MDM2* dans les tumeurs adipeuses atypiques a déjà été rapporté dans la littérature (*Ware et al. Kawashima et al.*) (19) (40) représente une source réelle de difficulté pour établir le diagnostic.

L'autre difficulté est liée à une hétérogénéité intra-tumorale du niveau d'amplification de *MDM2* pouvant expliquer une partie des discordances des résultats de FISH obtenus en pré et postopératoire et ce d'autant que l'échantillonnage microbiopsique est quantitativement limité (20) (40). Cependant, il est important de préciser que les 4 cas discordants observés dans notre étude exprimaient de manière diffuse l'anticorps anti-*HMGA2* sur biopsie, confirmant le caractère tumoral du prélèvement. De telles discordances ont déjà été rapportées par *Thway et al.*(17) qui ont noté une absence d'amplification sur 2 microbiopsies / 6 alors qu'elle était présente sur un prélèvement réalisé au niveau de la pièce opératoire de leurs cas de ALT.

De même, nous avons constaté cette hétérogénéité tumorale avec la réalisation de la FISH sur 10 cas pour lesquels la FISH a été répétée sur des prélèvements différents au niveau de la pièce opératoire.

Dans ce contexte est-ce que l'immunohistochimie avec l'anticorps anti-*MDM2* peut-être utilisée à visée diagnostique ? *Weaver et al.*(20) ont montré que l'expression de *MDM2* était présente dans la majorité des cas de liposarcomes de façon focale concernant moins de 25% de cellules tumorales, ce qui est semblable à nos résultats. Ceci montre la faible sensibilité de ce marqueur notamment sur biopsie, où cette positivité focale peut être absente. A l'inverse, 11% de tumeurs bénignes adipeuses ont présenté une expression de *MDM2* en IHC dans leur étude, en comparaison avec une absence d'amplification de *MDM2* en FISH, ce qui confirme également sa faible spécificité. Les auteurs ont donc conclu à la supériorité de la FISH versus l'immunohistochimie, spécialement sur prélèvement biopsique (100% de sensibilité et de spécificité pour la FISH versus 65% de sensibilité et 89% de spécificité pour l'IHC sur biopsie). Un facteur limitant de la FISH a été cependant soulevé : 20% des FISH réalisées sur biopsies étaient ininterprétables sans raison clairement objectivée mais l'auto-fluorescence pourrait en être une.

Comparaison entre les résultats obtenus en FISH et ddPCR

Dans la littérature, il n'existe pas d'étude semblable à la nôtre avec évaluation de l'amplification de *MDM2* en ddPCR. Seuls des travaux réalisés en PCR quantitative ont été rapportés. *Sasaki et al.*(19) ont étudié l'expression de *MDM2* en RT-PCR de 124 lipomes et 44 ALT, sur biopsies (38) et pièces opératoires (14). Les taux d'expression d'ARN de *MDM2* et de *CDK4* sur pièce opératoire étaient significativement plus élevés dans les tumeurs adipeuses atypiques/liposarcomes bien différenciés qu'au sein des lipomes ($p < 0,05$) alors que cela n'était pas le cas sur microbiopsies. En préopératoire sur microbiopsies, il existait des chevauchements pour les valeurs obtenues pour les lipomes et celles des tumeurs adipeuses atypiques.

En effet, comme nous l'avons observé dans la partie Résultats, sur les 28 cas de ALT la ddPCR n'a pas pu mettre en évidence d'amplification du gène *MDM2* sur biopsie dans 4 cas et a donc été rendue non amplifiée (CNV 3,3 – 3 – 2,79 – 3,2). Dans 6 autres cas, la valeur du CNV était compris dans la zone d'incertitude, entre 4 et 9, (CNV 5,23 – 6,1 – 4,45 – 5,9 – 4,4 – 8,2) où l'on ne pouvait pas statuer. Dans 5 cas de biopsies, le matériel était inexploitable en raison du manque d'ADN suffisant pour réaliser cette technique. A noter cependant qu'une partie du matériel avait déjà été utilisé pour réaliser la technique de FISH et parfois l'immunohistochimie.

En parallèle, sur les pièces opératoires de ces 4 cas pour lesquels la biopsie n'était pas amplifiée en ddPCR, un cas n'a pas pu être concluant en ddPCR avec un CNV de 5,89 (et un CNV de 2,8 effectués sur un autre bloc tumoral). Cependant, le diagnostic de liposarcome bien différencié n'a pas été remis en doute devant l'amplification de *MDM2* mise en évidence par FISH sur biopsie et pièce opératoire.

Concernant le deuxième cas de biopsie non amplifiée en ddPCR, sur pièce opératoire ce dernier a été amplifié avec un CNV = 11.

Enfin, concernant les 6 cas pour lesquels la biopsie n'était pas concluante, il existait une amplification en ddPCR au niveau de la pièce opératoire (CNV = 17,6 – 13,7 – 13,5 – 50,2 – 15 et 16 respectivement).

Ces différentes valeurs de CNV au sein d'une même tumeur montrent une réelle hétérogénéité tumorale. La sensibilité de la ddPCR (56%) a été inférieure à celle de la FISH (86%) sur biopsie avec les conditions d'interprétation actuelles. Ces dernières

vont probablement évoluer avec un travail en cours sur une plus grande cohorte de cas de lipomes et liposarcomes de bas grade/ALT qui permettra probablement de diminuer l'intervalle de la zone d'incertitude.

Enfin, la ddPCR se montre intéressante en présence d'une polysomie et aurait permis le diagnostic préopératoire dans l'un de nos cas discordants.

Avantages et inconvénients des techniques de FISH et de ddPCR

Le principal avantage de la FISH repose sur la possibilité d'identifier morphologiquement le tissu non tumoral et précisément les cellules inflammatoires, qui peuvent être source de faux positifs par les autres techniques (33) (36). Elle est relativement rapide (2 jours de technique).

Cependant, c'est une technique coûteuse (prix des sondes cibles environ une centaine d'euros), nécessitant un personnel attitré à ce poste ainsi qu'un microscope à fluorescence avec logiciel d'analyse d'image (non présent dans tous les services de Pathologie)(42).

Il existe dans la littérature un taux d'échec moyen de 15-20% pour la technique de FISH réalisée sur matériel fixé et inclus en paraffine (20) (36). Dans notre étude pour 10 cas (pièces opératoires) de liposarcome, nous avons dû faire à deux reprises la technique de FISH sur le même bloc, afin de mettre en évidence un signal interprétable. Cette situation peut être expliquée par la spécificité du tissu adipeux avec notamment un paramètre préanalytique tel que le temps de fixation à améliorer (36).

La lecture de la FISH est également un facteur limitant car observateur dépendant avec des conditions d'interprétation variables et un temps d'analyse plus ou moins long (42) (33).

De plus, certaines études démontrent que la fiabilité diagnostique de la FISH peut être abaissée dans certains cas en raison de la présence de clusters au sein de la tumeur ou de signaux se chevauchant, conduisant à majorer le taux d'amplification (40).

La Droplet Digital PCR, est une récente technique de Biologie Moléculaire en essor, nécessitant une extraction de l'ADN tumoral sur une plateforme spécialisée, qui n'est pas toujours accessible dans tous les centres hospitaliers (43) (44).

C'est une technique qui apparaît comme étant extrêmement sensible en comparaison avec la PCR classique, et ceci en raison de la compartimentalisation des échantillons et de leur analyse individuelle. Cela permet de détecter le signal de fluorescence du compartiment contenant l'ADN muté ou amplifié, sans que son signal soit masqué par les autres séquences d'ADN abondantes. De plus, il s'agit d'une quantification absolue en point final (à la fin de la réaction de PCR) et non en point réel (comme pour les PCR classiques). C'est un système binaire ou numérique en dénombrant les compartiments positifs et ceux négatifs. Elle permet également de multiplexer les amplifications grâce à cette compartimentalisation des copies d'ADN sans créer de compétitions entre elles. Une autre spécificité de cette technique réside dans l'absence de nécessité d'utilisation de courbe de calibration ou de référence externe contrairement à d'autres techniques de PCR.

