

**UNIVERSITÉ TOULOUSE III – PAUL SABATIER**  
**FACULTÉS DE MÉDECINE**

---

ANNÉE 2017

2017 TOU3 1631

**THÈSE**

**POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE**  
**MÉDECINE SPÉCIALISÉE CLINIQUE**

Présentée et soutenue publiquement

par

**Anne-Charlotte BISSAINTHE-GRELLIER**

le 16 octobre 2017

**PREVALENCE ET IMPACT PRONOSTIQUE DES MUTATIONS IDH1 ET  
IDH2 DANS LES CHONDROSARCOMES**

**ETUDE A PROPOS DE 139 PATIENTS ATTEINTS DE TUMEURS  
CARTILAGINEUSES**

Directrice de thèse : Madame le Professeur Anne GOMEZ-BROUCHET

**JURY**

Madame le Professeur Laurence LAMANT

Président

Madame le Professeur Anne GOMEZ-BROUCHET

Assesseur

Monsieur le Professeur Pierre BROUSSET

Assesseur

Monsieur le Professeur Paul BONNEVIALLE

Assesseur

Madame le Docteur Sophie LE GUELLEC

Suppléant

**TABLEAU du PERSONNEL HU**  
**des Facultés de Médecine de l'Université Paul Sabatier**  
**au 1<sup>er</sup> septembre 2016**

**Professeurs Honoraires**

Doyen Honoraire	M. ROUGE Daniel	Professeur Honoraire	M. BAZEX Jacques
Doyen Honoraire	M. LAZORTHE Yves	Professeur Honoraire	M. VIRENQUE Christian
Doyen Honoraire	M. CHAP Hugues	Professeur Honoraire	M. CARLES Pierre
Doyen Honoraire	M. GUIRAUD-CHAUMEIL Bernard	Professeur Honoraire	M. BONAFÉ Jean-Louis
Doyen Honoraire	M. PUEL Pierre	Professeur Honoraire	M. VAYSSE Philippe
Professeur Honoraire	M. ESCHAPASSE Henri	Professeur Honoraire	M. ESQUERRE J.P.
Professeur Honoraire	M. GEDEON André	Professeur Honoraire	M. GUITARD Jacques
Professeur Honoraire	M. PASQUIE M.	Professeur Honoraire	M. LAZORTHE Franck
Professeur Honoraire	M. RIBAUT Louis	Professeur Honoraire	M. ROQUE-LATRILLE Christian
Professeur Honoraire	M. ARLET Jacques	Professeur Honoraire	M. CERENE Alain
Professeur Honoraire	M. RIBET André	Professeur Honoraire	M. FOURNIAL Gérard
Professeur Honoraire	M. MONROZIES M.	Professeur Honoraire	M. HOFF Jean
Professeur Honoraire	M. DALOUS Antoine	Professeur Honoraire	M. REME Jean-Michel
Professeur Honoraire	M. DUPRE M.	Professeur Honoraire	M. FAUVEL Jean-Marie
Professeur Honoraire	M. FABRE Jean	Professeur Honoraire	M. FREXINOS Jacques
Professeur Honoraire	M. DUCOS Jean	Professeur Honoraire	M. CARRIERE Jean-Paul
Professeur Honoraire	M. LACOMME Yves	Professeur Honoraire	M. MANSAT Michel
Professeur Honoraire	M. COTONAT Jean	Professeur Honoraire	M. BARRET André
Professeur Honoraire	M. DAVID Jean-Frédéric	Professeur Honoraire	M. ROLLAND
Professeur Honoraire	Mme DIDIER Jacqueline	Professeur Honoraire	M. THOUVENOT Jean-Paul
Professeur Honoraire	Mme LARENG Marie-Blanche	Professeur Honoraire	M. CAHUZAC Jean-Philippe
Professeur Honoraire	M. BERNADET	Professeur Honoraire	M. DELSOL Georges
Professeur Honoraire	M. REGNIER Claude	Professeur Honoraire	M. ABBAL Michel
Professeur Honoraire	M. COMBELLES	Professeur Honoraire	M. DURAND Dominique
Professeur Honoraire	M. REGIS Henri	Professeur Honoraire	M. DALY-SCHVEITZER Nicolas
Professeur Honoraire	M. ARBUS Louis	Professeur Honoraire	M. RAILHAC
Professeur Honoraire	M. PUJOL Michel	Professeur Honoraire	M. POURRAT Jacques
Professeur Honoraire	M. ROCHICCIOLI Pierre	Professeur Honoraire	M. QUERLEU Denis
Professeur Honoraire	M. RUMEAU Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. ARNE Jean-Louis
Professeur Honoraire	M. BESOMBES Jean-Paul	Professeur Honoraire	M. ESCOURROU Jean
Professeur Honoraire	M. SUC Jean-Michel	Professeur Honoraire	M. FOURTANIER Gilles
Professeur Honoraire	M. VALDIGUIE Pierre	Professeur Honoraire	M. LAGARRIGUE Jacques
Professeur Honoraire	M. BOUNHOURE Jean-Paul	Professeur Honoraire	M. PESSEY Jean-Jacques
Professeur Honoraire	M. CARTON Michel	Professeur Honoraire	M. CHAVOIN Jean-Pierre
Professeur Honoraire	Mme PUEL Jacqueline	Professeur Honoraire	M. GERAUD Gilles
Professeur Honoraire	M. GOUZI Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. PLANTE Pierre
Professeur Honoraire associé	M. DUTAU Guy	Professeur Honoraire	M. MAGNAVAL Jean-François
Professeur Honoraire	M. PASCAL J.P.	Professeur Honoraire	M. MONROZIES Xavier
Professeur Honoraire	M. SALVADOR Michel	Professeur Honoraire	M. MOSCOVICI Jacques
Professeur Honoraire	M. BAYARD Francis	Professeur Honoraire	Mme GENESTAL Michèle
Professeur Honoraire	M. LEOPHONTE Paul	Professeur Honoraire	M. CHAMONTIN Bernard
Professeur Honoraire	M. FABIÉ Michel	Professeur Honoraire	M. SALVAYRE Robert
Professeur Honoraire	M. BARTHE Philippe	Professeur Honoraire	M. FRAYSSE Bernard
Professeur Honoraire	M. CABARROT Étienne	Professeur Honoraire	M. BUGAT Roland
Professeur Honoraire	M. DUFFAUT Michel	Professeur Honoraire	M. PRADERE Bernard
Professeur Honoraire	M. ESCAT Jean		
Professeur Honoraire	M. ESCANDE Michel		
Professeur Honoraire	M. PRIS Jacques		
Professeur Honoraire	M. CATHALA Bernard		

**Professeurs Émérites**

Professeur ALBAREDE Jean-Louis	Professeur CHAMONTIN Bernard
Professeur CONTÉ Jean	Professeur SALVAYRE Bernard
Professeur MURAT	Professeur MAGNAVAL Jean-François
Professeur MANELFE Claude	Professeur ROQUES-LATRILLE Christian
Professeur LOUVET P.	Professeur MOSCOVICI Jacques
Professeur SARRAMON Jean-Pierre	Professeur Jacques LAGARRIGUE
Professeur CARATERO Claude	
Professeur GUIRAUD-CHAUMEIL Bernard	
Professeur COSTAGLIOLA Michel	
Professeur ADER Jean-Louis	
Professeur LAZORTHE Yves	
Professeur LARENG Louis	
Professeur JOFFRE Francis	
Professeur BONEU Bernard	
Professeur DABERNAT Henri	
Professeur BOCCALON Henri	
Professeur MAZIERES Bernard	
Professeur ARLET-SUAU Elisabeth	
Professeur SIMON Jacques	
Professeur FRAYSSE Bernard	
Professeur ARBUS Louis	

# FACULTE DE MEDECINE TOULOUSE-PURPAN

37 allées Jules Guesde - 31062 TOULOUSE Cedex

Doyen : D. CARRIE

P.U. - P.H. Classe Exceptionnelle et 1ère classe		P.U. - P.H. 2ème classe	
M. ADOUE Daniel (C.E)	Médecine Interne, Gériatrie	Mme BEYNE-RAUZY Odile	Médecine Interne
M. AMAR Jacques	Thérapeutique	M. BROUCHET Laurent	Chirurgie thoracique et cardio-vascul
M. ATTAL Michel (C.E)	Hématologie	M. BUREAU Christophe	Hépat-Gastro-Entéro
M. AVET-LOISEAU Hervé	Hématologie, transfusion	M. CALVAS Patrick	Génétique
M. BIRMES Philippe	Psychiatrie	M. CARRERE Nicolas	Chirurgie Générale
M. BLANCHER Antoine	Immunologie (option Biologique)	Mme CASPER Charlotte	Pédiatrie
M. BONNEVIALLE Paul	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie.	M. CHAIX Yves	Pédiatrie
M. BOSSAVY Jean-Pierre	Chirurgie Vasculaire	Mme CHARPENTIER Sandrine	Thérapeutique, méd. d'urgence, addict
M. BRASSAT David	Neurologie	M. COGNARD Christophe	Neuroradiologie
M. BROUSSET Pierre (C.E)	Anatomie pathologique	M. DE BOISSEZON Xavier	Médecine Physique et Réadapt Fonct.
M. CARRIE Didier (C.E)	Cardiologie	M. FOURNIE Bernard	Rhumatologie
M. CHAP Hugues (C.E)	Biochimie	M. FOURNIÉ Pierre	Ophthalmologie
M. CHAUVEAU Dominique	Néphrologie	M. GAME Xavier	Urologie
M. CHOLLET François (C.E)	Neurologie	M. GEERAERTS Thomas	Anesthésiologie et réanimation
M. CLANET Michel (C.E)	Neurologie	M. LAROCHE Michel	Rhumatologie
M. DAHAN Marcel (C.E)	Chirurgie Thoracique et Cardiaque	M. LAUWERS Frédéric	Anatomie
M. DEGUINE Olivier	Oto-rhino-laryngologie	M. LEOBON Bertrand	Chirurgie Thoracique et Cardiaque
M. DUCOMMUN Bernard	Cancérologie	M. LOPEZ Raphael	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
M. FERRIERES Jean	Epidémiologie, Santé Publique	M. MARX Mathieu	Oto-rhino-laryngologie
M. FOURCADE Olivier	Anesthésiologie	M. MAS Emmanuel	Pédiatrie
M. IZOPET Jacques (C.E)	Bactériologie-Virologie	M. OLIVOT Jean-Marc	Neurologie
Mme LAMANT Laurence	Anatomie Pathologique	M. PARANT Olivier	Gynécologie Obstétrique
M. LANG Thierry (C.E)	Biostatistiques et Informatique Médicale	M. PATHAK Atul	Pharmacologie
M. LANGIN Dominique	Nutrition	M. PAYRASTRE Bernard	Hématologie
M. LAUQUE Dominique (C.E)	Médecine Interne	M. PERON Jean-Marie	Hépat-Gastro-Entérologie
M. LIBLAU Roland (C.E)	Immunologie	M. PORTIER Guillaume	Chirurgie Digestive
M. MALAVAUD Bernard	Urologie	M. RONCALLI Jérôme	Cardiologie
M. MANSAT Pierre	Chirurgie Orthopédique	Mme SAVAGNER Frédéric	Biochimie et biologie moléculaire
M. MARCHOU Bruno	Maladies Infectieuses	Mme SELVES Janick	Anatomie et cytologie pathologiques
M. MAZIERES Julien	Pneumologie	M. SOL Jean-Christophe	Neurochirurgie
M. MOLINIER Laurent	Epidémiologie, Santé Publique		
M. MONTASTRUC Jean-Louis (C.E)	Pharmacologie		
Mme MOYAL Elisabeth	Cancérologie		
Mme NOURHASHEMI Fatemeh (C.E)	Gériatrie		
M. OLIVES Jean-Pierre (C.E)	Pédiatrie		
M. OSWALD Eric	Bactériologie-Virologie		
M. PARIENTE Jérémie	Neurologie		
M. PARINAUD Jean	Biol. Du Dévelop. et de la Reprod.		
M. PAUL Carle	Dermatologie		
M. PAYOUX Pierre	Biophysique		
M. PERRET Bertrand (C.E)	Biochimie		
M. RASCOL Olivier	Pharmacologie		
M. RECHER Christian	Hématologie		
M. RISCHMANN Pascal (C.E)	Urologie		
M. RIVIERE Daniel (C.E)	Physiologie		
M. SALES DE GAUZY Jérôme	Chirurgie Infantile		
M. SALLES Jean-Pierre	Pédiatrie		
M. SANS Nicolas	Radiologie		
M. SERRE Guy (C.E)	Biologie Cellulaire		
M. TELMON Norbert	Médecine Légale		
M. VINEL Jean-Pierre (C.E)	Hépat-Gastro-Entérologie		
<b>P.U. Médecine générale</b>		<b>P.U. Médecine générale</b>	
M. OUSTRIC Stéphane	Médecine Générale	M. MESTHÉ Pierre	Médecine Générale
		<b>P.A Médecine générale</b>	
		POUTRAIN Jean-Christophe	Médecine Générale

**P.U. - P.H.**

**Classe Exceptionnelle et 1ère classe**

M. ACAR Philippe	Pédiatrie
M. ALRIC Laurent	Médecine Interne
Mme ANDRIEU Sandrine	Epidémiologie
M. ARLET Philippe (C.E)	Médecine Interne
M. ARNAL Jean-François	Physiologie
Mme BERRY Isabelle (C.E)	Biophysique
M. BOUTAULT Franck (C.E)	Chirurgie Maxillo-Faciale et Stomatologie
M. BUJAN Louis (C. E)	Urologie-Andrologie
Mme BURA-RIVIERE Alessandra	Médecine Vasculaire
M. BUSCAIL Louis	Hépto-Gastro-Entérologie
M. CANTAGREL Alain (C.E)	Rhumatologie
M. CARON Philippe (C.E)	Endocrinologie
M. CHIRON Philippe (C.E)	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie
M. CONSTANTIN Arnaud	Rhumatologie
M. COURBON Frédéric	Biophysique
Mme COURTADE SAIDI Monique	Histologie Embryologie
M. DAMBRIN Camille	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire
M. DELABESSE Eric	Hématologie
Mme DELISLE Marie-Bernadette (C.E)	Anatomie Pathologie
M. DELORD Jean-Pierre	Cancérologie
M. DIDIER Alain (C.E)	Pneumologie
M. ELBAZ Meyer	Cardiologie
M. GALINIER Michel	Cardiologie
M. GLOCK Yves (C.E)	Chirurgie Cardio-Vasculaire
M. GOURDY Pierre	Endocrinologie
M. GRAND Alain (C.E)	Epidémiologie. Eco. de la Santé et Prévention
M. GROLLEAU RAOUX Jean-Louis	Chirurgie plastique
Mme GUIMBAUD Rosine	Cancérologie
Mme HANAIRE Hélène (C.E)	Endocrinologie
M. KAMAR Nassim	Néphrologie
M. LARRUE Vincent	Neurologie
M. LAURENT Guy (C.E)	Hématologie
M. LEVADE Thierry (C.E)	Biochimie
M. MALECAZE François (C.E)	Ophtalmologie
M. MARQUE Philippe	Médecine Physique et Réadaptation
Mme MARTY Nicole	Bactériologie Virologie Hygiène
M. MASSIP Patrice (C.E)	Maladies Infectieuses
M. MINVILLE Vincent	Anesthésiologie Réanimation
M. RAYNAUD Jean-Philippe (C.E)	Psychiatrie Infantile
M. RITZ Patrick	Nutrition
M. ROCHE Henri (C.E)	Cancérologie
M. ROLLAND Yves	Gériatrie
M. ROUGE Daniel (C.E)	Médecine Légale
M. ROUSSEAU Hervé (C.E)	Radiologie
M. SAILLER Laurent	Médecine Interne
M. SCHMITT Laurent (C.E)	Psychiatrie
M. SENARD Jean-Michel	Pharmacologie
M. SERRANO Elie (C.E)	Oto-rhino-laryngologie
M. SOULAT Jean-Marc	Médecine du Travail
M. SOULIE Michel (C.E)	Urologie
M. SUC Bertrand	Chirurgie Digestive
Mme TAUBER Marie-Thérèse (C.E)	Pédiatrie
Mme URO-COSTE Emmanuelle	Anatomie Pathologique
M. VAYSSIERE Christophe	Gynécologie Obstétrique
M. VELLAS Bruno (C.E)	Gériatrie

**P.U. - P.H.**

**2ème classe**

M. ACCADBLED Franck	Chirurgie Infantile
M. ARBUS Christophe	Psychiatrie
M. BERRY Antoine	Parasitologie
M. BONNEVILLE Fabrice	Radiologie
M. BOUNES Vincent	Médecine d'urgence
Mme BOURNET Barbara	Gastro-entérologie
M. CHAUFOUR Xavier	Chirurgie Vasculaire
M. CHAYNES Patrick	Anatomie
M. DECRAMER Stéphane	Pédiatrie
M. DELOBEL Pierre	Maladies Infectieuses
Mme DULY-BOUHANICK Béatrice	Thérapeutique
M. FRANCHITTO Nicolas	Addictologie
M. GALINIER Philippe	Chirurgie Infantile
M. GARRIDO-STÖWHAS Ignacio	Chirurgie Plastique
Mme GOMEZ-BROUCHET Anne-Muriel	Anatomie Pathologique
M. HUYGHE Eric	Urologie
M. LAFFOSSE Jean-Michel	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie
Mme LAPRIE Anne	Radiothérapie
M. LEGUEVAQUE Pierre	Chirurgie Générale et Gynécologique
M. MARCHEIX Bertrand	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
M. MAURY Jean-Philippe	Cardiologie
Mme MAZEREEUW Juliette	Dermatologie
M. MEYER Nicolas	Dermatologie
M. MUSCARI Fabrice	Chirurgie Digestive
M. OTAL Philippe	Radiologie
M. ROUX Franck-Emmanuel	Neurochirurgie
Mme SOTO-MARTIN Maria-Eugénia	Gériatrie et biologie du vieillissement
M. TACK Ivan	Physiologie
M. VERGEZ Sébastien	Oto-rhino-laryngologie
M. YSEBAERT Loic	Hématologie