Ainsi dans notre problématique, afin de pouvoir mettre en évidence une amplification du gène *MDM2*, nous devons déterminer sa concentration ainsi que celle d'un autre gène dit de référence, qui n'est jamais amplifié dans les tumeurs adipeuses bien différenciées. Il s'agit ici du gène *GAPDH* situé sur le même chromosome que *MDM2* mais sur l'autre bras (12p13.31). La ddPCR permet la co-amplification des deux gènes dans le même puit contenant les nano-gouttelettes. Dans une cellule normale, les chromosomes sont présents en deux exemplaires : un paternel et un maternel. Les résultats d'amplification génique sont exprimés en Copies Number Variation : $CNV = [MDM2] / [GAPDH] \times 2$. Ainsi pour un échantillon normal $CNV = (QMDM2/QGAPDH) \times 2 = 2$. Un échantillon est ainsi théoriquement considéré amplifié lorsque $CNV > 2$. (43) (44)

Cependant, en pratique, afin de déterminer une valeur seuil de CNV pour évaluer le statut mutationnel du gène *MDM2* et donc permettre de poser un diagnostic, le service a analysé une centaine de cas de tumeurs adipeuses bénignes et malignes. Ainsi, après analyse statistique nous avons décidé de conclure à une amplification du gène *MDM2* certaine si le $CNV > 9$. (Technique détaillée dans la partie Annexes).

Un point fort de cette technique observée dans notre étude est la possibilité de mettre en évidence l'amplification du gène *MDM2* même en cas de polysomie du Chromosome 12, celle-ci n'altérant pas l'interprétation des résultats contrairement à la FISH, en raison de la spécificité de la ddPCR qui compare le gène *MDM2* avec un gène (*GAPDH*) se trouvant sur le même chromosome, ce qui n'a pas d'impact sur le ratio calculé. (44)

Ses limites sont liées essentiellement à la présence du bruit de fond généré par le système, qui influence directement sa sensibilité, ainsi qu'à la concentration d'ADN qui doit être suffisante pour réaliser la technique. Ce facteur a été limitant dans notre étude, avec 5 prélèvements biopsiques qui n'ont pas pu être techniqués en ddPCR par manque de concentration d'ADN tumoral suffisant. (43)

Enfin, son principal inconvénient est la situation dans laquelle nous ne pouvons pas conclure au statut amplifié ou non du gène *MDM2* ($4 < CNV < 9$). En pratique, dans notre service, dans un premier temps, nous réalisons la technique de droplet PCR sur le matériel biopsique pour rechercher l'amplification du gène *MDM2*. Si celle-ci n'est pas concluante ($4 < CNV < 9$) nous réitérons cette technique sur un second bloc tumoral (si disponible) où nous réalisons une technique de FISH en complément pour permettre de poser un diagnostic.

2) Cas du liposarcome myxoïde avec territoires adipeux bien différenciés extensifs

Au cours de cette étude, une deuxième problématique s'est posée devant un cas de liposarcome myxoïde présentant des territoires adipeux bien différenciés « extensifs ». Ce sont ces territoires qui avaient été échantillonnés sur microbiopsie. Cependant l'IRM avait mis en évidence un hyper signal T2 suggérant un contingent myxoïde. La présence de remaniements myxoïdes est possible dans les tumeurs adipeuses bien différenciées et n'exclut pas ce diagnostic. Dans la littérature, il est admis qu'un tiers des liposarcomes bien différenciés présenteraient des remaniements myxoïdes. En revanche la fréquence des liposarcomes myxoïdes avec territoires bien différenciés « extensifs » c'est-à-dire majoritaires n'est pas précisé et serait rarissime.(45)

Les différentes techniques moléculaires réalisées dans ce cas confirment un profil d'altération génétique de type liposarcome myxoïde (gène de fusion *FUS-CHOP* et absence d'amplification du gène *MDM2*) à la fois dans les secteurs adipeux bien différenciés et myxoïdes comme cela est décrit dans la littérature pour ce type de tumeurs (45) (46).

Iwasaki et Ishiguro, (45) ont étudié des cas de tumeurs adipeuses comportant des territoires myxoïdes. Elles comprenaient 8 cas liposarcomes myxoïdes avec remaniements adipeux bien différenciés extensifs, 11 liposarcomes myxoïdes ordinaires, 4 liposarcomes bien différenciés et 6 liposarcomes dédifférenciés. Les liposarcomes myxoïdes avec territoire adipeux bien différenciés compris entre 30 et 90% du volume tumoral (49% en moyenne) étaient qualifiés « d'extensifs ». Dans notre cas 50% du volume tumoral était représenté par des territoires adipeux bien différenciés. Cette catégorie de liposarcome myxoïde avait dans leur série un meilleur pronostic mais le nombre de cas est trop faible pour l'affirmer. En effet, leur taux de récurrence était de 20% comparé à 44% des formes habituelles de liposarcomes myxoïdes et il n'y avait pas de métastase.

Apport éventuel de l'immunohistochimie pour aider à discerner ces entités

Récemment il a été rapporté l'expression de l'antigène NY-ESO1 dans les liposarcomes myxoïdes. Il s'agit d'un antigène codé par le gène *CTAG1B* localisé sur le chromosome X en position q28, exprimé à l'état normal dans les cellules germinales testiculaires (expression cytoplasmique), et dont l'expression est forte dans certains cancers (sarcomes, mélanomes et carcinomes). (47) (48) (49) (50)

L'article d'*Hemminger et al.* (47) a comparé l'expression de NY-ESO1 (clone E978) au sein de 138 tumeurs mésenchymateuses, comprenant des liposarcomes myxoïdes, des myxomes extra cardiaques, des lipomes avec remaniements myxoïdes, des chondrosarcomes myxoïdes extra squelettique, des myxofibrosarcomes et des liposarcomes bien différenciés. Les résultats de cette étude ont montré que ce marqueur était exprimé dans 95% des liposarcomes myxoïdes, avec une positivité intense dans 94% des cas et homogène sur plus de 50% de la tumeur. Aucune des autres tumeurs mésenchymateuses testées dans cette étude n'a exprimé ce marqueur.

Nous avons réalisé rétrospectivement cette immunodétection sur la microbiopsie et sur un prélèvement de la pièce de résection du cas de liposarcome myxoïde avec territoires adipeux extensifs et observé une positivité nucléaire tandis qu'il n'existait pas d'immunomarquage avec l'anticorps anti-HMGA2.

Ce marqueur NY-ESO1 pourrait être réalisé systématiquement en présence d'une tumeur présentant des caractéristiques « myxoïdes » en imagerie.

3) Place de l'immunohistochimie sur microbiopsie

Dans notre étude, nous n'avons pas réalisé de manière homogène et uniforme les immunodétections avec les anticorps anti-*MDM2* et anti-*HMGA2* sur l'ensemble des biopsies.

Ce qui en ressort, malgré tout, et similairement aux autres études analysant l'expression de ces marqueurs par les tumeurs adipeuses bien différenciées des membres de l'adulte, c'est qu'il n'y a pas de marqueurs spécifiques de malignité, et que l'immunohistochimie ne présente pas autant de valeur diagnostique que les examens de cytogénétique ou Biologie Moléculaire pour discerner le lipome de la tumeur adipeuse atypique (36). La faible sensibilité de l'immunomarquage anti-*MDM2* fait qu'il n'est plus utilisé en routine pour le diagnostic sur microbiopsie devant une tumeur adipeuse bien différenciée selon les recommandations du réseau RREPS (pathologistes experts de NETSARC+).

L'anticorps anti-*HMGA2* peut être utilisé si on doute du caractère tumoral de l'échantillon. Enfin NY-ESO1 doit être réalisé si on évoque la possibilité d'un liposarcome myxoïde.

VI/ CONCLUSION

La microbiopsie pour le diagnostic préopératoire des tumeurs adipeuses atypiques (ALT) lorsque l'analyse moléculaire est couplée à l'histologie présente une bonne valeur diagnostique. La FISH apparaît plus sensible que la ddPCR pour la détection de l'amplification du gène *MDM2* sur microbiopsie. Cependant la ddPCR est capable de mettre en évidence l'amplification même en présence d'une polysomie. La redondance des techniques moléculaires permettrait donc dans certains cas d'améliorer la sensibilité du diagnostic préopératoire. Il est important de remettre en question le diagnostic réalisé sur microbiopsie en présence d'arguments cliniques ou histologiques faisant suspecter la malignité sur la pièce d'exérèse. Dans ces cas il ne faut pas hésiter à renouveler les techniques moléculaires. Enfin, il ne faut pas méconnaître ce type histologique de liposarcome myxoïde dit « avec territoires adipeux bien différenciés extensifs » qui peut être trompeur sur matériel biopsique et souligne l'importance de la confrontation anatomoclinique.

ANNEXES

1) Technique de FISH

A partir d'un bloc tumoral sélectionné, quatre coupes de 5 microns d'épaisseur chacune ont été réalisées à l'aide d'un microtome, et recueillies sur des lames blanches Superfrost. Les lames ont été ensuite séchées 30 minutes dans une étuve à 55°C. Une lame blanche a donc été colorée en HES pour le contrôle morphologique, et les trois autres lames blanches ont été stockées à température ambiante en attente de la technique de FISH.

Avant de commencer la procédure de FISH, les lames de tissu devaient être déparaffinées puis réhydrater, du fait que tout résidu de paraffine pouvait induire une hybridation non spécifique. Pour permettre une meilleure accessibilité de la sonde d'ADN, il faut éliminer le cytoplasme et les protéines et les lames devaient donc subir une digestion enzymatique.

Une fois les lames blanches coupées, *l'étape de déparaffinage* pouvait débuter : chaque lame blanche était incubée dans 3 bains successifs de Xylène pour une durée de 10 minutes chacun, puis placées dans des bains d'Ethanol (titré à 100% pendant 3 minutes et 70% pendant 3 minutes). Les lames ont été ensuite mise dans de l'eau distillée deux fois 3 minutes à température ambiante (diluée au 1/20^{ème}) avec une solution tampon Wash Buffer (kit fourni par Dako). Il était important d'égoutter les lames après chaque bain, afin d'éliminer tout excès de liquide.

- En ce qui concerne *l'étape de prétraitement*, les lames étaient trempées dans une solution de prétraitement diluée au 1/20^{ème} pendant 10 minutes avec de l'eau distillée et préchauffées à 97°C, puis à laisser refroidir 15 minutes. Les lames étaient ensuite mises dans la solution tampon diluée (Wash Buffer) deux fois 3 minutes, à température ambiante. L'excès de tampon pouvait être éliminé en tapotant la lame et en essuyant les contours. Par la suite, le *traitement à la pepsine froide* était pratiqué, à l'aide de 3 à 4 gouttes déposées sur les lames, qui étaient ensuite recouvertes d'une lamelle 24/60. On laissait incuber les lames à 37°C pendant 3 minutes, et on les réimmergeait dans la solution tampon diluée (Wash Buffer) deux fois 3 minutes à température ambiante.

- Ensuite, il s'agissait de l'étape de déshydratation : on trempait les lames dans des bains d'éthanol de concentration progressives, 70% pendant 2 min, 85% 2 min et 100% pendant 2 min.

Enfin il s'agissait de sécher les lames, et on procédait à la technique d'hybridation. A cette étape, les lames pouvaient être stockées à -20°C en attente de l'hybridation.

- Etape de dénaturation de l'ADN et d'hybridation :

Par la suite, on plaçait les lames sur la plaque chauffante et on y déposait 10 microns litres de sonde Kreatech MDM2 sur la zone délimitée (ce qui permettait une économie sur la quantité de sonde à utiliser). Le programme de dénaturation était lancé à la suite, à une température de 80°C pendant 5 mn. L'hybridation était assurée ensuite en plaçant les lames dans une étuve à 37°C pendant 24 heures.

Concernant l'étape finale de cette phase, il s'agissait du lavage des lames post hybridation et l'étape de contre coloration. La contre coloration était assurée par le dépôt de 15 ou 20 µl de DAPI II (molécule capable de se lier aux bases azotées de l'ADN) sur les lames, et y était ensuite appliquée par-dessus une lamelle de protection.

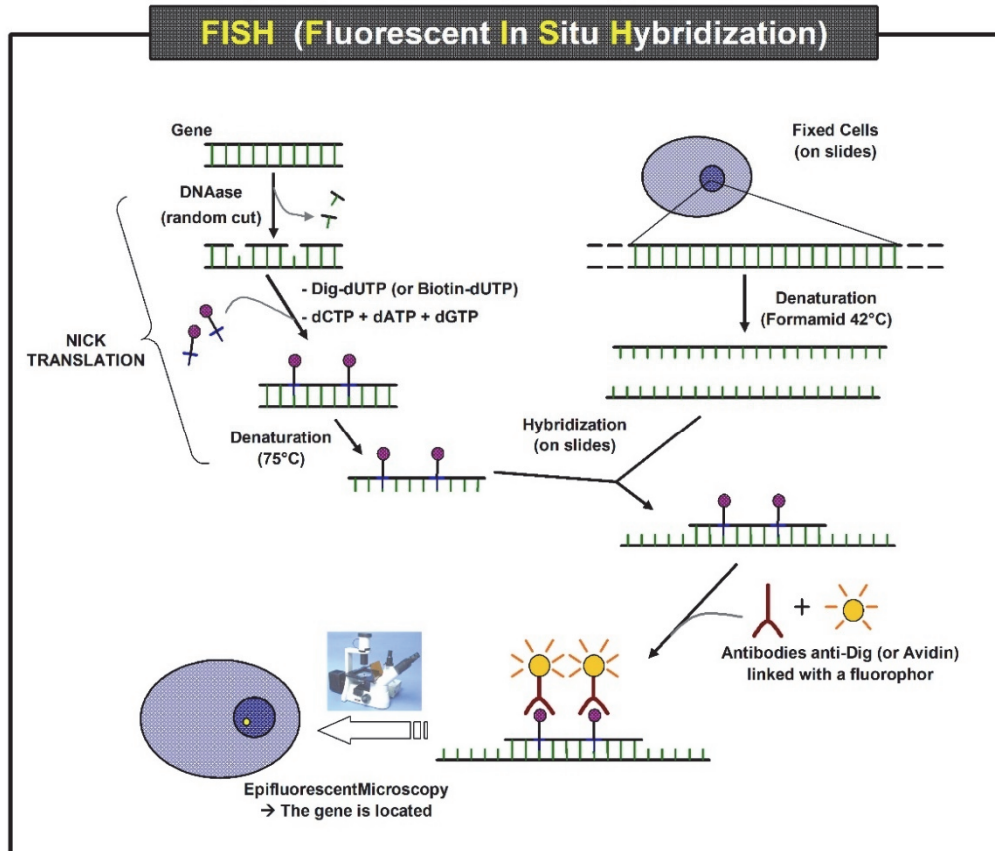


Figure 13 : Schématisation du principe de FISH

Faible signal ou aucun signal

Cause possible	Action
Pas de séquence cible disponible	Utiliser les contrôles appropriés
L'échantillon de cellules ou de tissu n'est pas correctement fixé	Optimiser le temps de fixation et le fixateur utilisé ou ajouter une étape de post-fixation en suivant le « Protocole » du manuel du <u>ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit</u>
Le prétraitement à la chaleur, la protéolyse, la dénaturation, l'hybridation ou le lavage stringent ont été faits à une mauvaise température	Vérifier la température de tous vos instruments utilisés, en utilisant un thermomètre calibré
Le prétraitement protéolytique n'est pas effectué correctement	Optimiser le temps d'incubation de la pepsine, l'augmenter ou le diminuer si nécessaire
Evaporation de la sonde	Lors de l'utilisation d'un système d'hybridation, l'utilisation des bandes humides/réservoirs remplis d'eau est obligatoire. Lors de l'utilisation d'un four à hybridation, il faut utiliser une chambre humide. En outre, la lamelle doit être complètement scellée, par exemple avec du Fixogum, afin d'empêcher le séchage de l'échantillon lors de l'hybridation
Le tampon de lavage stringent a une concentration trop basse	Vérifier la concentration du tampon de lavage stringent
Anciennes solutions de déshydratation	Préparer des nouvelles solutions de déshydratation
Microscope à fluorescence mal réglé	Régler correctement