**M.C.U. - P.H.**

M. APOIL Pol Andre	Immunologie
Mme ARNAUD Catherine	Epidémiologie
M. BIETH Eric	Génétique
Mme BONGARD Vanina	Epidémiologie
Mme CASPAR BAUGUIL Sylvie	Nutrition
Mme CASSAING Sophie	Parasitologie
M. CAVAIGNAC Etienne	Chirurgie orthopédique et traumatologie
Mme CONCINA Dominique	Anesthésie-Réanimation
M. CONGY Nicolas	Immunologie
Mme COURBON Christine	Pharmacologie
Mme DAMASE Christine	Pharmacologie
Mme de GLISEZENSKY Isabelle	Physiologie
Mme DE MAS Véronique	Hématologie
Mme DELMAS Catherine	Bactériologie Virologie Hygiène
M. DUBOIS Damien	Bactériologie Virologie Hygiène
M. DUPUI Philippe	Physiologie
M. FAGUER Stanislas	Néphrologie
Mme FILLAUX Judith	Parasitologie
M. GANTET Pierre	Biophysique
Mme GENNERO Isabelle	Biochimie
Mme GENOUX Annelise	Biochimie et biologie moléculaire
M. HAMDJ Safouane	Biochimie
Mme HITZEL Anne	Biophysique
M. IRIART Xavier	Parasitologie et mycologie
Mme JONCA Nathalie	Biologie cellulaire
M. KIRZIN Sylvain	Chirurgie générale
Mme LAPEYRE-MESTRE Maryse	Pharmacologie
M. LAURENT Camille	Anatomie Pathologique
M. LHERMUSIER Thibault	Cardiologie
Mme MONTASTIER Emilie	Nutrition
M. MONTOYA Richard	Physiologie
Mme MOREAU Marion	Physiologie
Mme NOGUEIRA M.L.	Biologie Cellulaire
M. PILLARD Fabien	Physiologie
Mme PUISSANT Bénédicte	Immunologie
Mme RAYMOND Stéphanie	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme SABOURDY Frédérique	Biochimie
Mme SAUNE Karine	Bactériologie Virologie
M. SILVA SIFONTES Stein	Réanimation
M. SOLER Vincent	Ophthalmologie
M. TAFANI Jean-André	Biophysique
M. TREINER Emmanuel	Immunologie
Mme TREMOLLIERES Florence	Biologie du développement
Mme VAYSSE Charlotte	Cancérologie

**M.C.U. - P.H.**

Mme ABRAVANEL Florence	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme BASSET Céline	Cytologie et histologie
M. CMBUS Jean-Pierre	Hématologie
Mme CANTERO Anne-Valérie	Biochimie
Mme CARFAGNA Luana	Pédiatrie
Mme CASSOL Emmanuelle	Biophysique
Mme CAUSSE Elizabeth	Biochimie
M. CHAPUT Benoit	Chirurgie plastique et des brûlés
M. CHASSAING Nicolas	Génétique
Mme CLAVE Danielle	Bactériologie Virologie
M. CLAVEL Cyril	Biologie Cellulaire
Mme COLLIN Laetitia	Cytologie
Mme COLOMBAT Magali	Anatomie et cytologie pathologiques
M. CORRE Jill	Hématologie
M. DE BONNECAZE Guillaume	Anatomie
M. DEDOUIT Fabrice	Médecine Légale
M. DELPLA Pierre-André	Médecine Légale
M. DESPAS Fabien	Pharmacologie
M. EDOUARD Thomas	Pédiatrie
Mme ESQUIROL Yolande	Médecine du travail
Mme EVRARD Solène	Histologie, embryologie et cytologie
Mme GALINIER Anne	Nutrition
Mme GARDETTE Virginie	Epidémiologie
M. GASQ David	Physiologie
Mme GRARE Marion	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme GUILBEAU-FRUGIER Céline	Anatomie Pathologique
Mme GUYONNET Sophie	Nutrition
M. HERIN Fabrice	Médecine et santé au travail
Mme INGUENEAU Cécile	Biochimie
M. LAIREZ Olivier	Biophysique et médecine nucléaire
M. LEANDRI Roger	Biologie du dével. et de la reproduction
M. LEPAGE Benoit	Biostatistiques et Informatique médicale
Mme MAUPAS Françoise	Biochimie
M. MIEUSSET Roger	Biologie du dével. et de la reproduction
Mme NASR Nathalie	Neurologie
Mme PERIQUET Brigitte	Nutrition
Mme PRADDAUDE Françoise	Physiologie
M. RIMAILHO Jacques	Anatomie et Chirurgie Générale
M. RONGIERES Michel	Anatomie - Chirurgie orthopédique
Mme SOMMET Agnès	Pharmacologie
Mme VALLET Marion	Physiologie
M. VERGEZ François	Hématologie
Mme VEZZOSI Delphine	Endocrinologie

**M.C.U. Médecine générale**

M. BRILLAC Thierry

**M.C.U. Médecine générale**

M. BISMUTH Michel	Médecine Générale
M. BISMUTH Serge	Médecine Générale
Mme ROUGE-BUGAT Marie-Eve	Médecine Générale
Mme ESCOURROU Brigitte	Médecine Générale

Maîtres de Conférences Associés de Médecine Générale

Dr ABITTEBOUL Yves  
 Dr CHICOULAA Bruno  
 Dr IRI-DELAHAYE Motoko  
 Dr FREYENS Anne

Dr BOYER Pierre  
 Dr ANE Serge  
 Dr BIREBENT Jordan

## REMERCIEMENTS

---

**A Madame le Professeur Laurence LAMANT**

Présidente du jury

Professeur des Universités Praticien Hospitalier

Anatomie Pathologique et Histologie-Cytologie

Tu nous fais le très grand honneur de présider ce jury de thèse.

Je te remercie pour ton enseignement tout au long de mon internat. J'admire l'étendue de tes connaissances et l'ensemble de tes qualités professionnelles.

Sois assurée de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

**A Madame le Professeur Anne GOMEZ-BROUCHET**

Directrice de thèse

Professeur des Universités Praticien Hospitalier

Anatomie Pathologique et Histologie-Cytologie

Je te remercie de m'avoir confié ce travail et de m'avoir soutenue tout au long de sa réalisation (pas toujours évidente !).

J'admire tes compétences diagnostiques et scientifiques et ta capacité à entreprendre de multiples projets. J'aime ton accessibilité et ton dynamisme.

Je te suis reconnaissante de m'avoir fait confiance et suis heureuse d'avoir pu travailler avec toi.

Reçois l'expression de ma sincère gratitude et de mon profond respect.

**A Monsieur le Professeur Pierre BROUSSET**

Professeur des Universités Praticien Hospitalier

Anatomie Pathologique et Histologie-Cytologie

Vous nous faites l'honneur de juger ce travail et je vous en remercie.

Je vous remercie également de m'avoir fait profiter de votre enseignement et de votre expérience tout au long de mon internat. J'admire votre volonté de toujours faire de l'anatomopathologie une spécialité d'excellence.

Je vous suis également reconnaissante de m'avoir aidée dans mes projets de post-internat.

Soyez assuré de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.



**A Monsieur le Professeur Paul BONNEVIALLE**

Professeur des Universités Praticien Hospitalier

Chirurgie orthopédique

Vous nous faites l'honneur de siéger à ce jury de thèse.

Je n'ai pas eu le plaisir de travailler à vos côtés, mais je vous remercie d'apporter votre expertise et vos connaissances afin de juger ce travail

Soyez assuré de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

**A Madame le Docteur Sophie LE GUELLEC**

Praticien Hospitalier

Anatomie Pathologique et Histologie-Cytologie

Je suis très heureuse de te compter parmi les membres du jury et honorée que tu aies accepté de juger ce travail.

Je te remercie pour tout ce que tu m'as appris durant mon internat. J'admire tes connaissances, ton sens pédagogique, ton calme, ta gentillesse et ta grande disponibilité. Cela a été très agréable d'apprendre à tes côtés.

Sois assurée de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

**Aux personnes qui m'ont aidée à réaliser ce travail :**

L'équipe du CRB. Je vous remercie sincèrement pour tout ce que vous avez fait. Je sais que cela n'a pas toujours été facile. Merci pour votre présence et votre efficacité.

Merci à l'équipe de biologie moléculaire qui m'a aidée à réaliser mes manips et à interpréter les résultats dans un très court délai.

Je te remercie également David pour ton aide, ton investissement et ta disponibilité malgré ta charge de travail.

Merci Yvan pour ta grande gentillesse, ton implication dans ce travail, ta disponibilité et tes précieux conseils.

## **A l'ensemble du service d'anapath de l'IUC**

*Aux médecins* : Emmanuelle, Isabelle Rouquette, Philippe, Eliane, Véronique, Raphaëlle, Marie-Laure, Isabelle Duga, Janick, Marie, Béatrice, Florence, Jacqueline, Dominique, Monique, Solène, Céline, Chantal, Martine, Nada.

Je vous remercie pour votre enseignement et votre disponibilité. Je n'oublierai pas votre gentillesse et tous ces moments passés au microscope dans la bonne humeur avec de nombreux éclats de rire. Vous allez me manquer.

Un merci spécial à Camille, la plus alsacienne des toulousaines ! Merci pour tes conseils, ton humour et ta bienveillance. Si tu es nostalgique de l'Alsace tu es la bienvenue à la maison.

A Emilie chez qui j'allais pleurer toutes les 3 semaines en premier semestre en pensant avoir mal fait la macro ! Merci pour ta gentillesse et ton éternelle bonne humeur.

*Aux techniciens, secrétaires, ARC, et ingénieurs* : Cela a été un réel plaisir de travailler avec vous. Merci pour votre accueil, votre gentillesse et votre efficacité. Vous m'avez parfois beaucoup fait rire ! Une spéciale dédicace à l'équipe d'immuno que j'ai souvent embêtée avec des IHC toujours urgentes !! A François-Xavier, beaucoup de dérangement pour rien, vraiment désolée ! Nadia et Samira, vous me manquerez les filles, j'aimais bien faire une petite pause dans votre bureau.

*A mes co-internes et anciens co-internes :*

*Mes co-internes de la première heure :*

*Camille*, toujours présent pour répondre à mes questions. J'ai adoré les jeux de combat avec toi !

*Laure*, sexy wonder woman, merci de m'avoir relevée tant de fois au ski !

*Aurore*, passion commune : les boucles d'oreilles, par contre je n'avais jamais vu autant de stylos de ma vie !

*Et bien sûr ma Juju*, c'est la tempête !!! Beaucoup de rires, beaucoup de problèmes de tire-bouchon ! Heureuse de te ramener avec moi en Alsace, même si ce n'est que pour quelques jours.

Mon premier semestre avec vous a été génial, vous ne m'avez pas laissé le temps d'être nostalgique de l'Alsace (les bières après le travail me manquent !).

A mes co-internes qui ont suivi :

*Audrey*, merci de m'écouter râler sans jamais te plaindre, tu as toujours été notre petite maman,

*Sarah*, le stress fait tout ton charme !

*Gwendoline*, on continuera les cours de créole à distance,

*Claire I*, ta douceur me manquera,

*Romain*, mon guide, mon modèle ! Un réel plaisir de travailler avec toi. Je t'enverrai une photo de la Meinau,

*Maxime*, le mec le plus efficace du monde !

*Thibaut*, si le nord te manque tu pourras toujours passer à la maison !

*Fabrice*, tu as tué mes dents avec tes bonbons. Grâce à toi j'ai également trouvé quelqu'un qui râlait plus que moi !

*Sébastien*, Uiiii ?!!

*Quentin*, sé trop duw' de twavaillé, tchiiiip !

*Charlotte*, intelligente, jolie, adorable, what else ?

*Cécile*, la force tranquille, t'es au top,

*Claire R.*, toujours pleine d'énergie

*Alix, Lisa* : je n'aurais pas eu l'occasion de faire un semestre avec vous, mais je vous souhaite beaucoup de belles choses pour la suite,

*Justine*, zen et pétillante, joli mélange,

*Gabrielle*, consciencieuse et déterminée,

*Guillaume*, tu m'as appris plein de nouvelles expressions, merci !

*Anna, Margot*, ça n'aura été qu'un seul semestre mais je suis vraiment contente de l'avoir partagé avec vous, vous êtes vraiment cool !

*Anthony*, au plaisir de te recroiser dans le nord ☺

*Chloé*, on ne sera pas si loin quand tu seras en Suisse

*Anne*, on aura eu un peu la même vie ce semestre ! Bon courage pour la suite des préparatifs !

*Victor, Pierre*, ça a été un plaisir de faire votre connaissance, je ne vous souhaite que le meilleur, bonne continuation.

Merci à tous pour tous ces moments partagés.

**Aux autres services d'anapath qui m'ont accueillie**

*A l'équipe de Rodez* : Vous m'avez beaucoup gâtée.

*A l'équipe de Tarbes* : Je vous remercie pour votre accueil, vous avez tous été adorables.

*A l'équipe de Guadeloupe* : Ce fût un super semestre passé à vos côtés. J'ai enfin trouvé des gens qui rigolaient plus fort que moi ! On se reverra.

## **Aux amis**

### *Aux amis toulousains*

Seb (je suis triste de ne pas pouvoir te voir avant de partir), Elodie, Sophie, Fabien (on est large !!), Hugo, Charlotte, Marion, Guillaume, Elvire, Victor, Juliette, Sanaa, Catoch, Cyrielle, Grégoire, Marie, Florian, Alex, Anne, Thomas.

Merci pour ces cinq belles années passées à vos côtés, on se reverra à Toulouse, en Alsace ou ailleurs, lors d'une nouvelle escapade.

### *Aux amis alsaciens*

Jérem, Fred et Joël : Oui, oui, j'ai enfin terminé !

Aurélié Boch, Aurélié Bernhard, Aurélié Blech (beaucoup trop d'Aurélié !), Lise, Gégé, Christophe, Anne-Cath, Guillaume, Delphine.

Je vous remercie d'avoir toujours été là, j'ai hâte de vous retrouver.

### *Aux amis vendéens*

Vous faites un super groupe ! C'est toujours un plaisir de vous voir.

*A Morgane et Mylène, deux belles rencontres guadeloupéennes.*

## **A ma famille**

### *A mes parents*

Je ne serai pas là aujourd'hui sans vous. Vous m'avez toujours encouragée et soutenue quelques soient mes décisions et je vous en remercie.

Cette thèse est un peu la vôtre.

### *A mes sœurs et mes beaux-frères*

Je suis impatiente de vous revoir plus souvent ! C'est toujours la grosse rigolade avec vous ! On va pouvoir se refaire des week-ends entre filles (les sisters de sortie, les maris et les enfants à la maison !).

Je n'oublie pas mon neveu et mes nièces que j'adore. Je vais pouvoir vous voir grandir.

### *A ma belle-famille*

Je vous remercie de m'avoir aussi bien accueillie. Vous êtes formidables.

Merci Isabelle et Odile d'avoir fait le déplacement, cela me touche énormément. Et bien sûr, merci à toi Fleur pour ton aide (ça n'a pas dû être évident à lire !)

### *A toi, Jimmy*

Ma plus belle rencontre toulousaine. Merci pour tout ce que tu m'as apporté et pour ton soutien à toute épreuve. Tu as également dépensé beaucoup d'énergie pour cette thèse, du début en m'accompagnant chercher les blocs dans les sous-sols de Rangueil, à la fin avec mes stats ! Sans toi, je suis perdue.