Signaux d'hybridation croisée ; bruit de fond

Cause possible	Action
Déparaffinage incomplet	Utiliser de nouvelles solutions ; vérifier le temps de déparaffinage
Prétraitement protéolytique trop important	Réduire le temps d'incubation de la pepsine
Volume de sonde par zone trop important	Réduire le volume de sonde par coupe/zone, distribuer la sonde en gouttelettes pour éviter la concentration locale
Les lames sont refroidies à température ambiante avant l'hybridation	Transférer les lames rapidement à 37 °C
Concentration du tampon de lavage stringent trop élevée	Vérifier la concentration du tampon de lavage stringent
Température de l'étape de lavage suivant l'hybridation trop basse	Vérifier la température et l'augmenter si nécessaire
Déshydratation des échantillons entre les différentes étapes d'incubation	Eviter la déshydratation en scellant les lames et en effectuant les étapes d'incubation dans un environnement humide

Morphologie tissulaire dégradée

Cause possible	Action
Les échantillons de cellules ou de tissus n'ont pas été fixés correctement	Optimiser le temps de fixation et le fixateur ou ajouter une étape de post-fixation en suivant le « Protocole » du manuel <u>ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit</u>
Le prétraitement protéolytique n'est pas effectué correctement	Optimiser le temps d'incubation de la pepsine, l'augmenter ou le diminuer si nécessaire
Séchage insuffisant avant l'application de la sonde	Prolonger le séchage à l'air

Exemples de facteurs influençant la technique de FISH associée leur résolution

2) Technique de droplet digitale PCR

1^{ère} étape : extraction de l'ADN

Après avoir gratté les lames blanches (souvent au nombre de 6 sur matériel biopsique), on place la coupe dans un tampon d'huile minérale, puis les échantillons sont placés 60°C pendant 10 min dans un bain sec. Le but étant de dégrader la paraffine pour n'avoir que les cellules et leur ADN dans la solution.

Ensuite, on ajoute un tampon de lyse dans la solution puis on place les échantillons dans un thermobloc pour les chauffer pendant 1h à 56°C. Cette étape sert à dégrader les cellules pour avoir uniquement les brins d'ADN en solution. On met un témoin négatif (où il n'y a pas de cellules) dans la solution. On rajoute 25 microns de protéinase K à la solution pour compléter la digestion et on laisse agir 1H minimum (voir toute la nuit pour une meilleure digestion) à 56°C. Une étape de Decrosslink en ajoutant un tampon de dénaturation dans les échantillons est réalisée et va permettre de rompre les liaisons de l'ADN covalentes avec les protéines restante.

Par la suite, on centrifuge les échantillons, et une fois le cycle fini, on obtient deux phases à la solution (le surnageant bleu contenant la paraffine et la phase transparente qui contient l'ADN), et l'on place l'ADN dans une cartouche pour l'automate IDEAL-32. Cet automate va homogénéiser la solution transparente et la mélanger à des billes magnétiques. Les aiguilles de l'automate sont aimantées, ce qui permet de fixer les billes aux aiguilles puis de les placées dans des solutions de lavage afin de purifier l'ADN pour l'analyse sans résidu de protéines. A la fin des rinçages, les billes magnétiques sont placées dans une solution pour que les brins d'ADN se détachent et soient en solution dans le tampon.

Enfin, sur le rac où l'on place les échantillons, le dernier sert de témoin négatif et on met alors de l'eau à la place de l'ADN.

Après extraction de l'ADN, ce dernier doit être calibrer pour déterminer si la concentration sera suffisante pour pouvoir réaliser la ddPCR (on pourra ensuite le diluer ou le concentrer).

En effet avec la ddPCR, nous réalisons le dénombrement des chambres positives et négatives, et pour cela la quantité d'ADN ne doit pas saturer l'ensemble des chambres, il faut donc obtenir une quantité d'environ 6ng d'ADN dans la prise d'essai. Cette quantification est réalisée par PCR quantitative.

2^{ème} étape : génération des gouttelettes grâce à un appareil : QX200™ droplet generator

La plaque est constituée de trois colonnes de huit puits. Dans la première colonne, nous devons déposer 70 µL d'huile spéciale pour créer l'émulsion avec le mix aqueux. Puis dans la deuxième colonne, nous déposons 20 µL de mix et d'ADN. Un puit correspond à un patient. Nous introduisons la plaque dans l'appareil, qui va former les gouttelettes par émulsion. Elles vont, grâce à un micro-canal, se retrouver dans la troisième colonne de la plaque. Pour un volume total de 20 µL, il y a la formation d'environ 15 000 - 20 000 gouttelettes de 0,85 nL. A la fin de la formation, nous récoltons environ 40 µL, et nous les introduisons dans une nouvelle plaque PCR. Cette étape peut également être réalisée automatiquement grâce à un automate le « QX 200 AutoDG droplet digital PCR system » (BioRad).

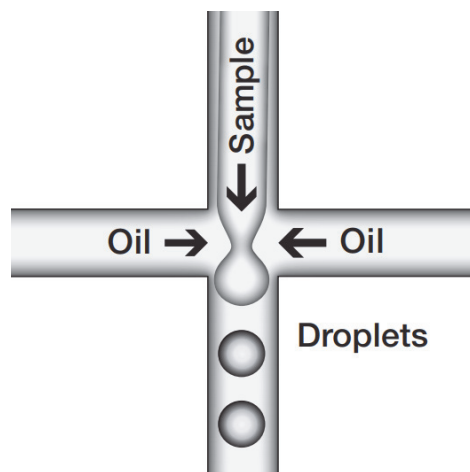


Schéma de formation des gouttelettes à l'aide du QX200™ droplet generator

Les contrôles inclus sont : SW48, H1650 et IB111. La lignée cellulaires SW48 provient d'une lignée de cancer du côlon. H1650 provient elle d'une lignée du cancer du poumon. Ces deux lignées permettent d'avoir deux témoins négatifs de la manipulation elles sont non-amplifiée *MDM2* (CNV = 2). Et enfin, la lignée IB111 est une lignée de liposarcome, qui sert de témoin positif CNV > 40. Des contrôles négatifs (sans ADN) sont aussi rajoutés systématiquement afin de déterminer la présence éventuelle de contaminant extérieur.

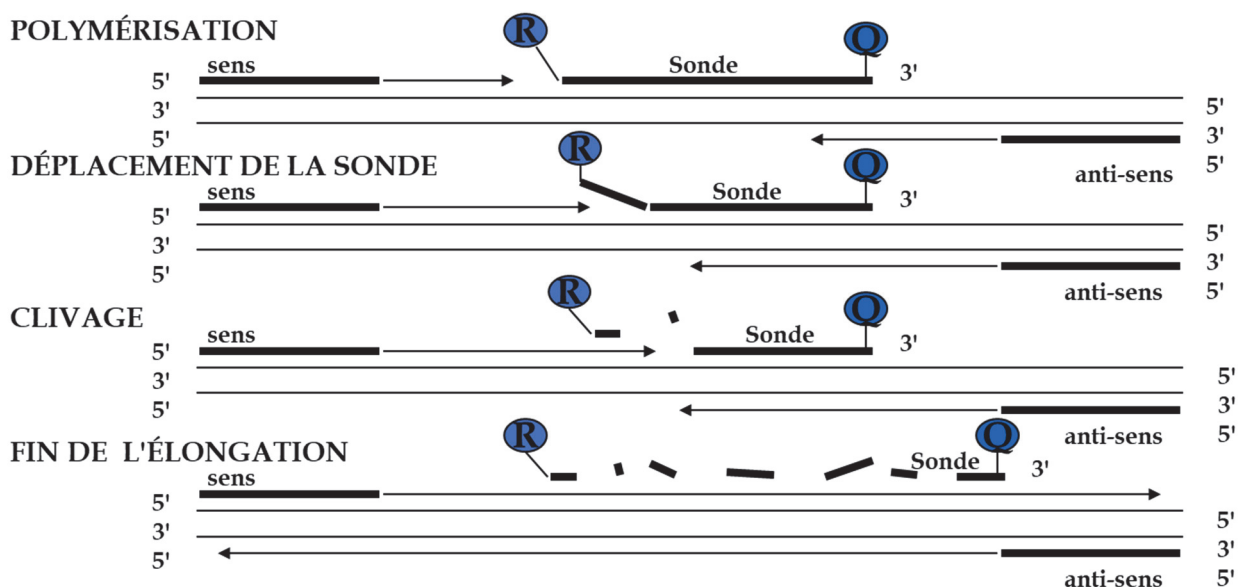
3^{ème} étape : réaction de QPCR en temps final

Lorsque la plaque est soudée, on la place sur la microplaque du thermocycleur et on lance le programme de PCR.

L'objectif étant d'amplifier spécifiquement une cible d'ADN. On va donc dans un premier temps, séparer les deux brins (dénaturation de l'ADN), pour que les amorces puissent se fixer. La Taq polymérase va elle se fixer sur l'amorce et synthétiser l'ADN jusqu'à un codon stop ou l'inactivation de l'enzyme.

La technologie Taqman est basée sur l'activité 3'-5'-exonucléasique de la Taq polymérase pour hydrolyser une sonde hybridée à sa séquence cible sur l'amplicon durant l'étape d'hybridation/extension de la PCR. Un fluorochrome émetteur (reporter) (ex. FAM : 6-carboxy- fluorocein) est fixé à l'extrémité 5' de la sonde d'hybridation et son émission est inhibée par un second fluorochrome suppresseur (quencher) présent à l'extrémité 3' (ex. TAMRA : 6-carboxy-tetramethyl-rhodamine). Lorsque stimulé, le fluorochrome émetteur transfère son énergie au fluorochrome suppresseur voisin par le principe FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer). Les valeurs de fluorescence sont enregistrées au cours de chaque cycle.

Ainsi, plus il y a de matrices à amplifier au départ de la réaction PCR, moins élevé sera le nombre de cycle requis pour atteindre un point où le signal d'émission de fluorescence sera statistiquement et significativement plus élevé que le bruit de fond.



Principe de la QPCR

4^{ème} étape : absorbance des gouttelettes

Pour finir, nous introduisons la plaque dans un automate de lecture nommé « QX200 Droplet Digital PCR System » (Bio-Rad). Dans cette étape, l'analyse de chaque échantillon se fait individuellement. L'automate va récupérer le contenu d'un puit, puis il va individualiser les gouttes afin de pouvoir les compter suivant leur fluorescence. La fluorescence est, mesurée selon deux canaux, FAM (*MDM2*) et HEX (*GAPDH*). Les gouttelettes positives, c'est-à-dire qui possèdent au moins une molécule d'ADN cible, présentent une forte fluorescence comparé aux gouttelettes négatives.

Le dénombrement des compartiments positifs et négatifs définit ainsi un signal numérique (ou digital) de type « tout ou rien » (0 ou 1) de type binaire, et l'estimation par la loi de Poisson permet de déterminer et de transformer les chambres positives en nombre de copies d'ADN présent dans chaque gouttelette.

$$\lambda = -\ln(1 - p) \quad \left. \begin{array}{l} \lambda = \text{nombre moyen de copie / compartiment} \\ p = \text{compartiment positif / compartiment total} \end{array} \right\}$$

5^{ème} étape : interprétation des résultats

Il faut d'abord vérifier qu'il n'y a pas eu de contamination lors de la manipulation, et pour cela on vérifie qu'il n'y a aucune émission de fluorescence dans la cupule du témoin négatif qui ne contient aucune molécule d'ADN.

Pour analyser les résultats, on utilise un logiciel qui se nomme QuantaSoft (Bio-Rad), qui va permettre de faire une analyse détaillée des résultats obtenus. Dans un premier temps nous devons vérifier que le nombre de gouttelettes générés est suffisant, à savoir qu'il dépasse les 9 000 gouttelettes. Si ce nombre n'est pas atteint, cela diminue la sensibilité de la technique. Nous devons aussi vérifier que la concentration du gène de référence (*GAPDH*) est supérieur à 10 copies/ μ LdPCR.

Par la suite, on sélectionne le nuage de gouttelettes positives (pour la cible et la référence), et le logiciel calcule la concentration de chacune des cibles.

Dernière étape, le logiciel calcule le ratio du nombre de copie des deux gènes (*MDM2/GAPDH*) pour chaque échantillon passé et exprime le résultat en CNV.

La valeur de CNV est calculée à partir du ration x le nombre d'allèles (2).

Les lignées contrôles SW48 et H1650 doivent avoir un CNV < 4 et la lignée IB111 > 40.

Les contrôles négatifs doivent être négatifs.

Parfois l'interprétation de ces résultats est difficile car elles sont proches de la valeur seuil déterminant si les séquences sont amplifiées ou non. Cependant, grâce à la loi de Poisson il est possible d'exprimer un résultat à 95% de confiance. Pour cela le logiciel donne la valeur de CNV et les valeurs de CNV_{max} et CNV_{min} qui encadrent le CNV à 95% de confiance. Cette information est importante pour l'analyse lorsque les valeurs sont proches de la valeur seuil ($CNV > 9$), nous confirmons alors le résultat à l'aide de la valeur de CNV_{min} qui doit être supérieur à 6.0. Cela signifie que le CNV est en moyenne > 9 avec une valeur minimale à 95% de confiance d'au moins 6.

Il existe encore des difficultés d'interprétation si les valeurs du CNV et CNV_{min} ne vont pas dans le même sens et que l'écart est trop important.

C'est dans cette situation que nous ne pouvons pas conclure au statut mutationnel du gène *MDM2* et qu'ainsi nous devons recourir à une autre méthode, telle que la FISH, pour mettre en évidence la présence ou non de l'amplification.

Les différentes étapes de la ddPCR et les mises au point

1) Préparation des échantillons et du mélange

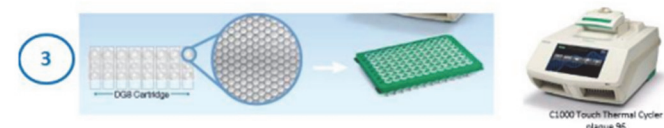


2) Génération des gouttelettes



3) Amplification PCR

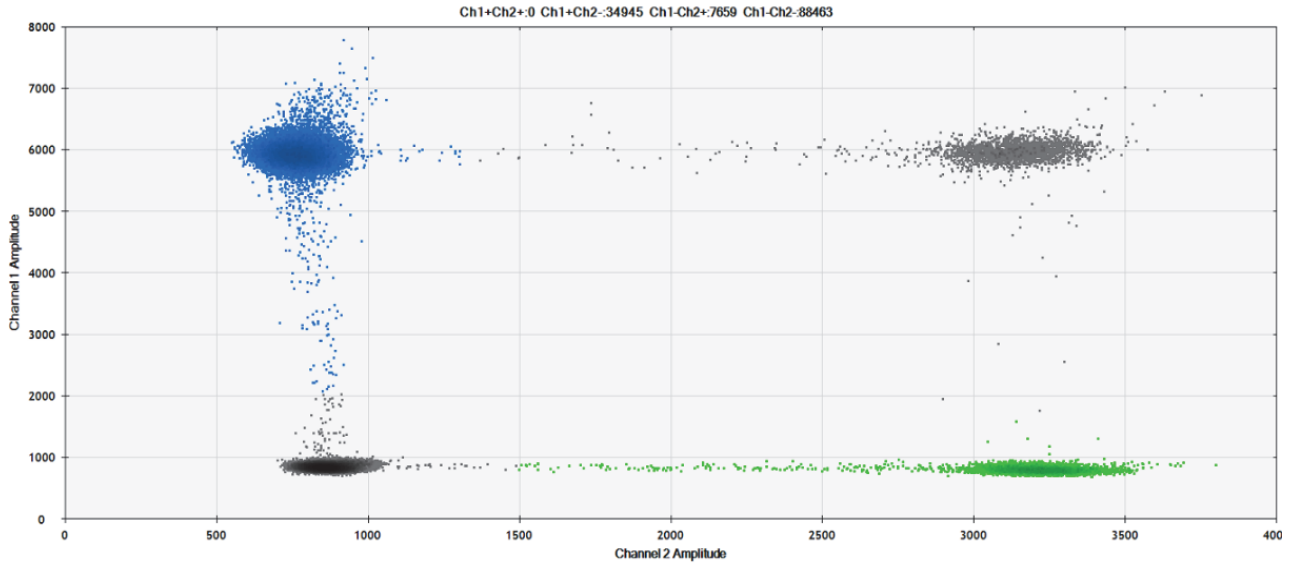
- **Choix de la concentration en amorces**
- **Choix de la température d'hybridation (T_m)**