## SOMMAIRE

REMERCIEMENTS .....	6
SOMMAIRE .....	17
ABREVIATIONS .....	19
FIGURES ET TABLEAUX.....	21
1 INTRODUCTION.....	23
1.1 Chondrosarcomes - Généralités.....	23
1.2 Tissu cartilagineux : rappels .....	23
1.3 Chondrosarcomes conventionnels .....	25
1.4 Chondrosarcomes secondaires.....	34
1.4.1 Chondrosarcomes secondaires centraux.....	34
1.4.1.1 Enchondromes solitaires .....	34
1.4.1.2 Enchondromes multiples.....	36
1.4.1.3 Traitement des enchondromes .....	38
1.4.2 Chondrosarcomes secondaires périphériques.....	39
1.4.2.1 Ostéochondromes solitaires .....	39
1.4.2.2 Ostéochondromes multiples.....	40
1.4.2.3 Mutation des gènes EXT dans les ostéochondromes.....	41
1.4.2.4 Transformation des ostéochondromes en chondrosarcomes.....	43
1.5 Chondrosarcomes dédifférenciés.....	44
1.6 Chondrosarcomes mésoenchymateux.....	46
1.7 Chondrosarcomes périostés .....	48
1.8 Chondrosarcomes à cellules claires .....	49
1.9 Chondrosarcomes et localisation anatomique .....	50
1.9.1 Pelvis, côtes/sternum, rachis .....	50
1.9.2 Région cranio-faciale .....	50
1.9.3 Extrémités distales : pieds et mains.....	50
1.10 Imagerie des tumeurs cartilagineuses .....	51
1.11 Mutations des gènes <i>IDH</i> dans les chondromes et chondrosarcomes.....	55
1.11.1 Rôle physiologique des gènes <i>IDH</i> .....	55
1.11.2 Mutations des gènes <i>IDH</i> et tumorigenèse.....	56
1.11.3 Les mutations <i>IDH1</i> et <i>IDH2</i> dans les tumeurs cartilagineuses.....	60
1.12 Diagnostics différentiels des chondrosarcomes .....	61
1.12.1 Fibromes chondromyxoides .....	61
1.12.2 Ostéosarcomes chondroblastiques.....	62
1.12.3 Chordomes .....	63
1.13 Traitement des chondrosarcomes.....	63
1.13.1 Traitement chirurgical .....	64
1.13.2 Radiothérapie .....	64
1.13.3 Chimiothérapie .....	64
1.13.4 Principales thérapeutiques émergentes.....	65
1.13.4.1 Thérapie ciblant la voie IDH.....	65

1.13.4.2	Thérapie ciblant la voie Hedgehog.....	65
1.13.4.3	Thérapie ciblant la voie Phosphoinositide 3-Kinase/AKT/Mammalian Target Of Rapamycin (PI3K-Akt-mTor) .....	66
1.13.4.4	Thérapie ciblant les agents anti-apoptotiques .....	66
1.13.4.5	Thérapie ciblant la voie Src .....	67
1.13.4.6	Immunothérapie .....	68
1.14	Objectifs de l'étude .....	70
2	MATERIELS ET METHODES .....	71
2.1	Recueil des données cliniques .....	71
2.2	Etude des mutations IDH.....	72
2.2.1	Extraction de l'ADN .....	72
2.2.1.1	Digestion-Déparaffinage.....	72
2.2.1.2	Extraction.....	73
2.3	Amplification par PCR en temps réel et HRM.....	73
2.3.1	PCR en temps réel.....	73
2.3.2	HRM.....	75
2.4	Pyroséquençage .....	76
2.4.1	Réaction d'immobilisation et préparation du MIX .....	76
2.4.2	Pyroséquençage.....	77
2.5	Analyses statistiques.....	80
3	RESULTATS .....	81
3.1	Données clinico-pathologiques.....	81
3.1.1	Données épidémiologiques de l'ensemble de la cohorte.....	81
3.1.2	Données épidémiologiques de la population chondrosarcomateuse .....	84
3.2	Analyse mutationnelle .....	85
3.2.1	Répartition des mutations <i>IDH</i> .....	86
3.2.2	Sous-type et grade histologique .....	87
3.2.3	Localisation tumorale .....	89
3.2.4	Récidives locales et/ou métastatiques .....	90
3.2.5	Etude de la survie de la population chondrosarcomateuse.....	93
4	DISCUSSION .....	97
5	CONCLUSION .....	104
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	105
	ANNEXE 1 .....	113
	ANNEXE 2 .....	114
	ABSTRACT .....	114

## ABREVIATIONS

**5-hmc** : 5-hydrométhylcytosine

**5-mc** : 5-méthylcytosine

**CC** : Chondrosarcome conventionnel

**CCC** : Chondrosarcome à cellules claires

**CM** : Chondrosarcome mésenchymateux

**CP** : Chondrosarcome périosté

**CS** : Chondrosarcome

**CSC** : Chondrosarcome secondaire central

**CSP** : Chondrosarcome secondaire périphérique

**Ct** : Cycle threshold

**D-2-H** : Delta-2-hydroxyglutarate

**FH** : Fumarate déshydrogénase

**HIF** : Hypoxia inductible factor

**HRM** : High Resolution Melting

**HSPG** : Héparane sulfate protéoglycane

**IDH** : Isocitrate déshydrogénase

**IHH** : Indian Hedgehog

**LAM** : Leucémie aiguë myéloïde

**MSC** : Cellules souches mésenchymateuses

**mTOR** : Mammalian Target Of Rapamycin

**NAD** : Nicotinamide adénine dinucléotide

**NADP** : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

**PCR** : Polymerase chain reaction

**PD-1** : Programmed cell death 1

**PDL-1** : Programmed death-ligand 1

**PI3K** : Phosphoinositide 3-Kinase

**PTH-rp** : Parathormone-related peptide

**SDH** : Succinate déshydrogénase

**TET** : Ten-eleven translocation

**VEGF** : Vascular endothelial growth factor

**WT** : Wild-type (sauvage)

**$\alpha$ -KG** : Alpha-cétoglutarate

## FIGURES ET TABLEAUX

### Liste des figures :

Figure 1. Cartilage sain .....	24
Figure 2. Photographie de section macroscopique de chondrosarcomes conventionnels.....	26
Figure 3. Critères architecturaux des chondrosarcomes .....	28
Figure 4. Chondrosarcome de grade 1 .....	29
Figure 5. Chondrosarcome de grade 2 .....	31
Figure 6. Chondrosarcome de grade 3 .....	33
Figure 7. Enchondrome solitaire .....	35
Figure 8. Enchondrome de maladie d'Ollier .....	37
Figure 9. Transformation d'un enchondrome en chondrosarcome .....	38
Figure 10. Coupes frontales d'ostéochondrome.....	40
Figure 11. Formation d'un ostéochondrome solitaire : rôle du gène EXT et mosaïcisme intra-tumoral.....	42
Figure 12. Ostéochondrome transformé .....	43
Figure 13. Chondrosarcome dédifférencié .....	45
Figure 14. Chondrosarcome méenchymateux .....	47
Figure 15. Enchondrome du fémur distal d'une femme de 42 ans .....	52
Figure 16. Chondrosarcome conventionnel du tibia d'un homme de 60 ans .....	53
Figure 17. TDM coupe transversale d'un chondrosarcome dédifférencié temporomandibulaire .....	54
Figure 18. Rôle physiologique des enzymes IDH.....	55
Figure 19 : Réactions chimiques catalysées par les enzymes IDH sauvages et mutées .....	57
Figure 20. Mutation IDH, formation de l'oncométabolite delta-2-hydroxyglurate.....	58
Figure 21. Voie de signalisation des protéines tyrosine- kinases Src dans la tumorigenèse...	68
Figure 22. Voie d'inhibition de l'immunité anti-tumorale .....	69
Figure 23. Courbe de fusion. Exemple de profil HRM IDH1 muté .....	76
Figure 24. Principe du pyroséquençage .....	78
Figure 25. Exemple de pyrogramme : analyse du gène IDH1 .....	79
Figure 26. Corrélation entre la localisation tumorale et le statut IDH des CS des os longs et des os plats.....	89
Figure 28. Survie sans récurrence des patients IDH muté et wild-type.....	93
Figure 29. Survie sans progression métastatique des patients IDH muté et wild-type.....	94
Figure 30. Survie globale des patients IDH muté et wild-type.....	96

**Liste des tableaux :**

Tableau 1. Principales mutations répertoriées d'IDH .....	57
Tableau 2. Caractéristiques clinico-histopathologiques de l'ensemble de la cohorte .....	823
Tableau 3. Caractéristiques clinico-histopathologiques corrélées au statut IDH .....	88
Tableau 4. Statut mutationnel des tumeurs primaires et de leurs récives.....	91
Tableau 5. Nombre de cas métastatiques IDH muté versus wild-type.....	92
Tableau 6. Caractéristiques clinico-histopathologiques des patients métastatiques .....	95

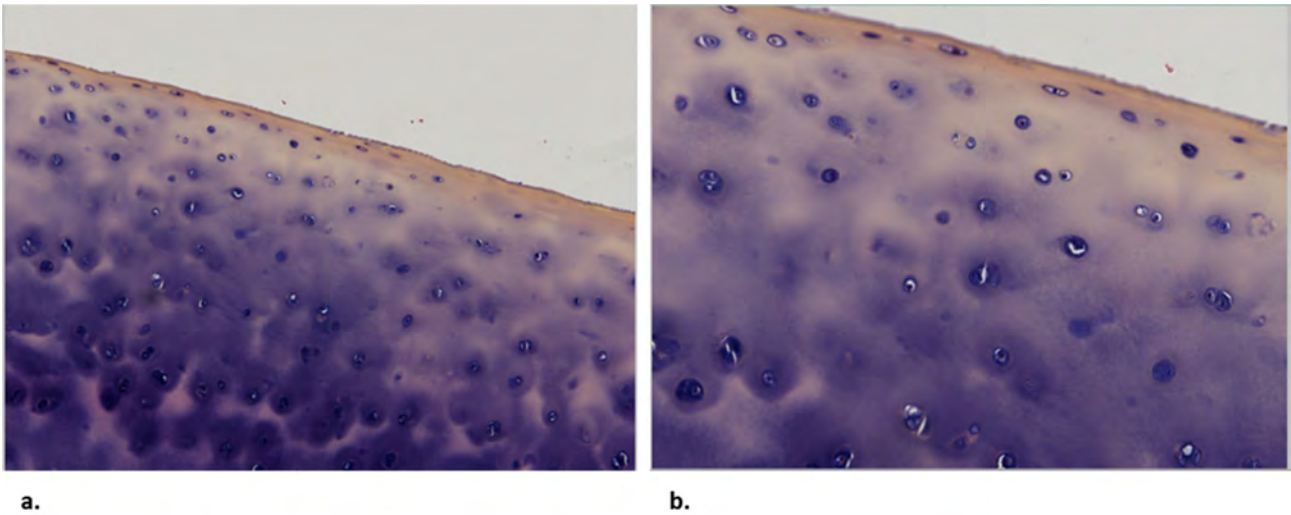
# 1 INTRODUCTION

## 1.1 Chondrosarcomes - Généralités

Les chondrosarcomes (CS) correspondent à un groupe hétérogène de tumeurs cartilagineuses malignes, touchant essentiellement les adultes âgés entre 50 et 70 ans<sup>1</sup>. Il s'agit des tumeurs osseuses les plus fréquentes (25%)<sup>2,3</sup> derrière l'ostéosarcome, avec une incidence annuelle de 1/200.000<sup>1</sup>. Les CS se développent à partir d'os sain (CS de novo) ou pathologique (CS secondaire) et les différents sous-types existants sont définis selon leur localisation et leurs critères histologiques. Ils se révèlent cliniquement par l'apparition d'une masse et/ou d'une douleur, et dans quelques cas par une fracture<sup>4</sup>. Le diagnostic est souvent suspecté radiologiquement par la visualisation d'une image lytique, lobulée parsemée de foyers de calcification ou d'ossification (calcifications ponctuées ou en pop-corn). La présence de critères radiologiques d'agressivité, telles qu'une résorption osseuse et une extension aux tissus mous (mieux appréciée sur l'IRM), aident au diagnostic<sup>4</sup>. Le traitement des CS est principalement chirurgical et le pronostic dépend, avant tout, du grade histologique de la tumeur et de la qualité de l'exérèse.

## 1.2 Tissu cartilagineux : rappels

Le cartilage est un tissu hypocellulaire possédant une matrice extracellulaire rigide et avasculaire. Les chondrocytes sont des cellules sphériques de petite taille, siégeant dans un espace lacunaire nommé chondroplaste (figure 1). La matrice extra cellulaire synthétisée par les chondrocytes est essentiellement composée d'acide hyaluronique et de protéoglycanes sulfatés maintenant une forte pression osmotique au sein de la matrice.



**Figure 1. Cartilage sain.**

**(a) et (b) Abondante matrice chondroïde renfermant des chondrocytes sphériques de petite taille. Hématoxyline-éosine (HE) Grossissement x 10 et x20**

Il existe trois types de tissus cartilagineux, les fibro-cartilages (disques inter-vertébraux, ménisques..) renfermant des fibres collagènes de type 1, les cartilages élastiques (oreille, nez, larynx...) contenant des fibres élastiques, et les cartilages hyalins, les plus répandus. Ces derniers interviennent dans la croissance des os longs durant l'enfance et l'adolescence. La croissance osseuse s'effectue par le biais d'une ossification enchondrale faisant suite à une prolifération chondrocytaire. Cette prolifération est principalement active sur le versant diaphysaire, avec des chondrocytes organisés en colonne (groupes isogéniques axiaux du cartilage sérié). Les chondrocytes augmentent par la suite de taille, formant une couche hypertrophique. Les chondrocytes hypertrophiques synthétisent de la phosphatase alcaline impliquée dans la minéralisation, avant d'entrer en apoptose. Les chondrocytes vides laissent alors place à des ostéoclastes, des capillaires sanguins et des cellules souches mésenchymateuses en provenance de la moelle osseuse. Ces dernières se différencient en ostéoblastes à l'origine de l'ossification.

Les chondrocytes hypertrophiques sécrètent également le VEGF (vascular endothelial growth factor) stimulant la néo-angiogenèse et la protéine indian hedgehog (IHH) qui agit sur les

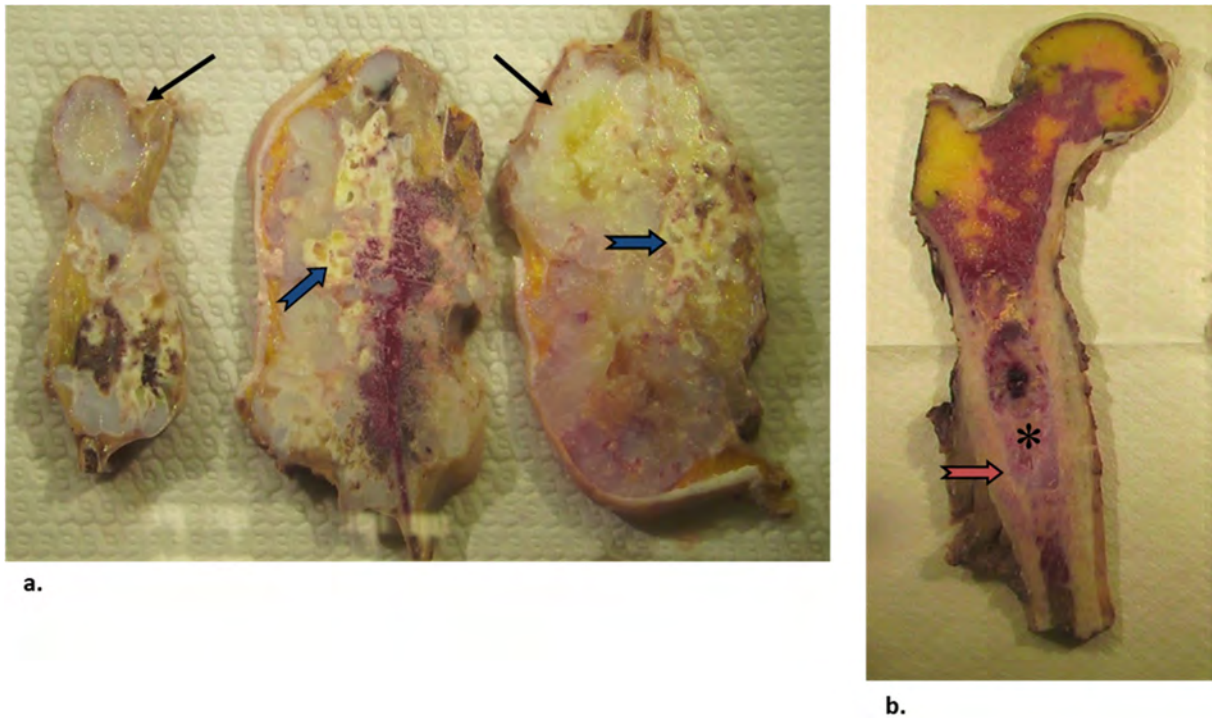


cellules ostéoprogénitrices en induisant leur différenciation en ostéoblastes. En rétro-action, l'IHH induit une sécrétion par les chondrocytes de PTH-rp (Parathormone-related peptide) qui stimule la prolifération chondrocytaire du cartilage sérié et inhibe sa différenciation en cartilage hypertrophique.

### **1.3 Chondrosarcomes conventionnels**

Les chondrosarcomes conventionnels, encore nommés chondrosarcomes primitifs centraux, représentent 85 % des CS<sup>2</sup>, avec une légère prédominance masculine (1,5-2 pour 1)<sup>4</sup>. Ils se localisent préférentiellement au niveau du pelvis, du fémur, de l'humérus et des côtes<sup>5,6</sup> et se développent au sein de l'os médullaire.

Macroscopiquement (figure 2), les chondrosarcomes conventionnels se présentent sous la forme de lésions lobulées de grande taille, mesurant souvent plus de 4 cm de grand axe<sup>4</sup>. Ils sont de couleur blanche et/ou bleutée, plus ou moins myxoïde, pouvant renfermer des remaniements nécrotiques ou kystiques.



**Figure 2. Photographie de section macroscopique de chondrosarcomes conventionnels.**  
 (a) Chondrosarcome costal en coupes transversales d'une patiente de 72 ans. Tumeur blanchâtre, d'architecture lobulée (flèches noires) avec des zones de calcification (flèches bleues) ; (b) Chondrosarcome fémoral en coupe sagittale d'une patiente de 46 ans. Localisation intra-médullaire de la tumeur (étoile) avec résorption endostéale (flèche).

Le diagnostic histologique des chondrosarcomes est basé sur des critères cytologiques et surtout architecturaux avec l'établissement d'un grading histopronostique selon O'Neal & Ackerman<sup>7</sup> sur une échelle de 1 à 3. Il s'y associe selon le grade des remaniements myxoïdes, nécrotiques ou kystiques.

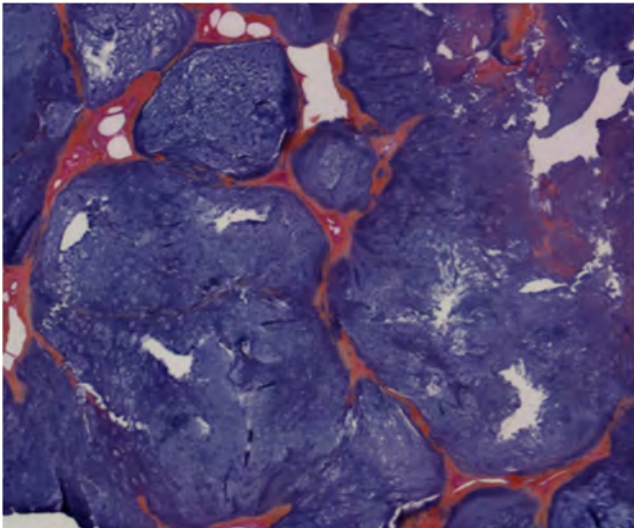
La principale difficulté est celle du diagnostic différentiel entre le chondrome et le chondrosarcome de grade 1, également nommé tumeur cartilagineuse atypique. Ces deux entités présentant le plus souvent des critères cytologiques identiques, les critères architecturaux apparaissent dans ce cas discriminants.