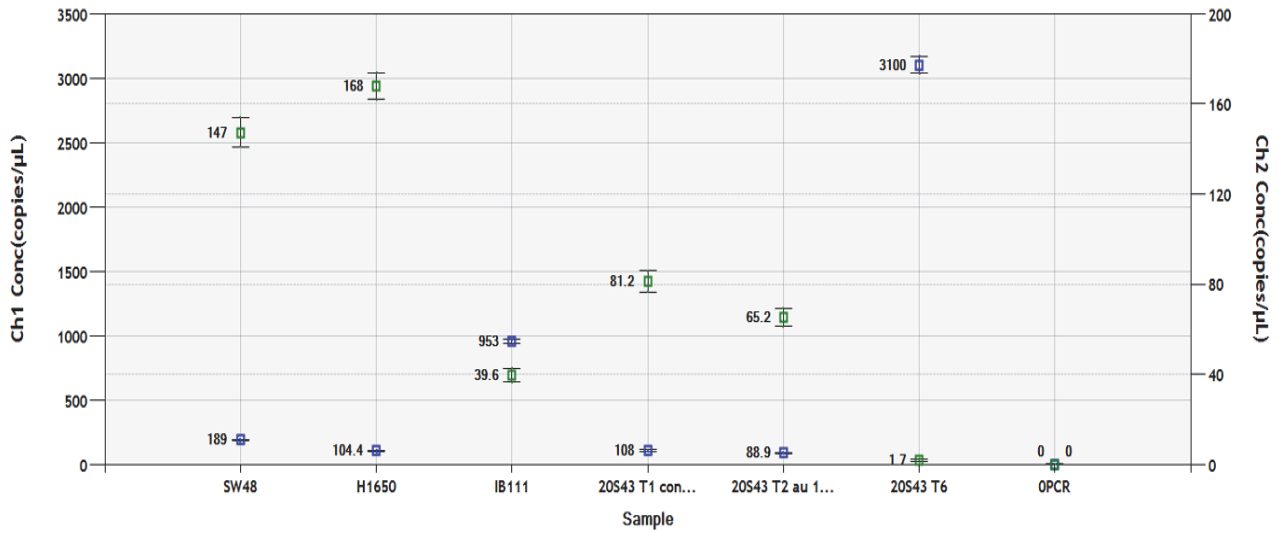
4) Lecture des gouttelettes (QX100 Droplet Reader)



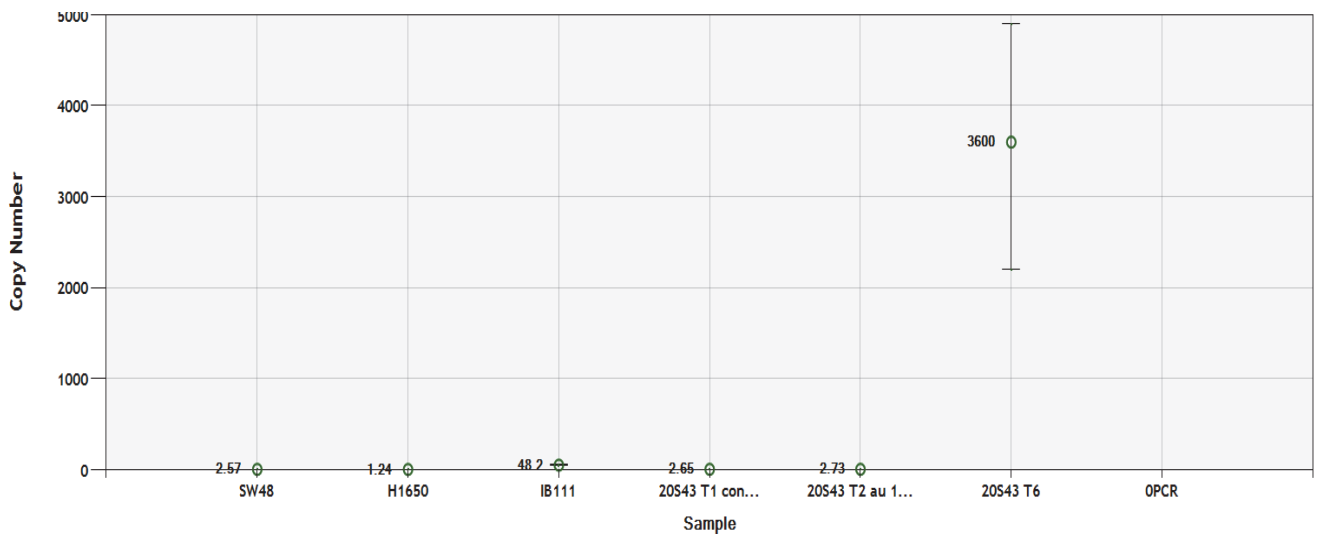
5) Analyse des résultats (Logiciel QuantaSoft®)



Exemple de graphique représentant l'amplification de *MDM2*



Exemple de graphique représentant la concentration de l'amplification de *MDM2*



Exemple de graphique représentant le CNV de l'amplification de *MDM2*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Choi JH, Ro JY. The 2020 WHO Classification of Tumors of Soft Tissue: Selected Changes and New Entities. *Adv Anat Pathol*. janv 2021;28(1):44-58.
2. Brisson M, Kashima T, Delaney D, Tirabosco R, Clarke A, Cro S, et al. MRI characteristics of lipoma and atypical lipomatous tumor/well-differentiated liposarcoma: retrospective comparison with histology and MDM2 gene amplification. *Skeletal Radiol*. mai 2013;42(5):635-47.
3. Yang L, Chen S, Luo P, Yan W, Wang C. Liposarcoma: Advances in Cellular and Molecular Genetics Alterations and Corresponding Clinical Treatment. *J Cancer [Internet]*. 2020 [cité 2 janv 2021];11(1):100-7.
4. Bird JE, Morse LJ, Feng L, Wang W-L, Lin PP, Moon BS, et al. Non-Radiographic Risk Factors Differentiating Atypical Lipomatous Tumors from Lipomas. *Front Oncol*. 2016;6:197.
5. Fisher SB, Baxter KJ, Staley CA, Fisher KE, Monson DK, Murray DR, et al. The General Surgeon's quandary: atypical lipomatous tumor vs lipoma, who needs a surgical oncologist? *J Am Coll Surg*. nov 2013;217(5):881-8.
6. Cassier PA, Kantor G, Bonvalot S, Lavergne E, Stoeckle E, Le Péchoux C, et al. Adjuvant radiotherapy for extremity and trunk wall atypical lipomatous tumor/well-differentiated LPS (ALT/WD-LPS): a French Sarcoma Group (GSF-GETO) study. *Ann Oncol [Internet]*. sept 2014 [cité 2 janv 2021];25(9):1854-60.
7. Mussi CE, Daolio P, Cimino M, Giardina F, De Sanctis R, Morengi E, et al. Atypical lipomatous tumors: should they be treated like other sarcoma or not? Surgical consideration from a bi-institutional experience. *Ann Surg Oncol*. déc 2014;21(13):4090-7.
8. Rauh J, Klein A, Baur-Melnyk A, Knösel T, Lindner L, Roeder F, et al. The role of surgical margins in atypical Lipomatous Tumours of the extremities. *BMC Musculoskelet Disord*. 17 mai 2018;19(1):152.
9. Presman B, Jauffred SF, Kornø MR, Petersen MM. Low Recurrence Rate and Risk of Distant Metastases following Marginal Surgery of Intramuscular Lipoma and Atypical Lipomatous Tumors of the Extremities and Trunk Wall. *Med Princ Pract Int J Kuwait Univ Health Sci Cent*. 2020;29(3):203-10.
10. Johnson CN, Ha AS, Chen E, Davidson D. Lipomatous Soft-tissue Tumors. *J Am Acad Orthop Surg*. 15 nov 2018;26(22):779-88.
11. Nishio J. Contributions of Cytogenetics and Molecular Cytogenetics to the Diagnosis of Adipocytic Tumors. *J Biomed Biotechnol [Internet]*. 2011 [cité 11 janv 2021];2011:1-9.
12. Creytens D. What's new in adipocytic neoplasia? *Virchows Arch Int J Pathol*. janv 2020;476(1):29-39.

13. Cheng Y, Ko A-T, Huang J-H, Lee B-C, Yang R-S, Liang C-W, et al. Developing a clinical scoring system to differentiate deep-seated atypical lipomatous tumor from lipoma of soft tissue. *Asian J Surg.* août 2019;42(8):832-8.
14. Ryan S, Visgauss J, Kerr D, Helmkamp J, Said N, Vinson E, et al. The Value of MRI in Distinguishing Subtypes of Lipomatous Extremity Tumors Needs Reassessment in the Era of MDM2 and CDK4 Testing. *Sarcoma.* 2018;2018:1901896.
15. Knebel C, Neumann J, Schwaiger BJ, Karampinos DC, Pfeiffer D, Specht K, et al. Differentiating atypical lipomatous tumors from lipomas with magnetic resonance imaging: a comparison with MDM2 gene amplification status. *BMC Cancer.* 3 avr 2019;19(1):309.
16. Zhang H, Erickson-Johnson M, Wang X, Oliveira JL, Nascimento AG, Sim FH, et al. Molecular testing for lipomatous tumors: critical analysis and test recommendations based on the analysis of 405 extremity-based tumors. *Am J Surg Pathol.* sept 2010;34(9):1304-11.
17. Thway K, Wang J, Swansbury J, Min T, Fisher C. Fluorescence In Situ Hybridization for MDM2 Amplification as a Routine Ancillary Diagnostic Tool for Suspected Well-Differentiated and Dedifferentiated Liposarcomas: Experience at a Tertiary Center. *Sarcoma.* 2015;2015:812089.
18. Clay MR, Martinez AP, Weiss SW, Edgar MA. MDM2 Amplification in Problematic Lipomatous Tumors: Analysis of FISH Testing Criteria. *Am J Surg Pathol.* oct 2015;39(10):1433-9.
19. Sasaki T, Ogose A, Kawashima H, Hotta T, Hatano H, Ariizumi T, et al. Real-time polymerase chain reaction analysis of MDM2 and CDK4 expression using total RNA from core-needle biopsies is useful for diagnosing adipocytic tumors. *BMC Cancer.* 26 juin 2014;14:468.
20. Weaver J, Rao P, Goldblum JR, Joyce MJ, Turner SL, Lazar AJ, et al. Can MDM2 analytical tests performed on core needle biopsy be relied upon to diagnose well-differentiated liposarcoma? *Mod Pathol [Internet].* oct 2010 [cité 2 janv 2021];23(10):1301-6.
21. Kimura H, Dobashi Y, Nojima T, Nakamura H, Yamamoto N, Tsuchiya H, et al. Utility of fluorescence in situ hybridization to detect MDM2 amplification in liposarcomas and their morphological mimics. *Int J Clin Exp Pathol.* 2013;6(7):1306-16.
22. Sbaraglia M, Bellan E, Dei Tos AP. The 2020 WHO Classification of Soft Tissue Tumours: news and perspectives. *Pathologica.* 3 nov 2020;
23. Billing V, Mertens F, Domanski HA, Rydholm A. Deep-seated ordinary and atypical lipomas: histopathology, cytogenetics, clinical features, and outcome in 215 tumours of the extremity and trunk wall. *J Bone Joint Surg Br.* juill 2008;90(7):929-33.

24. Thway K. Well-differentiated liposarcoma and dedifferentiated liposarcoma: An updated review. *Semin Diagn Pathol.* mars 2019;36(2):112-21.
25. Weaver J, Downs-Kelly E, Goldblum JR, Turner S, Kulkarni S, Tubbs RR, et al. Fluorescence in situ hybridization for MDM2 gene amplification as a diagnostic tool in lipomatous neoplasms. *Mod Pathol* [Internet]. août 2008 [cité 2 janv 2021];21(8):943-9.
26. Jebastin JAS, Perry KD, Chitale DA, Mott MP, Sanchez J, Fritchie KJ, et al. Atypical Lipomatous Tumor/Well-Differentiated Liposarcoma With Features Mimicking Spindle Cell Lipoma. *Int J Surg Pathol.* mai 2020;28(3):336-40.
27. Nishio J, Iwasaki H, Shibata T, Nabeshima K, Naito M. Duplication of chromosome segment 12q13-15 in a lipomatous tumor with minimal nuclear atypia: A case report. *Oncol Lett* [Internet]. avr 2016 [cité 12 janv 2021];11(4):2875-8.
28. Dreux N, Marty M, Chibon F, Vélasco V, Hostein I, Ranchère-Vince D, et al. Value and limitation of immunohistochemical expression of HMGA2 in mesenchymal tumors: about a series of 1052 cases. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc.* déc 2010;23(12):1657-66.
29. Mandahl N, Bartuma H, Magnusson L, Isaksson M, Macchia G, Mertens F. HMGA2 and MDM2 expression in lipomatous tumors with partial, low-level amplification of sequences from the long arm of chromosome 12. *Cancer Genet.* oct 2011;204(10):550-6.
30. Demicco EG. Molecular updates in adipocytic neoplasms☆. *Semin Diagn Pathol.* mars 2019;36(2):85-94.
31. Dei Tos AP, Doglioni C, Piccinin S, Sciot R, Furlanetto A, Boiocchi M, et al. Coordinated expression and amplification of the MDM2, CDK4, and HMGI-C genes in atypical lipomatous tumours. *J Pathol.* avr 2000;190(5):531-6.
32. Dal Cin P, Kools P, Sciot R, De Wever I, Van Damme B, Van de Ven W, et al. Cytogenetic and fluorescence in situ hybridization investigation of ring chromosomes characterizing a specific pathologic subgroup of adipose tissue tumors. *Cancer Genet Cytogenet.* 15 juill 1993;68(2):85-90.
33. Creytens D, van Gorp J, Ferdinande L, Speel E-J, Libbrecht L. Detection of MDM2/CDK4 amplification in lipomatous soft tissue tumors from formalin-fixed, paraffin-embedded tissue: comparison of multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) and fluorescence in situ hybridization (FISH). *Appl Immunohistochem Mol Morphol AIMM.* févr 2015;23(2):126-33.
34. Cho J, Lee SE, Choi Y-L. Diagnostic Value of MDM2 and DDIT3 Fluorescence In Situ Hybridization in Liposarcoma Classification: A Single-Institution Experience. *Korean J Pathol.* avr 2012;46(2):115-22.
35. Clay MR, Martinez AP, Weiss SW, Edgar MA. MDM2 and CDK4 Immunohistochemistry: Should It Be Used in Problematic Differentiated Lipomatous Tumors?: A New Perspective. *Am J Surg Pathol.* 2016;40(12):1647-52.