*Critères cytologiques :*

- Cellularité
- Atypies cytonucléaires (volume nucléaire augmenté, anisonucléose, densification chromatinienne, nucléoles, plurinucléation)
- Présence de mitoses

*Critères architecturaux (figure 3) :*

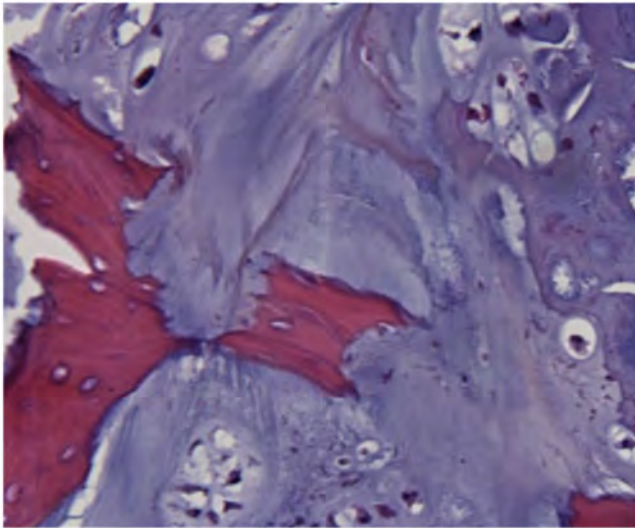
- Architecture en nappe ou lobulée
- Résorptions osseuses endo-médullaires avec englobement des travées résiduelles par la tumeur.
- Perméation, résorption et rupture de la corticale
- Extension aux parties molles.



a.



b.



c.

**Figure 3. Critères architecturaux des chondrosarcomes.**

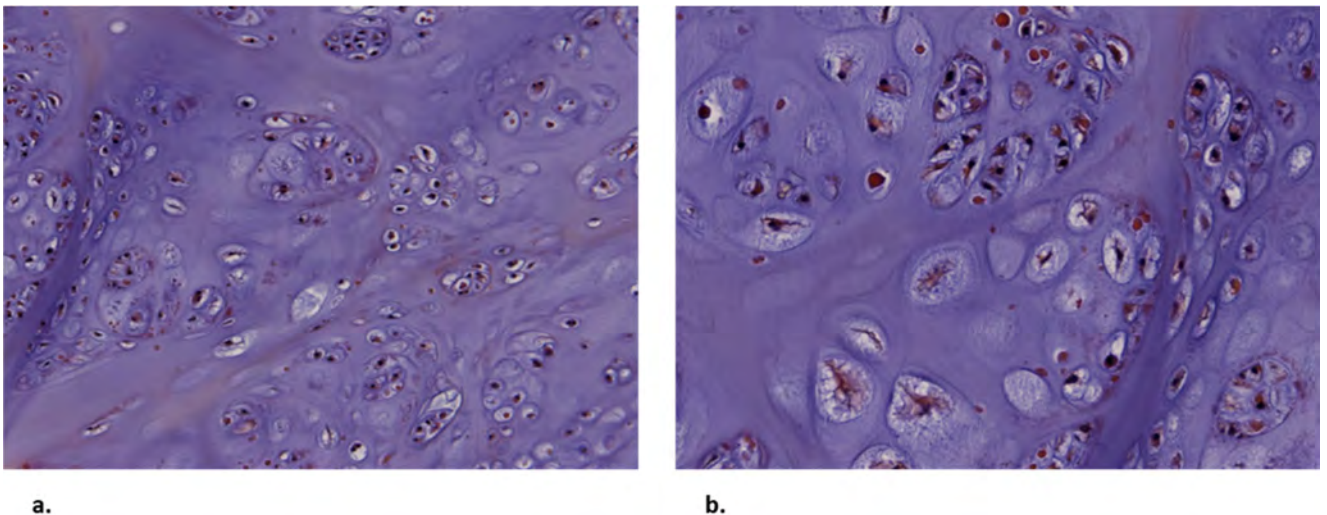
Coupes histologiques colorées à l'HE. (a) Tumeur chondroïde d'architecture lobulée. Lobules séparés par des travées fibreuses (grossissement x2,5). (b) Extension des lobules tumoraux au sein des tissus mous adjacents (flèches) (grossissement x10). (c) Résorption osseuse de travées médullaires (grossissement x10).

*Classification de O 'Neal & Ackerman :*

- Grade 1<sup>4,8</sup> (figure 4) : La tumeur, très bien différenciée, pose le problème du diagnostic différentiel avec le chondrome. La cellularité est cependant légèrement accrue par rapport à ce dernier.

Les chondrocytes sont de petite taille avec un noyau très densifié. Les cellules binucléées sont possibles, peu nombreuses et le stroma est essentiellement chondroïde.

De volumineuses calcifications sont présentes. Il n'existe pas d'activité mitotique.

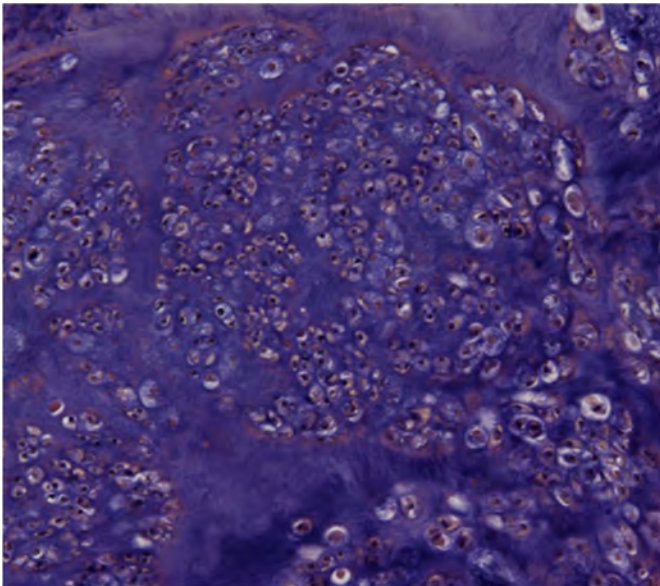


**Figure 4. Chondrosarcome de grade 1.**

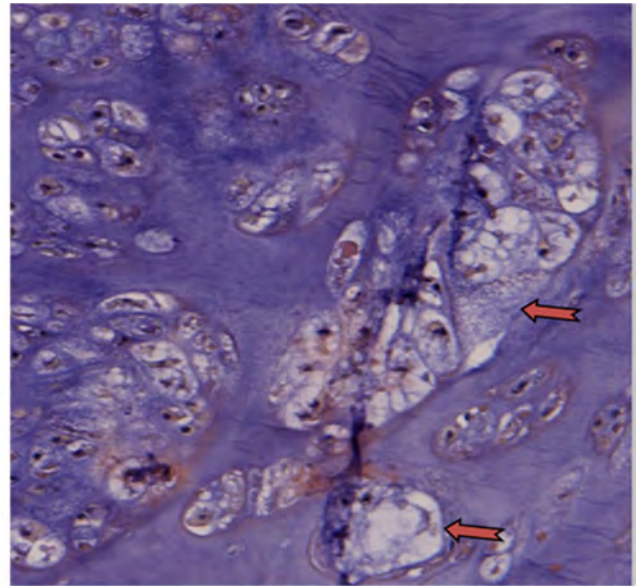
Coupe histologique colorée à l'HE. (a) et (b) Cellularité augmentée, cellules de plus grande taille avec des noyaux hyperchromatiques augmentés de volume. Stroma chondroïde. (grossissement x20 et x10).

- Grade 2<sup>4,9</sup> (figure 5) : La tumeur est de nature cartilagineuse et maligne.

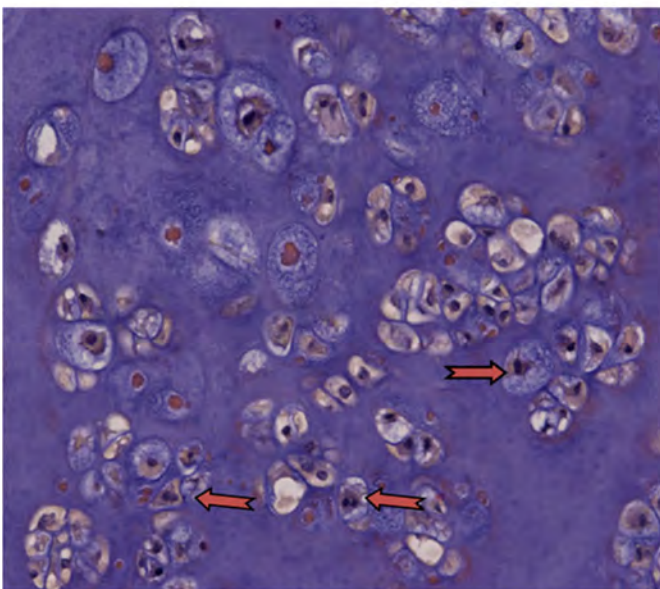
Elle apparaît plus cellulaire en périphérie des lobules. La matrice devient moins chondroïde et plus myxoïde. Les cellules présentent des atypies cytonucléaires plus marquées avec des noyaux augmentés de volume et hyperchromatiques. Les cellules bi ou multinucléées sont fréquentes et des mitoses peuvent éventuellement être visualisées. Des zones de nécrose peuvent, à ce stade, être observées. Les calcifications sont réduites.



a.



b.



c.

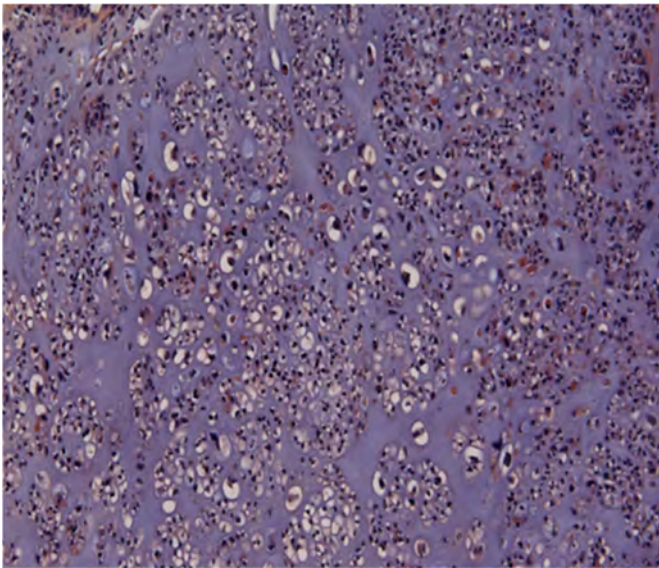
**Figure 5. Chondrosarcome de grade 2.**

(a) Majoration de la cellularité. (b) Apparition de zones myxoïdes (flèches). (c) Noyaux augmentés de volume, nombreuses binucléations (flèches). HE (grossissement x10 et x20)

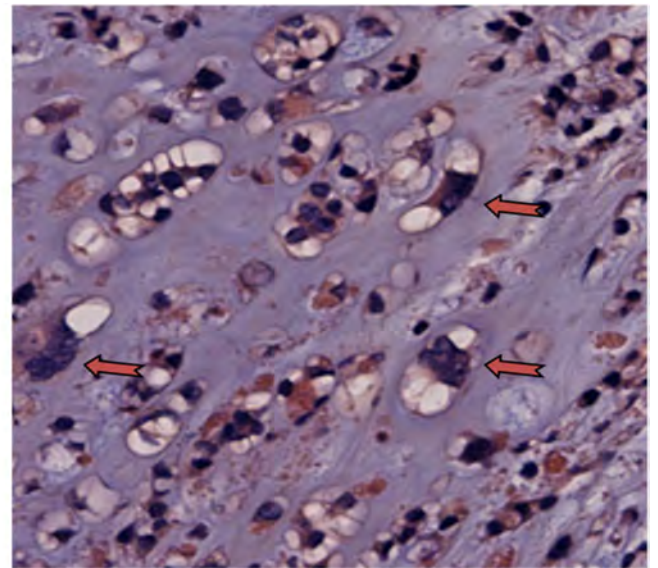
- Grade 3<sup>4,9</sup> (figure 6) : La tumeur est maligne avec une différenciation cartilagineuse parfois difficile à établir.

La tumeur est très cellulaire et pléomorphe avec des cellules parfois fusiformes. Les chondrocytes tumoraux sont irréguliers, de grande taille, et les mitoses sont facilement visibles. Les remaniements myxoides et nécrotiques sont marqués ; les calcifications sont rares ou absentes.

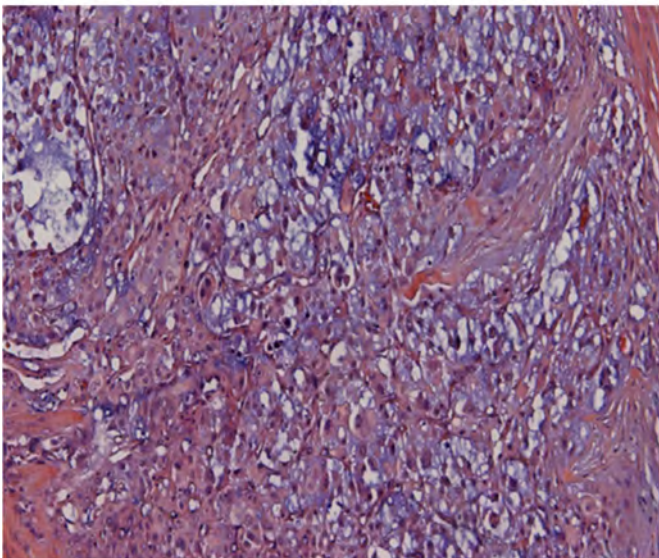




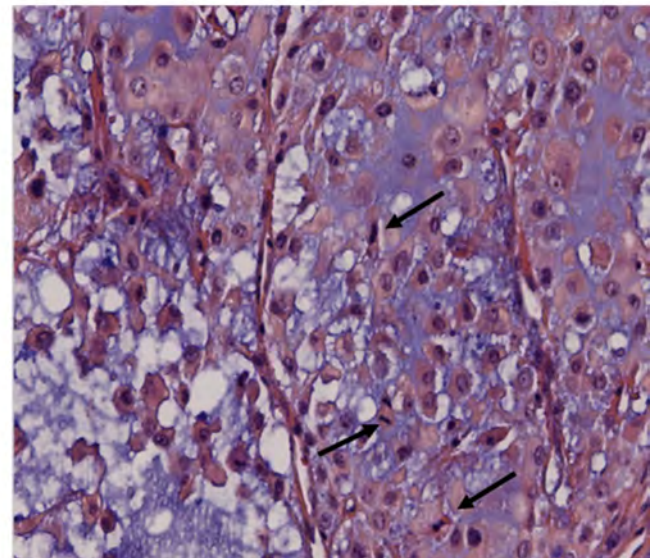
a.



b.



c.



d.

**Figure 6. Chondrosarcome de grade 3.**

**(a) Cellularité accrue. (b) Atypies cytonucléaires marquées avec de volumineux noyaux irréguliers, fréquentes multinucléations (flèches). (c) et (d) Abondant stroma myxoïde ; multiples mitoses (flèches). HE (grossissement x10 et x20)**

Le pronostic est corrélé au grade de la tumeur : 82 à 99 % de survie à 5 ans pour les grades 1, 63 à 92 % pour les grades 2 et 39 à 77% pour les grades 3<sup>10</sup>.

## 1.4 Chondrosarcomes secondaires

Deux sous-types de chondrosarcomes correspondent à cette définition : les CS secondaires centraux et les CS périphériques.

Ces CS se développent à partir de tumeurs cartilagineuses bénignes (enchondromes ou ostéenchondromes) et touchent des patients jeunes, aux alentours des 35 ans<sup>11,12</sup>. Les CS secondaires sur enchondrome se développent aux mêmes localisations que les chondrosarcomes conventionnels<sup>13</sup>. Le grading histopronostique de O'Neal & Ackerman est également appliqué.

### 1.4.1 Chondrosarcomes secondaires centraux

Ils se développent à partir d'enchondromes solitaires ou multiples. Il s'agit de tumeurs cartilagineuses bénignes, se développant aux dépens de l'os médullaire et se localisant principalement au niveau de la métaphyse des os longs, du pelvis et des extrémités distales<sup>14,15</sup>.

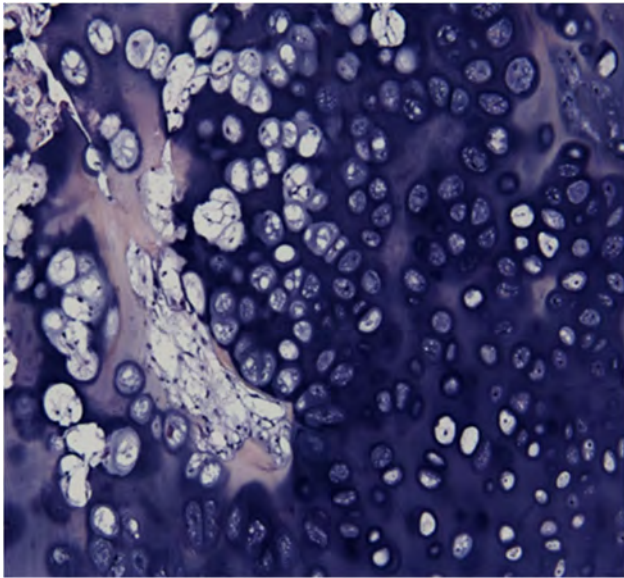
Souvent asymptomatiques<sup>14,16</sup>, ils peuvent se révéler par l'apparition d'une masse ou d'une fracture pathologique<sup>17</sup>.

#### 1.4.1.1 *Enchondromes solitaires*

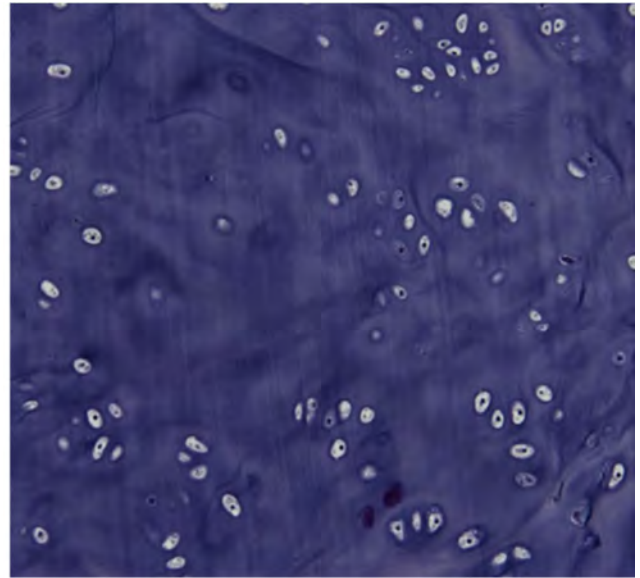
L'enchondrome solitaire représente 10 à 15% des tumeurs osseuses bénignes<sup>14,16,18</sup>.

Il correspond macroscopiquement à une lésion cartilagineuse bleutée, calcifiée, uni ou multilobulée<sup>14</sup>. Il s'agit, histologiquement (figure 7), d'une lésion hypocellulaire à la matrice cartilagineuse abondante. Les chondrocytes sont de petite taille, au noyau régulier, non nucléolé et logent dans un espace lacunaire. Il n'est retrouvé ni atypie, ni mitose<sup>14,16</sup>.

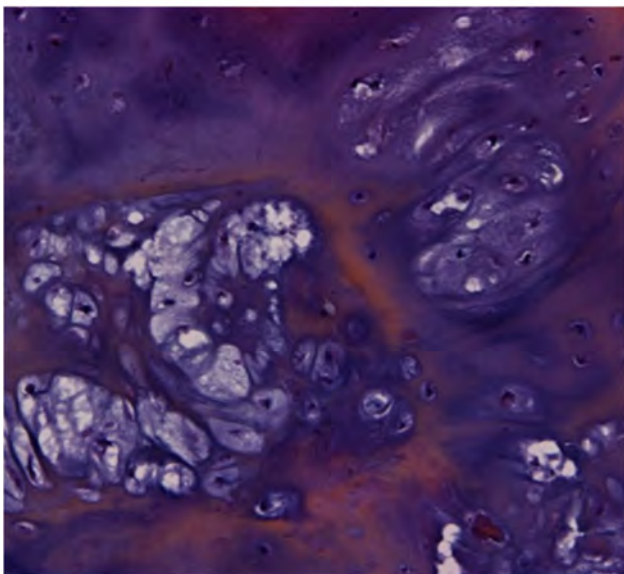
Les enchondromes situés au niveau des extrémités distales sont plus cellulaires et cytologiquement plus atypiques<sup>19</sup>.



a.



b.



c.

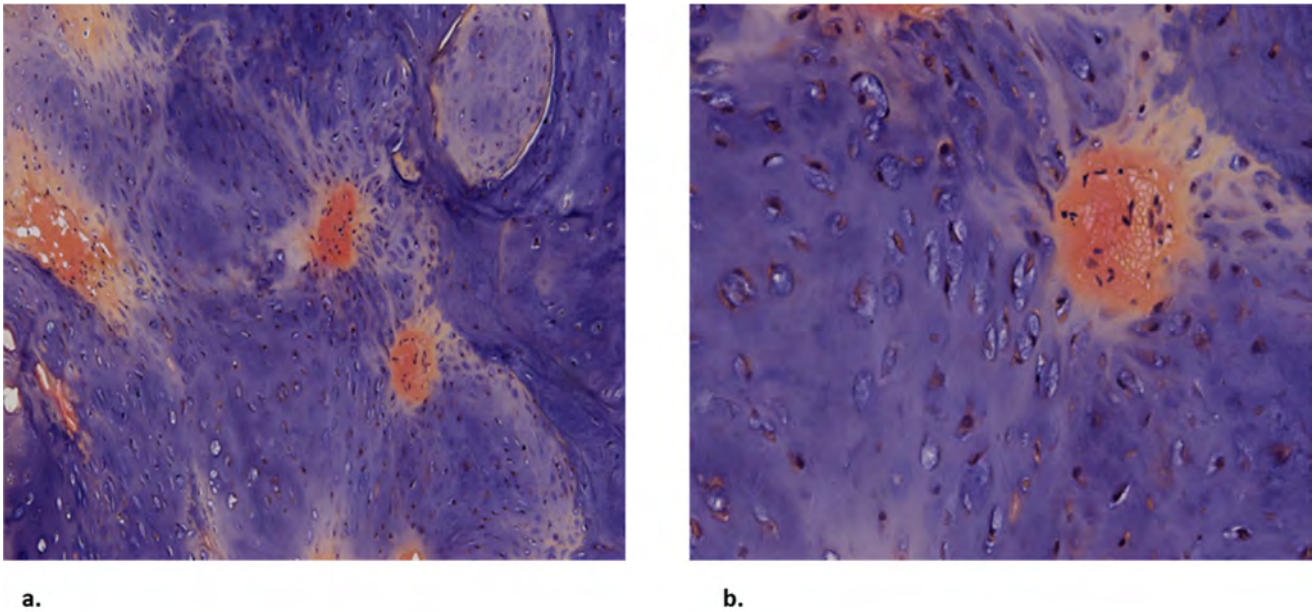
**Figure 7. Enchondrome solitaire.**

(a) et (b) Abondante matrice cartilagineuse, chondrocytes réguliers de petite taille dans des espaces lacunaires. (c) Architecture lobulée de la lésion. HE (grossissement x10).

#### 1.4.1.2 *Enchondromes multiples*

Les enchondromes multiples ou enchondromatose, correspondent à deux pathologies que sont la maladie d'Ollier et le syndrome de Maffucci. La maladie d'Ollier se définit par la présence d'enchondromes multiples seuls, tandis que le syndrome de Maffucci se définit par la présence d'enchondromes multiples associés à des angiomes (angiomes caverneux, hémangiomes à cellules fusiformes ou lymphangiomes)<sup>20,21</sup> localisés dans la peau<sup>20</sup>, les tissus mous ou les viscères. Dans les deux cas, il s'agit de pathologies rares (1/100.000)<sup>15</sup>, non héréditaires, touchant aussi bien les femmes que les hommes<sup>19</sup>. Ces lésions osseuses apparaissent dans l'enfance<sup>19</sup> (ou la petite enfance pour les syndromes de Maffucci), et sont à l'origine de déformations osseuses<sup>15</sup>. Leur croissance lente cesse généralement à la fin de la puberté.

Contrairement aux enchondromes solitaires, les enchondromes d'enchondromatose sont histologiquement plus cellulaires<sup>15,22</sup> avec des atypies cytonucléaires légèrement plus marquées (figure 8). Aussi la distinction entre un enchondrome dans un contexte d'enchondromatose et un chondrosarcome de grade 1 n'est pas aisée<sup>15,19</sup>, d'autant plus que les critères architecturaux de malignité habituellement observés dans les autres CS ne sont pas recevables dans un contexte d'enchondromatose.



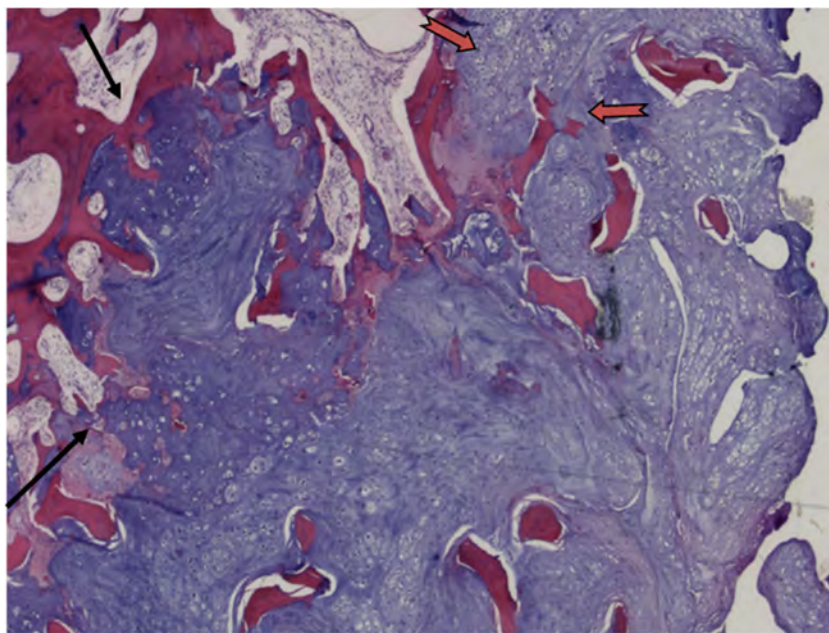
**Figure 8. Enchondrome de maladie d'Ollier.**

**(a) Cellularité augmentée dans une matrice chondroïde. (b) Cellules de plus grande taille, noyaux augmentés de volume. HE (grossissement x10 et x20)**

Le risque de transformation maligne en chondrosarcome est élevé et estimé à 25-30%<sup>20</sup> pour les maladies d'Ollier alors qu'il est seulement de 1% dans les enchondromes solitaires<sup>23</sup>.

Pour les syndromes de Maffucci le risque de développer une lésion maligne approche des 100%<sup>21</sup>. Le risque de développer un chondrosarcome est de 52-57%<sup>24</sup>. Ces patients peuvent aussi développer des tumeurs extra-osseuses telles des gliomes, des angiosarcomes et des tumeurs hépatobiliaires<sup>20,25</sup>.

La transformation en chondrosarcome (figure 9) se révèle cliniquement par l'apparition soudaine de symptômes tels qu'une douleur ou une majoration du volume de la lésion.



**Figure 9. Transformation d'un enchondrome en chondrosarcome.**

**Zone chondromateuse, hypocellulaire avec préservation du tissu ostéomédullaire (flèches noires). Zone chondrosarcomateuse, hypercellulaire avec présence de résorption osseuse (flèches oranges). HE (grossissement x2,5).**

#### 1.4.1.3 *Traitement des enchondromes*

Le traitement des enchondromes n'est pas clairement établi à ce jour. Cependant, le suivi clinico-radiologique des enchondromes connus, a permis d'établir des critères de « gravité ».

Une IRM (imagerie par résonance magnétique) est ainsi réalisée à 1 an du diagnostic, permettant de comparer la taille de la lésion à sa taille initiale. Une majoration de la taille de 6 mm en 1 an permet de considérer la lésion comme active. Les lésions actives sont traitées chirurgicalement (le plus souvent par curetage) ou bénéficieront encore d'un suivi radiologique rapproché. Si la taille reste stable ou si l'augmentation de taille reste < à 6 mm par rapport à sa taille initiale, alors elle est considérée comme latente. Les lésions latentes sont reconstrôlées à 3 ans par scanner<sup>26</sup>.

## 1.4.2 Chondrosarcomes secondaires périphériques

Ces chondrosarcomes, représentant moins de 10-15 %<sup>1,27</sup> des CS, sont par définition développés sur des ostéochondromes. Les ostéochondromes sont des tumeurs osseuses bénignes, uniques ou multiples, développées à la surface de l'os.

Les chondrosarcomes secondaires périphériques touchent des patients âgés entre 30 et 60 ans<sup>28,29</sup>.

### 1.4.2.1 *Ostéochondromes solitaires*

Les ostéochondromes solitaires sont des tumeurs exophytiques correspondant à une projection osseuse en continuité avec l'os sous-jacent métaphysaire et surmontée d'une coiffe cartilagineuse<sup>30</sup> (figure 10). L'ostéochondrome solitaire est la tumeur osseuse la plus fréquente. Ces ostéochondromes se développent durant la croissance osseuse et cesse de croître à la fusion du cartilage de conjugaison<sup>31</sup>. Elles touchent ainsi des patients jeunes, enfants et adolescents<sup>31,32</sup> sans prédominance de sexe<sup>32</sup>, et sont dans la majorité des cas asymptomatiques.

Les ostéochondromes mesurent entre 1 et 10 cm<sup>33</sup>. Leur coiffe cartilagineuse, dont l'aspect est apprécié à l'IRM, est mamelonnée et mesure 1,5-2 cm d'épaisseur<sup>29,32</sup>. Les ostéochondromes se présentent histologiquement comme un cartilage de croissance avec des zones d'ossification enchondrale.

Seules les tumeurs symptomatiques sont opérées par curetage. Les récurrences sont rares, généralement lors d'exérèses chirurgicales incomplètes.

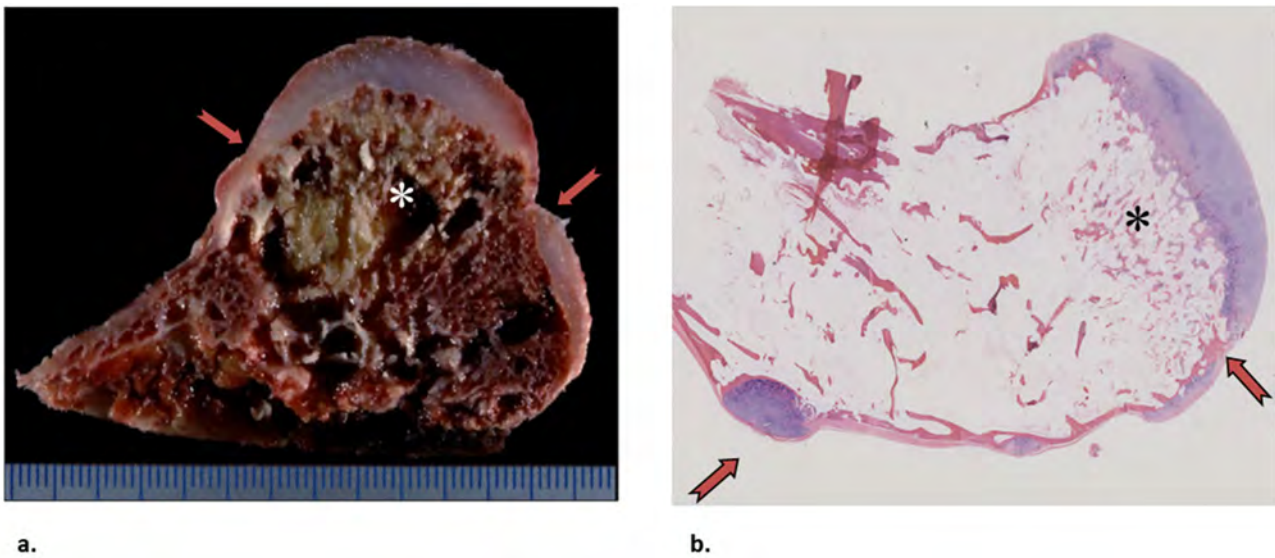


Figure 10. Coupes frontales d'ostéochondrome.

(a) Photographie d'une section macroscopique ; (b) Coupe histologique colorée à l'HE (grossissement x1,25). Coiffe cartilagineuse mamelonnée (flèches) en continuité avec l'os métaphysaire (étoiles blanche et noire).

#### 1.4.2.2 *Ostéochondromes multiples*

Les ostéochondromes multiples sont des maladies héréditaires à transmission autosomique dominante dont l'incidence est de  $1/50.000^{34}$ . Cela concerne 15% des patients atteints d'ostéochondromes<sup>30</sup>. Si on observe une présentation clinique et radiologique similaire à celle des ostéochondromes solitaires, les ostéochondromes multiples sont histologiquement plus cellulaires et atypiques que les solitaires.

De même, leur risque de transformation en chondrosarcome est différent, puisqu'il est de 10-20%<sup>28</sup> dans les cas d'ostéochondromes multiples, et seulement de 1%<sup>29</sup> dans les cas d'ostéochondromes solitaires.



### 1.4.2.3 Mutation des gènes *EXT* dans les ostéochondromes

Les ostéochondromes sont secondaires à une inactivation des gènes *EXT1* et *EXT2*. Respectivement situés sur les chromosomes 8q24 et 11p11, ils codent pour des protéines exostosines glycosyltransférases 1 et 2. Il s'agit de glycoprotéines transmembranaires également situées dans l'appareil de Golgi, sous forme de complexes hétéro-oligomériques. Ces protéines sont impliquées dans la synthèse de l'héparane sulfate protéoglycane (HSPG), modulateur clé de l'ossification enchondrale, induisant un gradient osmotique autour des chondrocytes et contrôlant la transduction du signal. L'HSPG est également impliqué dans la voie de signalisation Indian Hedgehog<sup>30</sup> qui régule la croissance et la différenciation chondrocytaire.

Les mutations inactivatrices des gènes *EXT*<sup>35,36</sup> entraînent une altération de la synthèse d'HSPG et par conséquent une activation de la voie IHH. Cela induit une perte de polarité des chondrocytes mutés et une prolifération chondrocytaire du cartilage péri-chondral avec formation d'une excroissance cartilagineuse ectopique<sup>37,38</sup>

Les ostéochondromes multiples se développent secondairement à une mutation constitutionnelle des gènes *EXT1* ou *EXT2*, combinée à une perte d'hétérozygotie dans le chondrocyte<sup>29</sup>.

Les ostéochondromes solitaires ou sporadiques vont eux se développer à partir d'une inactivation bi-allélique du gène *EXT1*<sup>30</sup>, rarement de *EXT2* (figure 11).

Dans les deux cas, les chondrocytes mutés recrutent des chondrocytes sauvages pour former l'ostéochondrome. On observe ainsi une mosaïque génétique intra-tumorale composée de cellules mutées et wild-type : *EXT*<sup>+/-</sup> *EXT*<sup>-/-</sup> pour les ostéochondromes multiples et *EXT*<sup>-/-</sup> *EXT* sauvage pour les ostéochondromes solitaires.