36. Sirvent N, Coindre J-M, Maire G, Hostein I, Keslair F, Guillou L, et al. Detection of MDM2-CDK4 amplification by fluorescence in situ hybridization in 200 paraffin-embedded tumor samples: utility in diagnosing adipocytic lesions and comparison with immunohistochemistry and real-time PCR. *Am J Surg Pathol.* oct 2007;31(10):1476-89.
37. Alshenawy H. Can HMGI-C be used as an aid with MDM2 and CDK4 to differentiate liposarcoma subtypes from their mimics? *J Cancer Res Clin Oncol.* juin 2013;139(6):1073-81.
38. Thway K, Flora R, Shah C, Olmos D, Fisher C. Diagnostic utility of p16, CDK4, and MDM2 as an immunohistochemical panel in distinguishing well-differentiated and dedifferentiated liposarcomas from other adipocytic tumors. *Am J Surg Pathol.* mars 2012;36(3):462-9.
39. Kammerer-Jacquet S-F, Thierry S, Cabillic F, Lannes M, Burtin F, Henno S, et al. Differential diagnosis of atypical lipomatous tumor/well-differentiated liposarcoma and dedifferentiated liposarcoma: utility of p16 in combination with MDM2 and CDK4 immunohistochemistry. *Hum Pathol.* janv 2017;59:34-40.
40. Ware PL, Snow AN, Gvalani M, Pettenati MJ, Qasem SA. MDM2 Copy Numbers in Well-Differentiated and Dedifferentiated Liposarcoma. *Am J Clin Pathol [Internet].* 1 mars 2014 [cité 2 janv 2021];141(3):334-41.
41. Kashima T, Halai D, Ye H, Hing SN, Delaney D, Pollock R, et al. Sensitivity of MDM2 amplification and unexpected multiple faint alpha 12 (alpha 12 satellite sequences) signals in atypical lipomatous tumor. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc.* oct 2012;25(10):1384-96.
42. Zhang G, Lanigan CP, Goldblum JR, Tubbs RR, Downs-Kelly E. Automated Bright-Field Dual-Color In Situ Hybridization for MDM2: Interobserver Reproducibility and Correlation With Fluorescence In Situ Hybridization in a Series of Soft Tissue Consults. *Arch Pathol Lab Med [Internet].* 1 oct 2016 [cité 2 janv 2021];140(10):1111-5.
43. Denis JA, Nectoux J, Lamy P-J, Rouillac Le Sciellour C, Guermouche H, Alary A-S, et al. Development of digital PCR molecular tests for clinical practice: principles, practical implementation and recommendations. *Ann Biol Clin (Paris).* 1 oct 2018;76(5):505-23.
44. Denis JA, Perrier A, Nectoux J, Lamy P-J, Alary A-S, Sarafan-Vasseur N, et al. [Development of molecular analysis by digital PCR for clinical practice: positioning, current applications and perspectives]. *Ann Biol Clin (Paris).* 1 déc 2019;77(6):619-37.
45. Iwasaki H, Ishiguro M, Nishio J, Aoki M, Yokoyama R, Yokoyama K, et al. Extensive lipoma-like changes of myxoid liposarcoma: morphologic, immunohistochemical, and molecular cytogenetic analyses. *Virchows Arch Int J Pathol.* avr 2015;466(4):453-64.

46. Nakanishi H, Araki N, Joyama S, Higuchi C, Mano M, Ishiguro S, et al. Myxoid liposarcoma with adipocytic maturation: detection of TLS/CHOP fusion gene transcript. *Diagn Mol Pathol Am J Surg Pathol Part B*. juin 2004;13(2):92-6.
47. Hemminger JA, Iwenofu OH. NY-ESO-1 is a sensitive and specific immunohistochemical marker for myxoid and round cell liposarcomas among related mesenchymal myxoid neoplasms. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc*. sept 2013;26(9):1204-10.
48. Hemminger JA, Ewart Toland A, Scharschmidt TJ, Mayerson JL, Kraybill WG, Guttridge DC, et al. The cancer-testis antigen NY-ESO-1 is highly expressed in myxoid and round cell subset of liposarcomas. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc*. févr 2013;26(2):282-8.
49. Jungbluth AA, Chen YT, Stockert E, Busam KJ, Kolb D, Iversen K, et al. Immunohistochemical analysis of NY-ESO-1 antigen expression in normal and malignant human tissues. *Int J Cancer*. 15 juin 2001;92(6):856-60.
50. Pollack SM, Jungbluth AA, Hoch BL, Farrar EA, Bleakley M, Schneider DJ, et al. NY-ESO-1 is a ubiquitous immunotherapeutic target antigen for patients with myxoid/round cell liposarcoma. *Cancer*. 15 sept 2012;118(18):4564-70.

ABREVIATIONS

CNV	Copy Number Variation
ddPCR	droplet digital Polymerase Chain Reaction
FISH	Fluorescent in situ Hybridization
FNCLCC	Fédération Nationale des Centres de lutte contre le Cancer
HMGA2	High-mobility group AT-hook 2
HES	Hémato Eosine Safran
IHC	Immunohistochimie
MDM2	Murine Double Minute 2
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
TAA	Tumeur Adipeuse Atypique (ALT : atypical lipomatous tumor)
RREPS	Réseau de Référence en Pathologie des Sarcomes

SERMENT D'HIPPOCRATE

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 ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou 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 seront 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.

RESUME

INTRODUCTION : Les tumeurs adipeuses sont les plus fréquentes des tumeurs des tissus mous chez l'adulte. Elles comportent des tumeurs bénignes : les lipomes et des tumeurs malignes : les liposarcomes. Le terme de tumeur adipeuse atypique (ALT) est utilisé pour les liposarcomes bien différenciés (de bas grade) des membres. Le diagnostic préopératoire repose sur une microbiopsie percutanée radioguidée qui constitue le gold standard à ce jour avec étude histologique et recherche d'amplification du gène *MDM2* qui caractérise les tumeurs adipeuses atypiques, représentant l'objectif de notre étude.

MATERIEL ET METHODES : Nous avons réalisé une étude rétrospective dans le service d'Anatomie pathologique du CHU de la Timone portant sur 107 prélèvements micro-biopsiques scanno-guidées de tumeurs adipeuses bien différenciées de l'adulte localisées aux membres réalisées entre 2010 et 2018. Dans tous les cas la recherche d'amplification du gène *MDM2* par Fluorescent In Situ Hybridization (FISH) a été réalisée. Le diagnostic final a été porté sur la pièce d'exérèse. Pour la totalité des cas de liposarcomes ainsi que pour 22 lipomes la recherche d'amplification du gène *MDM2* a été réalisée sur la biopsie et sur la pièce d'exérèse par deux techniques différentes : FISH et digital droplet PCR (ddPCR).

RESULTATS : 24 diagnostics de tumeurs adipeuses atypiques ont été faits en préopératoire. 1 cas de liposarcome myxoïde avec territoires bien différenciés adipeux majoritaires et 4 autres ALT ont été diagnostiquées sur pièce opératoire uniquement en raison des aspects histologiques et grâce à la répétition des examens moléculaires. La sensibilité de la FISH sur microbiopsie est de 86%. Celle de la ddPCR de 56% sur microbiopsie et de 86% pour les pièces opératoires. L'hétérogénéité tumorale et le faible niveau d'amplification du gène *MDM2* dans les ALT sont en grande partie responsables des discordances observées entre le diagnostic préopératoire et définitif.

CONCLUSION : Nous avons conclu à une bonne performance de la microbiopsie scanno-guidée pour le diagnostic préopératoire des tumeurs adipeuses atypiques lorsque l'analyse moléculaire est couplée à l'histologie. La FISH apparaît plus sensible que la ddPCR pour la détection de l'amplification du gène *MDM2* sur microbiopsie. Cependant la ddPCR est capable de mettre en évidence l'amplification même en présence d'une polysomie. Il est important de remettre en question le diagnostic réalisé sur microbiopsie si des arguments cliniques ou histologiques « atypiques » sont mis en évidence sur la pièce d'exérèse. Dans ces cas il ne faut pas hésiter à renouveler les techniques moléculaires. Enfin, il ne faut pas méconnaître un éventuel liposarcome myxoïde « avec territoires adipeux bien différenciés extensifs » grâce à la confrontation anatomo-clinique.

MOTS-CLES : microbiopsie - gène *MDM2* - ALT - liposarcome bien différencié - FISH - ddPCR