Les chondrosarcomes secondaires périphériques ne sont cependant pas porteurs de mutation *EXT*, ce qui implique une perte du mosaïcisme génétique des ostéochondromes lors de leur transformation. La physiopathologie de cet évènement est encore inconnue. Une des hypothèse avancée est que les ostéochondromes seraient une « niche » dans lesquelles les cellules chondrocytaires *EXT*<sup>+/-</sup> ou *EXT sauvage* seraient prédisposées à acquérir d'autres altérations épi(génétiques) aboutissant à la formation du chondrosarcome<sup>29</sup>.

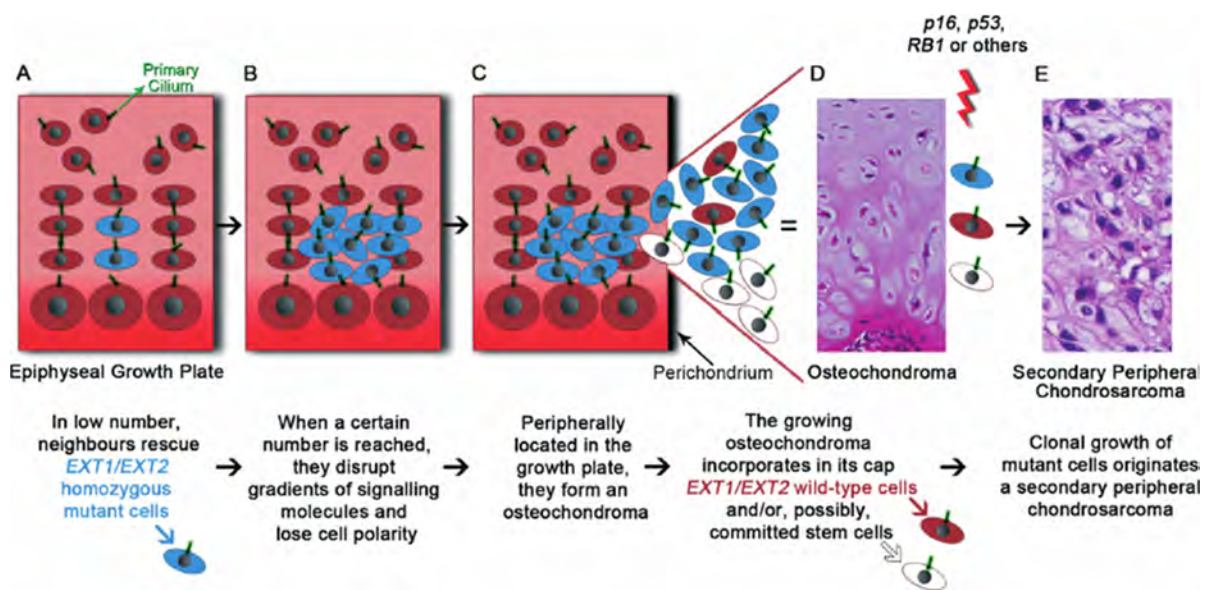


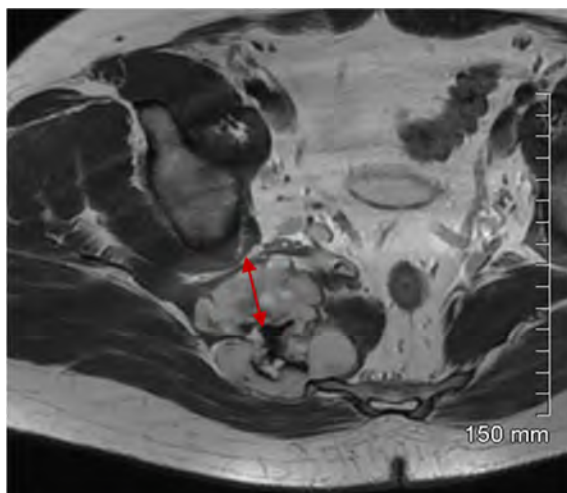
Figure 11. Formation d'un ostéochondrome solitaire : rôle du gène *EXT* et mosaïcisme intra-tumoral.

(A) Apparition d'une mutation homozygote de *EXT1/EXT2* (cellules bleues). (B) Perte de la polarité cellulaire. (C) Formation d'une excroissance en situation péri-chondrale. (D) Recrutement de cellules sauvages (cellules rouges) et de cellules souches (cellules blanches). (E) Transformation en chondrosarcome périphérique secondaire probablement lors de la survenue d'une seconde altération génétique. D'après Andrea et al. J Pathol 2012.

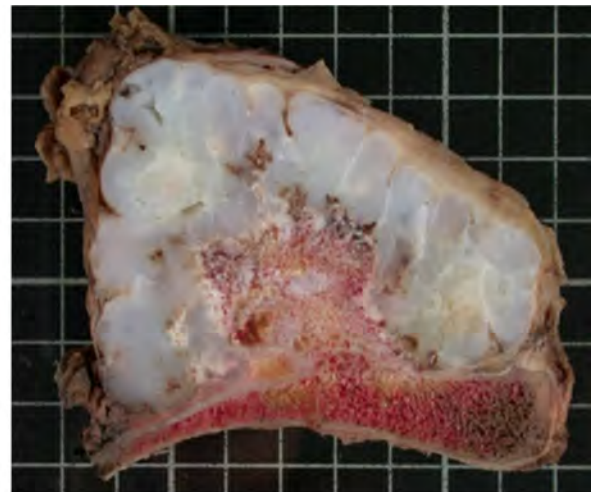
#### 1.4.2.4 Transformation des ostéochondromes en chondrosarcomes

A l'instar des enchondromes, la transformation en chondrosarcome se révèle par l'apparition d'une douleur brutale. Les critères radiologiques en faveur d'une transformation maligne sont une majoration de la taille tumorale associée à une lobulation de la coiffe cartilagineuse et un accroissement de son épaisseur mesurée à plus de 2 cm (figure 12).

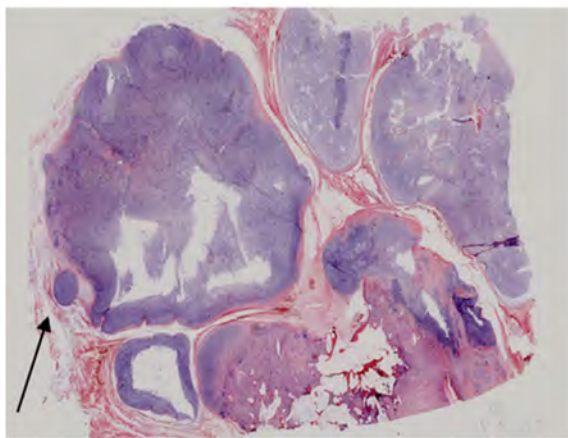
Histologiquement, l'augmentation de la cellularité, la présence d'une matrice myxoïde, d'un envahissement de la corticale et des tissus mous sont des critères en faveur du diagnostic de transformation<sup>18</sup>. Les chondrosarcomes secondaires périphériques sont gradés selon le grading de O'Neal & Ackerman et correspondent le plus souvent à des tumeurs de bas grade.



a.



b.



c.

**Figure 12. Ostéochondrome transformé.**  
(a) Coupe transversale d'une IRM en séquence T2. Coiffe cartilagineuse épaissie, mesurée à 2 cm (flèche rouge) (b) Photographie d'une section macroscopique en coupe frontale. Coiffe cartilagineuse lobulée et épaissie. (c) Coupe histologique colorée à l'HE (grossissement x2,5). Lobulation de la tumeur avec envahissement des tissus mous (flèche noire).

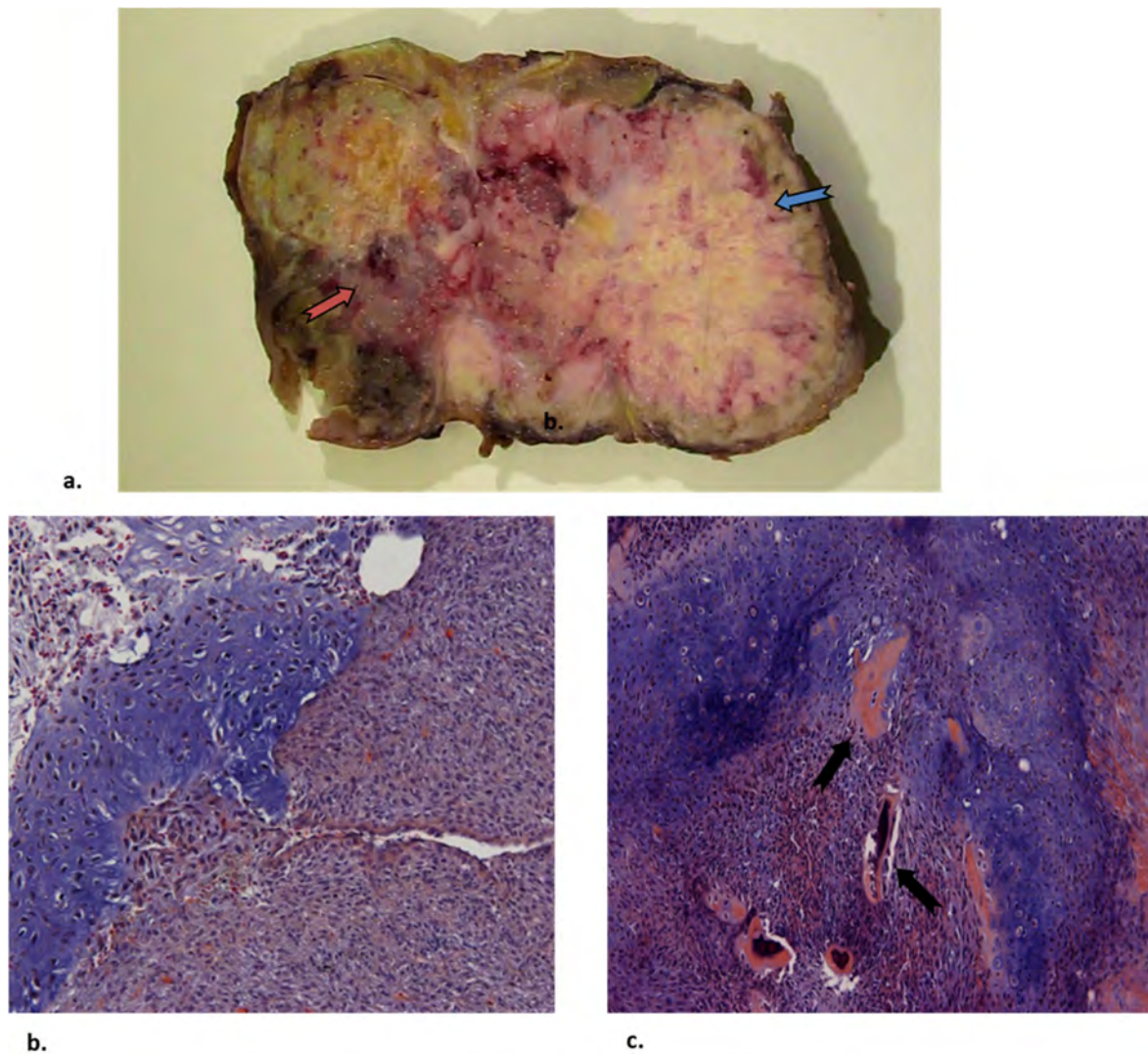
## 1.5 Chondrosarcomes dédifférenciés

Ces chondrosarcomes sont définis par la présence d'un contingent cartilagineux malin de bas grade associé à un contingent hétérologue de haut grade de malignité. Ce dernier correspond le plus souvent à un sarcome pléomorphe de haut grade ou un ostéosarcome. Les chondrosarcomes dédifférenciés sont d'emblée classés dans les CS de haut grade de malignité, apparentés à des lésions de grade 3 et représentent 10 % des chondrosarcomes<sup>1</sup>.

Radiologiquement, ils se présentent comme une tumeur biphasique<sup>4</sup>, associant une composante ostéolytique calcifiée à une composante agressive non cartilagineuse.

Ces aspects sont retrouvés macroscopiquement et microscopiquement avec une délimitation nette entre les deux contingents<sup>39</sup> (figure 13).

Le pronostic vital de ces tumeurs est sombre avec une survie estimée à 15%<sup>40</sup> à 5 ans.



**Figure 13. Chondrosarcome dédifférencié.**

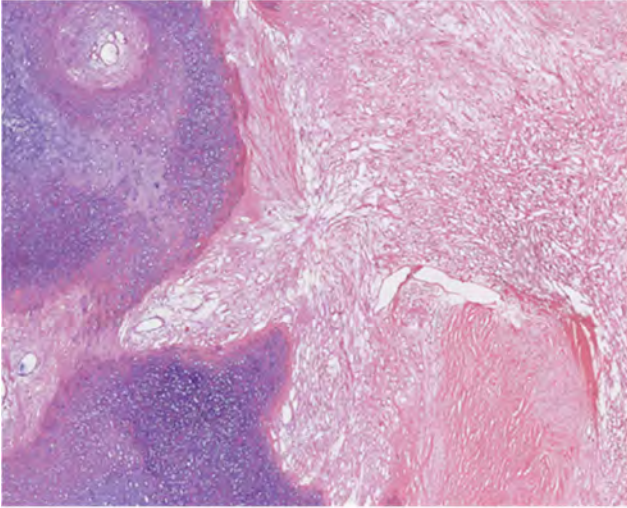
(a) Photographie d'une section transversale d'un chondrosarcome costal. Tumeur biphasique associant une composante cartilagineuse grisâtre (flèche orange) et une composante non cartilagineuse jaune hémorragique (flèche bleue). (b et c) Coupes histologiques colorées à l'HE (grossissement x 10). (b) Transition abrupte entre le contingent cartilagineux de bas grade (à gauche) et le contingent non cartilagineux correspondant à un ostéosarcome ostéoblastique avec des cellules fusocellulaires (à droite). (c) Matrice ostéoïde ossifiée de l'ostéosarcome (flèches noires).

## 1.6 Chondrosarcomes méenchymateux

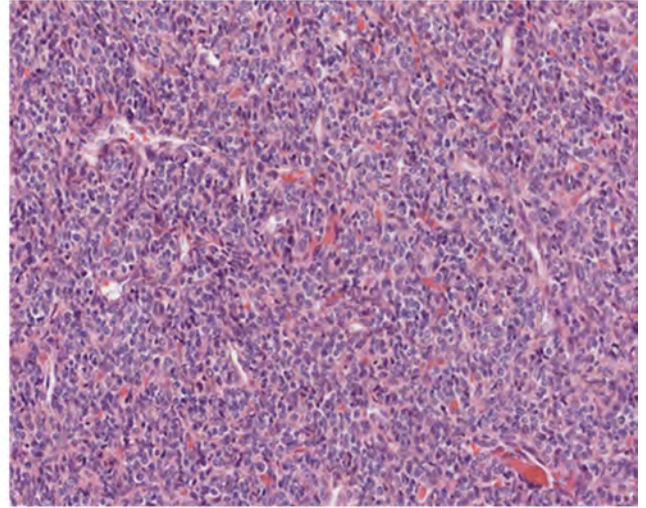
Il s'agit de tumeurs osseuses ou extra-osseuses de haut grade de malignité, représentant 2 à 8% des chondrosarcomes<sup>41</sup>. Elles touchent des patients jeunes, d'un âge médian de 25 ans<sup>27</sup> et se développent essentiellement au niveau du squelette axial et notamment des régions cervicales et cranio-faciales<sup>4,41,42</sup>.

Les chondrosarcomes méenchymateux correspondent également à des tumeurs biphasiques associant un contingent cartilagineux d'abondance variable à un contingent tumoral indifférencié à "petites cellules bleues"<sup>2</sup>. On y observe une vascularisation hémangiopéricytaire (figure 14). Le contingent cartilagineux peut être distinct ou se mêler progressivement au contingent à cellules rondes.

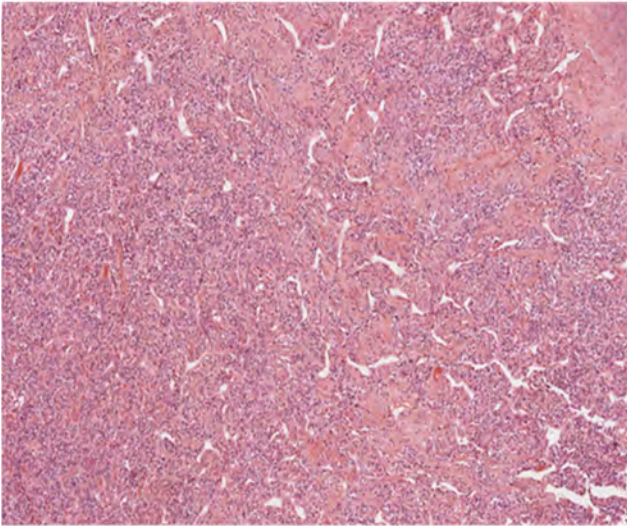
L'examen immunohistochimique révèle une positivité de l'anticorps anti-PS100 sur le contingent cartilagineux et une positivité de l'anticorps anti-CD99 sur le contingent à cellules bleues<sup>42</sup>. Les cellules sont également positives avec l'anti-SOX9, facteur de transcription régulant la chondrogénèse.



a.



b.



c.

**Figure 14. Chondrosarcome mésenchymateux.**

**(a) Transition abrupte entre le contingent cartilagineux et le contingent à cellules rondes. HE (grossissement x 8,22) (b) Contingent à cellules rondes sarcome d'Ewing-like HE x 8,5 (c) Vascularisation hémangiopéricytaire. HE (grossissement x 8,5).**

D'un point de vue cytogénétique, l'absence de translocation t(11;22) EWS-FLI1 permet de le différencier du sarcome d'Ewing. On observe cependant une fusion récurrente des gènes *HEY1-NCOA2* respectivement situés sur le chromosome 8 q21 et 8q13<sup>43,44</sup>. Cette fusion, permettant de faire le diagnostic de certitude du chondrosarcome méenchymateux, serait secondaire à une délétion interstitielle entre l'exon 4 du gène *HEY1* et l'exon 13 du gène *NCOA2*<sup>44</sup>.

Les chondrosarcomes méenchymateux sont des tumeurs agressives, avec une tendance à la récurrence et au développement de métastases même tardives (plus de 20 ans)<sup>41</sup>. La survie à 5 ans est de 51%<sup>45</sup>.

### **1.7 Chondrosarcomes périostés**

Ces tumeurs représentent moins de 1% des tumeurs cartilagineuses<sup>27,46</sup> et touchent des patients âgés de 20 à 40 ans<sup>47</sup> avec une prédominance masculine<sup>4</sup>.

Principalement situées au niveau de la diaphyse et de la métaphyse des os longs<sup>47</sup>, elles se développent aux dépens de la corticale osseuse<sup>46</sup>.

La majorité des chondrosarcomes périostés sont de grade 1<sup>37,46</sup> avec des caractéristiques histologiques identiques aux chondrosarcomes centraux. Ils sont cependant de meilleur pronostic avec une survie à 5 ans de 94% pour les grades 1 et de 50% pour les grades 2<sup>47</sup>. Les métastases sont exceptionnelles<sup>38</sup>.

Le principal diagnostic différentiel du chondrosarcome périosté est le chondrome périosté. Ce dernier mesure moins de 2-3 cm<sup>47,48</sup> et n'envahit pas les tissus mous. Le chondrosarcome périosté mesure, lui, entre 3 et 14 cm<sup>48</sup>.



## 1.8 Chondrosarcomes à cellules claires

Les chondrosarcomes à cellules claires sont des tumeurs de bas grade de malignité<sup>27</sup>, représentant 1 à 2 % des chondrosarcomes et touchant des patients âgés de 30 à 50 ans avec une prédominance masculine 2 : 1<sup>4</sup>.

Ils se révèlent cliniquement par une douleur de longue durée suivie d'une masse et de fractures pathologiques<sup>49</sup>. La croissance tumorale est lente et les tumeurs se localisent essentiellement au niveau de l'épiphyse des os longs<sup>4</sup>.

Radiologiquement, ils se présentent sous la forme d'une lésion ostéolytique à bords scléreux. La minéralisation est peu fréquente et l'extension aux tissus mous inhabituelle<sup>4</sup>.

Macroscopiquement, il s'agit d'une tumeur composée de tissus conjonctifs présentant parfois des remaniements kystiques. Les aspects cartilagineux sont le plus souvent absents.

Microscopiquement, la prolifération tumorale est lobulée et constituée de cellules polygonales aux noyaux centraux, larges et arrondis. Leur cytoplasme est clarifié et leurs limites distinctes. Quelques cellules géantes plurinucléées sont observées et les mitoses sont classiquement absentes. Dans 50% des cas un contingent chondrosarcomateux conventionnel est présent, et le pronostic est alors relié à celui du contingent conventionnel<sup>50</sup>.

Les cellules claires sont PS100 positives, parfois AE1/AE3 positives à l'examen immunohistochimique<sup>49,51</sup>.

Le taux de survie est de 92 % à 5 ans<sup>52</sup>. Les récurrences sont fréquentes (83-86% )<sup>53,54</sup>, parfois tardives en cas de résection incomplète.

## **1.9 Chondrosarcomes et localisation anatomique**

En fonction de leur localisation, les chondrosarcomes présentent des caractéristiques différentes<sup>4</sup>.

### **1.9.1 Pelvis, côtes/sternum, rachis**

Contrairement aux os long au niveau desquels les enchondromes sont fréquents, le pelvis, les côtes et le rachis sont des sites rares d'enchondromes solitaires. Aussi, la présence d'une lésion cartilagineuse unique à ce niveau doit faire évoquer en priorité un chondrosarcome.

### **1.9.2 Région cranio-faciale**

Les chondrosarcomes de cette région se localisent préférentiellement au niveau de la base du crâne et du sinus maxillaire. Parallèlement aux localisations précédentes, une lésion cartilagineuse solitaire doit en priorité faire évoquer une lésion maligne.

Le principal diagnostic différentiel des CS basi-crâniens est le chordome dont le pronostic est plus péjoratif.

### **1.9.3 Extrémités distales : pieds et mains**

Il s'agit d'une localisation plus fréquemment atteinte par les enchondromes que par les chondrosarcomes. A ce niveau, les enchondromes sont souvent à l'origine d'une atteinte endostéale. Ce critère ne peut donc être utilisé pour différencier radiologiquement un enchondrome d'un chondrosarcome.

## **1.10 Imagerie des tumeurs cartilagineuses**

L'imagerie est une étape importante dans le diagnostic des tumeurs cartilagineuses, les aspects radiologiques de ces lésions étant souvent corrélés à leur sous-type histologique.

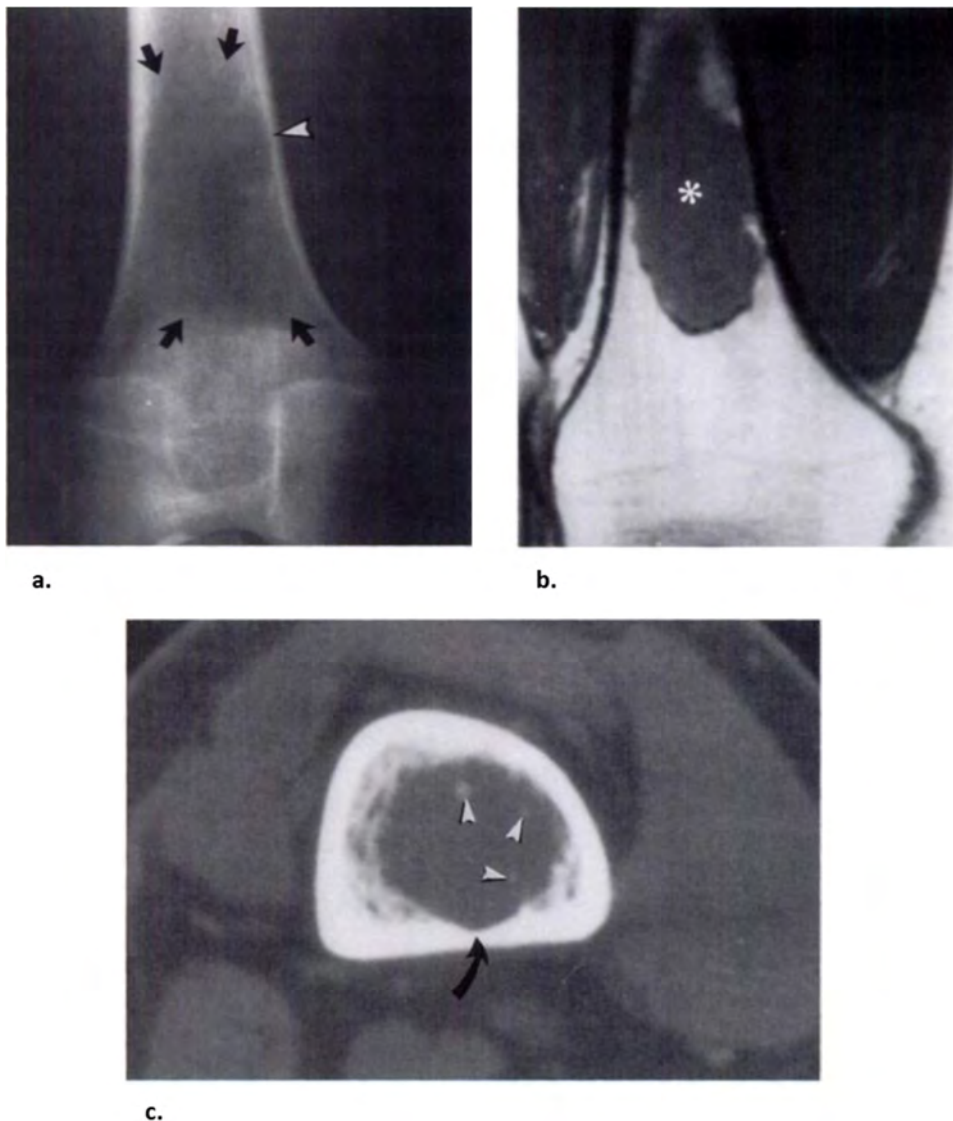
La matrice cartilagineuse étant radio-transparente, seuls les foyers de calcification ou d'ossification (calcifications ponctuelles, floconneuses ou en anneaux, les calcifications en anneaux correspondant à une ossification enchondrale retrouvée dans les tumeurs bien différenciées) apparaissent en radiologie standard. La TDM (tomodensitométrie) et l'IRM présentent ainsi un intérêt majeur dans la visualisation des critères d'agressivité.

L'examen scannographique est optimal dans la détection et la caractérisation de la matrice minéralisée ainsi que dans l'évaluation de l'atteinte endostéale. L'IRM est l'examen de choix dans la description de l'extension médullaire et aux tissus mous et la visualisation de l'œdème péri-tumoral<sup>4</sup>. Le cartilage apparaît en iso ou hyposignal T1 et en hypersignal T2 à l'IRM.

## *Imagerie des principales tumeurs cartilagineuses*

### *- Les enchondromes*

Ils sont caractérisés par une lésion lytique centrale métaphyso-diaphysaire calcifiée en carte de géographie<sup>14</sup>. La corticale peut être soufflée dans les chondromes des extrémités distales. De même, une légère érosion endostéale peut être visualisée dans les enchondromes des os longs.



**Figure 15. Enchondrome du fémur distal d'une femme de 42 ans.**

**(a) Radiographie standard. Lésion lytique (flèches noires) avec une discrète résorption endostéale (flèche blanche). (b) IRM en coupe frontale en séquence T1. Lésion d'aspect lobulée et estimation de sa taille (étoile). (c) TDM coupe transversale. Visualisation de discrètes calcifications (pointes de flèches blanches) avec la résorption endostéale (flèche noire). Murphey et al, Radiographics, 1998**

- *Chondrosarcomes centro-médullaires*

Les chondrosarcomes de grade 1 présentent des caractéristiques radiologiques proches des enchondromes.

Les critères de malignité sont cependant représentés par une alternance de zones de résorption endostéale étendues (>2/3 de la hauteur de la lésion) et profondes (>2/3 de l'épaisseur de la corticale) et de zones d'ostéosclérose. La résorption endostéale peut conduire à une rupture de la corticale et une extension de la tumeur au sein des tissus mous<sup>4</sup> (figure 16).

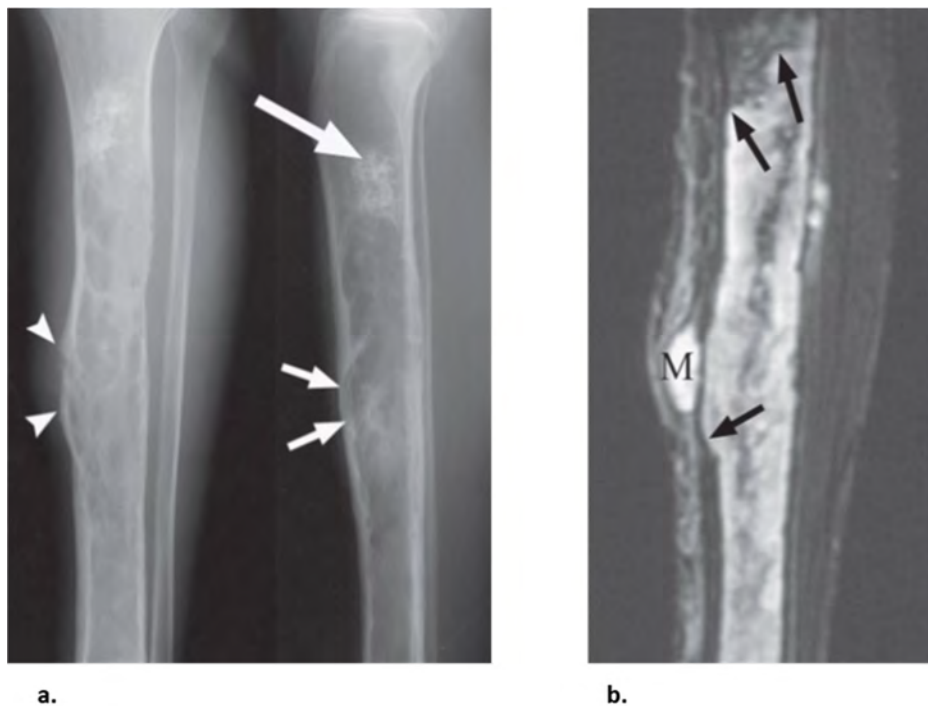


Figure 16. Chondrosarcome conventionnel du tibia d'un homme de 60 ans.

(a) Radiographie standard incidence antéropostérieure et latérale. Lésion lytique extensive avec des zones de minéralisation (grande flèche), résorption endostéale profonde (petites flèches), remodelage de la corticale (pointes de flèches) (b) IRM en séquence T2. Lobulation de la tumeur (flèches) avec extension dans les tissus mous (M). Murphey et al, Radiographics, 2003.

- *Chondrosarcomes dédifférenciés/mésenchymateux*

Les chondrosarcomes dédifférenciés ou mésenchymateux se présentent comme des tumeurs biphasiques, comprenant une composante ostéolytique calcifiée (correspondant aux secteurs bien différenciés) associée à une composante agressive non cartilagineuse, entièrement lytique et non minéralisée (territoires dédifférenciés/indifférenciés)<sup>4</sup> (Figure 17).

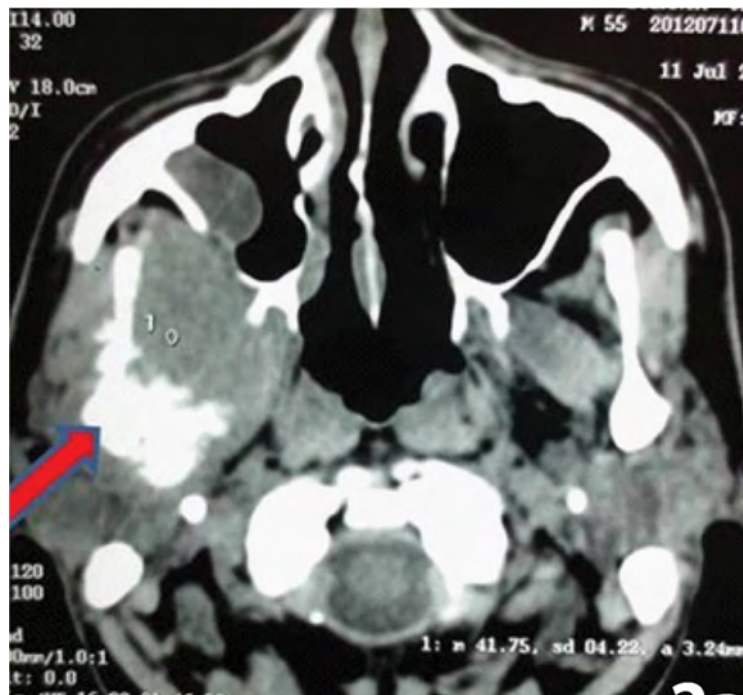


Figure 17. TDM coupe transversale d'un chondrosarcome dédifférencié temporo-mandibulaire d'un homme de 55 ans. Lésion lytique étendue avec composante calcifiée (flèche). Rath et *al*, J Clin Diagn Res., 2014.

## 1.11 Mutations des gènes *IDH* dans les chondromes et chondrosarcomes

### 1.11.1 Rôle physiologique des gènes *IDH*

Les gènes *IDH* ou *Isocitrate déshydrogénase*, sont au nombre de trois : *IDH1*, *IDH2*, *IDH3*.

Le gène *IDH1* se situe sur le chromosome 2 q34, tandis que les gènes *IDH2* et 3 se situent sur le chromosome 15, respectivement au niveau des loci q26.1 et q25.1.

Ces gènes codent pour des enzymes métaboliques de même nom, de configuration homodimériques pour *IDH1* et *IDH2* et hétérotétramérique pour *IDH3*. Leur rôle est de catalyser, dans le cycle de Krebs, la décarboxylation oxydative de l'isocitrate en alpha-cétoglutarate ( $\alpha$ -KG), en utilisant comme co-facteur la  $\text{NADP}^+$  (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate) (*IDH1* et *IDH2*) ou la  $\text{NAD}^+$  (nicotinamide adénine dinucléotide) (*IDH3*). La protéine *IDH1* se situe dans le peroxyssome et le cytosol alors que les protéines *IDH2* et 3 se localisent dans la mitochondrie<sup>2,55</sup> (figure 18).

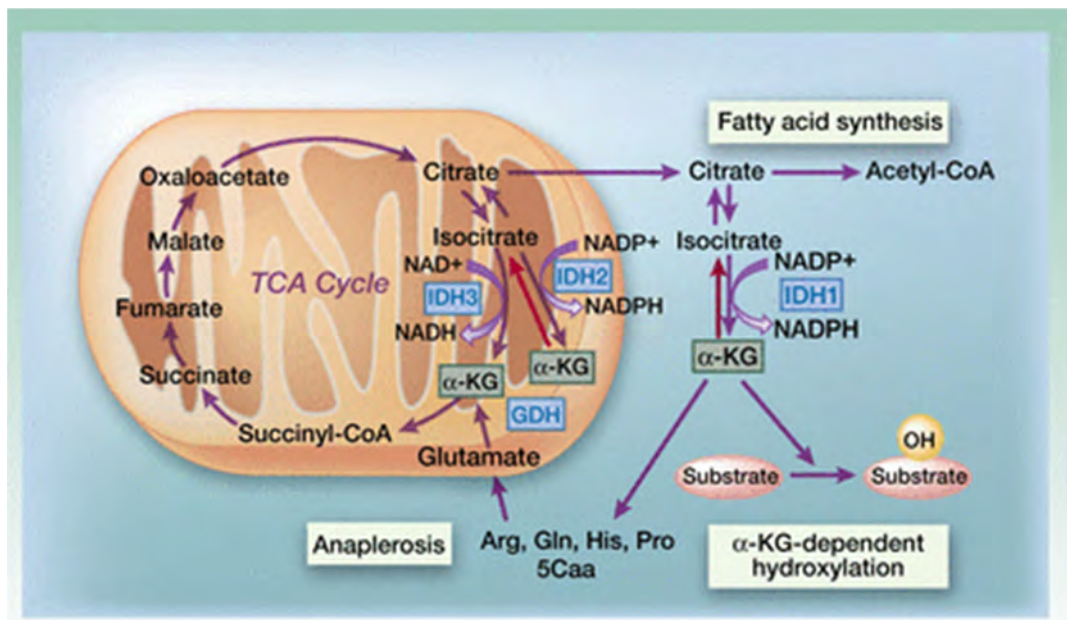


Figure 18. Rôle physiologique des enzymes *IDH*, d'après Hui Yang et al. Clin Cancer Res. 2012

L'  $\alpha$ -KG et le NADPH produits par ces enzymes tiennent des rôles importants dans la régulation cellulaire.

Le NADPH intervient notamment dans la défense contre le stress oxydatif, dans la synthèse des acides gras et du cholestérol (facteurs notamment requis pour la division cellulaire).

L' $\alpha$ -KG est un élément clé du métabolisme énergétique. Il peut de plus être réduit en isocitrate servant à la synthétisation de l'Acetyl-CoA, précurseur central de la synthèse d'acide gras et de l'acétylation des protéines<sup>55</sup>. De multiples enzymes sont, par ailleurs, sous la dépendance de l' $\alpha$ -KG, comme les histones déméthylases et les TET (ten-eleven translocation), DNA hydroxylases impliquées dans la déméthylation de l'ADN<sup>56,57</sup> en catalysant la conversion de la 5-méthylcytosine (5-mC) en 5-hydroxyméthylcytosine (5-hmC).

### 1.11.2 Mutations des gènes *IDH* et tumorigenèse

La première mutation *IDH* décrite, la mutation *IDH1* R132H, a été découverte en 2008, lors d'un projet de séquençage complet du génome de 22 glioblastomes<sup>58</sup>. Divers études ont par la suite identifiées des mutations *IDH1* et *IDH2* dans de multiples cancers (pathologies hématologiques, cholangiocarcinomes intra-hépatiques, carcinomes thyroïdiens, cancers prostatiques...) <sup>59-61</sup>. A ce jour il n'a pas été décrit de mutation du gène *IDH3*<sup>55</sup>.

Les mutations *IDH1* et *IDH2* sont des mutations hétérozygotes somatiques<sup>62</sup>, le plus souvent exclusives<sup>63</sup>. Il s'agit de mutations activatrices secondaires à une substitution de l'acide aminé arginine<sup>2,51,53</sup> au niveau du codon 132 pour *IDH1* et des codons 172 et 140 pour *IDH2* (tableau 1).



Gène	Exon	Codon	Mutations les plus fréquentes
IDH1	4	132	R132H R132C R132L R132S R132G
IDH2	4	172	R172M R172W R172G R172K R172S
IDH2	4	140	R140Q R140W R140L

Tableau 1. Principales mutations répertoriées d'*IDH*, d'après Hui Yang et al

Ces acides aminés substitués se situent au niveau du site catalytique de l'enzyme<sup>55</sup> et leur atteinte entraînent une modification de l'activité enzymatique. Les enzymes acquièrent alors la fonction de convertisseur d'alpha-cétoglutarate en delta-2-hydroxyglutarate (D-2-H)<sup>64</sup>, un oncométabolite (figure 19).

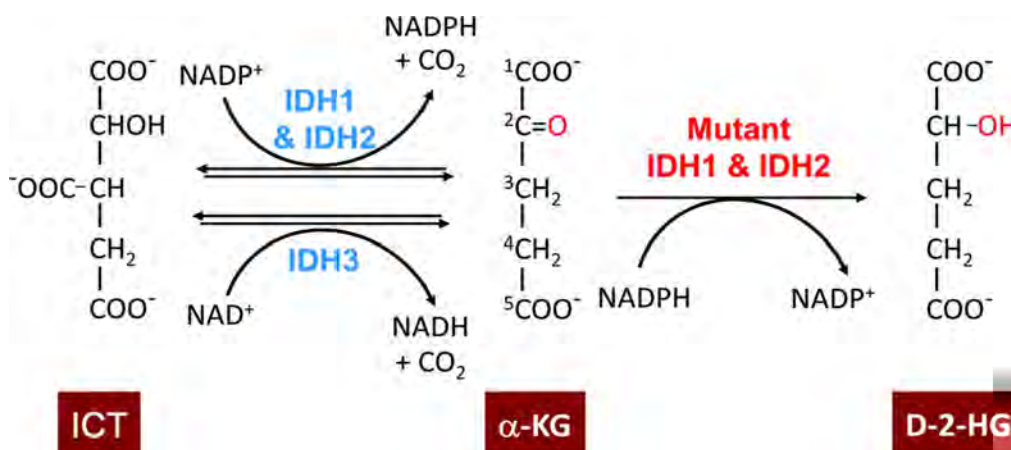
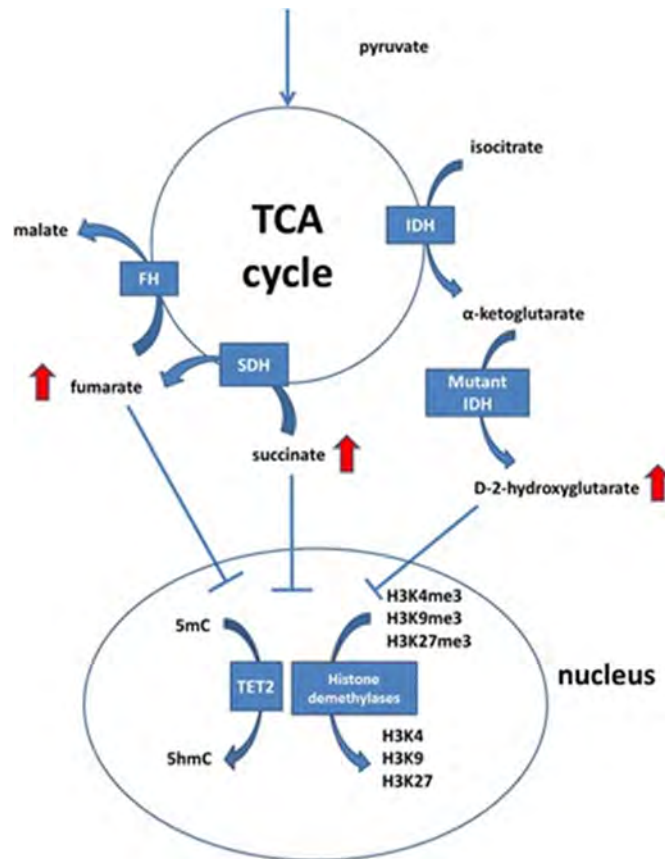


Figure 19 : Réactions chimiques catalysées par les enzymes IDH sauvages et mutées, d'après Hui Yang et al

Le D-2-H, qui a une conformation identique à l' $\alpha$ -KG, entre en compétition avec ce dernier<sup>65</sup> et inhibe les enzymes  $\alpha$ -KG –dépendantes (figure 20).



**Figure 20. Mutation IDH, formation de l'oncométabolite delta-2-hydroxyglurate, d'après Arjen et al Clin Sarcoma Res. 2017**

De plus, la baisse du taux d'alpha-cétoglutarate inhiberait la dégradation d'HIF-1 $\alpha$  (Hypoxia Inductible Factor), impliqué dans la tumorigenèse. En effet, HIF est un facteur essentiel, assurant l'homéostasie en oxygène et permettant l'adaptation cellulaire en condition hypoxique. Il s'agit d'un facteur de transcription hétérodimérique composé de deux sous-unités : une sous-unité  $\alpha$ , oxygène-dépendante et une sous-unité  $\beta$ , oxygène-indépendante<sup>66</sup>. Dans des conditions de normoxie, la sous-unité  $\alpha$  est instable avec une dégradation post-

transcriptionnelle<sup>67</sup>. Lorsqu'elle s'accumule dans le cytoplasme, dans le cadre de mutations *IDH* ou en condition d'hypoxie, la sous-unité  $\alpha$  est transloquée dans le noyau, où elle se dimérise avec la sous unité bêta pour former le facteur de transcription<sup>68</sup>. Ce dernier va se fixer sur la région promotrice de gènes cibles, appelée séquence HRE (hypoxia response element). Ces gènes permettent l'adaptation à l'hypoxie en étant impliqué dans l'érythropoïèse, la régulation du pH, l'angiogenèse, le métabolisme du glucose, la survie<sup>69</sup>, et l'invasion cellulaire.

Les études sur les gliomes et glioblastomes ont montré que seuls les gliomes de grade 2 et 3, et les glioblastomes secondaires étaient mutés. Ces éléments suggèrent que les mutations *IDH* surviennent précocement dans la gliomagenèse et persistent durant la progression tumorale<sup>70</sup>.

En ce qui concerne l'impact des mutations *IDH1* et *IDH2* sur le pronostic, il varie selon les tumeurs. Ainsi, de récentes études ont démontré un meilleur pronostic et une meilleure réponse au traitement concernant les patients atteints de tumeurs gliales<sup>71,72</sup> *IDH* muté.

Dans les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) les mutations *IDH1* sont associées à un plus mauvais pronostic avec une survie globale plus courte<sup>73</sup>. Cependant, une méta-analyse réalisée par Zhou et al a observé une meilleure survie globale de patients atteints de LAM *IDH2* muté<sup>74</sup>. L'implication des mutations *IDH* dans les syndromes myélodysplasiques (SMD) n'est pas encore clairement établie avec des résultats discordants selon les études (corrélations d'*IDH1* muté à une moins bonne survie globale et sans progression selon Thol et al<sup>75</sup> et Wang et al<sup>76</sup> et corrélations d'*IDH2* muté à une moins bonne survie globale et sans progression selon Lin et al<sup>77</sup> et Bejar et al<sup>78</sup>

Enfin, les mutations *IDH2* des lymphomes T angio-immunoblastiques (il n'est pas observé de mutation *IDH1* dans ces lymphomes) n'auraient aucun impact pronostic<sup>79</sup>, tout comme les mutations observées dans les cholangiocarcinomes intra-hépatiques<sup>80,81</sup>.

### 1.11.3 Les mutations *IDH1* et *IDH2* dans les tumeurs cartilagineuses

Les mutations des gènes *IDH1* et *IDH2* ont été décrites pour la première fois dans les tumeurs cartilagineuses en 2011<sup>82,83</sup>.

Elles sont observées dans environ 50% (38-86%) des chondrosarcomes conventionnels centraux primitifs, 54% des chondrosarcomes dédifférenciés, 100% des chondrosarcomes périostés et 87% des enchondromes d'enchondromatose<sup>82,84</sup>. Ces mutations sont absentes des ostéochondromes, des chondrosarcomes mésenchymateux, à cellules claires et périphériques.

Les mutations *IDH1* sont les plus fréquentes, et sont présentes dans 40-52% des cas. Elles sont surtout observées en R132C pour 40% des cas et en R132H pour 17% des cas. Les mutations *IDH2* sont moins fréquentes et représentent 6-11% des cas<sup>83,84</sup> en position R172. Il n'est pas retrouvé de mutation *IDH2* en position 140 dans les tumeurs cartilagineuses. Dans le cadre de la maladie d'Ollier et/ou du syndrome de Maffucci, il s'agit respectivement de mutations d'*IDH1* pour 81% des cas (34/43) et de mutations soit d'*IDH1* (98%), soit d'*IDH2* (2%)<sup>82</sup>.

Ces mutations sont aussi bien retrouvées dans les tumeurs cartilagineuses bénignes que malignes, suggérant leur rôle précoce dans le développement tumoral.

Yonghui Jin et al suggèrent dans leur étude que ces mutations auraient la capacité de modifier les propriétés de différenciation des cellules souches mésenchymateuses (MSC) de la moelle osseuse<sup>70</sup>. En effet, les auteurs montrent que la mutation *IDH1* R132C qu'ils ont étudiée, serait à l'origine d'une induction de la différenciation chondrogénique, via la majoration de la méthylation des histones H3 des MSC, elle-même responsable (via une régulation épigénétique) d'une surexpression du gène *SOX9* et des gènes *COL2A1* et *COL10A1* (codant pour les protéines de la matrice extra-cellulaire du cartilage). Ceci s'associe également à une sous expression du gène *alkaline phosphatase, liver/bone/kidney (ALPL)*, qui joue un rôle clé

dans la minéralisation de la matrice extra-cellulaire. Ces résultats sont également rapportés par Johnny Suijker et al, qui confirme l'existence d'une hyperméthylation des histones H3 et des îlots CpG lors de mutations *IDH1* et *IDH2*<sup>85</sup>.

A ce jour, seules deux études, Cleven et al<sup>57</sup> et Amary et al<sup>84</sup> ont évalué l'impact pronostic des mutations *IDH* des chondrosarcomes. Leur conclusion est identique, à savoir que la présence de mutation n'est pas corrélée au pronostic (survie et métastase) dans les tumeurs cartilagineuses.

## **1.12 Diagnostics différentiels des chondrosarcomes**

On dénombre trois principaux diagnostics différentiels (en dehors du chondrome dans le cadre de CS de bas grade), tous *IDH* non muté.

### **1.12.1 Fibromes chondromyxoïdes**

Il s'agit d'une tumeur cartilagineuse bénigne, touchant le plus souvent des patients âgés entre 20 à 30 ans. Elle se révèle cliniquement par une douleur et se localise préférentiellement au niveau de la métaphyse des os longs et des os plats.

Radiologiquement, la lésion mesurant entre 1 et 10 cm est bien limitée, entièrement radio-transparente.

Microscopiquement, la tumeur est d'architecture lobulée séparée de septa fibro-myxoïdes.

Les zones périphériques sont hypercellulaires, composées des cellules myofibroblastiques stellaires au cytoplasme abondant et les zones centrales sont chondroïdes, hypocellulaires. Les mitoses sont rares.

Les cellules tumorales sont positives avec les anticorps anti-PS100, SOX9 et focalement avec l'anti-actine muscle lisse.

### 1.12.2 Ostéosarcomes chondroblastiques

L'ostéosarcome chondroblastique est une tumeur de haut grade de malignité ayant deux pics d'incidence, le premier situé entre 10 et 14 ans, le second situé au-delà de 40 ans. La tumeur se localise essentiellement au niveau de la métaphyse des os longs et se déclare par une douleur profonde et progressive.

Elle se présente à l'imagerie comme une lésion de grande taille, mal limitée, lytique et agressive.

Histologiquement, elle se caractérise par des foyers d'ostéogenèse tumorale dont la présence est indispensable au diagnostic. La tumeur occupe la cavité médullaire, détruisant les travées osseuses. Les cellules tumorales sont atypiques et pléomorphes (épithélioïdes, plasmocytoïdes, fusiformes, stellaires) et synthétisent une substance ostéoïde (matrice osseuse non minéralisée) amorphe et éosinophile. Il s'y associe une matrice cartilagineuse hyaline, parfois myxoïde, renfermant des cellules de phénotype chondrocytaire atypique. Ce composant cartilagineux peut être largement dominant, posant le problème diagnostique du chondrosarcome en cas d'absence de visualisation des foyers d'ostéogenèse. Néanmoins, la présence de cellules fusiformes en périphérie des foyers cartilagineux est un argument orientant vers un diagnostic d'ostéosarcome.

Génétiquement, l'ostéosarcome présente de nombreuses altérations génomiques complexes. Les mutations d'*IDH* n'ont pas été observées permettant ainsi d'aider au diagnostic différentiel avec un CS quand la mutation est retrouvée.

L'ostéosarcome chondroblastique est une tumeur agressive, au pronostic sombre pour les patients présentant une récurrence locale ou à distance avec un taux de survie < 20% à 5 ans.

### 1.12.3 Chordomes

Il s'agit d'une tumeur maligne à différenciation notochordale, de localisation axiale (base du crâne, rachis, région sacro-coccygienne), touchant des patients de 50 à 70 ans. Elle se révèle le plus souvent par des maux de tête, une diplopie ou encore des douleurs nucales.

Histologiquement, la tumeur d'architecture lobulée renferme des cellules au large cytoplasme éosinophile ou clarifié, d'agencement trabéculaire, et enchâssées dans un stroma myxoïde ou chondroïde. Les atypies cytonucléaires sont légères à sévères avec une activité mitotique variable. On note une positivité des anticorps anti-PS100 et EMA.

L'absence de mutation *IDH* permet, entre autres, de le distinguer des chondrosarcomes.

## 1.13 Traitement des chondrosarcomes

Du fait de leur matrice avasculaire, les chondrosarcomes sont des tumeurs chimiorésistantes. Elles sont également radiorésistantes. Le traitement chirurgical reste ainsi la seule véritable option thérapeutique<sup>86</sup>.

Cependant, en fonction de l'état clinique du patient, du type de chondrosarcome, de sa résecabilité et de son extension régionale ou à distance, les traitements par chimiothérapie ou/et radiothérapie peuvent être utilisés. Ces traitements sont ainsi décidés au cas par cas lors des réunions de concertation pluridisciplinaire.

### 1.13.1 **Traitement chirurgical**

Le traitement chirurgical consiste, pour les chondromes et les CS de grade 1/Tumeur cartilagineuse atypique en un curetage (os longs) ou une exérèse monobloc (tumeur du bassin, costale).

Les tumeurs de grade 2 sont traitées par exérèse monobloc. Les CS de grade 3 sont traités par chirurgie +/- associée à une chimiothérapie. Ces cas sont discutés au cours de réunions de concertation pluridisciplinaire.

Les marges de résection sont considérées comme saines lorsqu'elles sont supérieures ou égales à 2 mm.

### 1.13.2 **Radiothérapie**

Elle consiste en une protonthérapie plus ou moins associée à une radiothérapie conventionnelle<sup>87</sup>.

Elle est utilisée dans le cadre de chondrosarcomes non résécables, en complément de la chirurgie en marges non saines ou encore comme traitement palliatif.

### 1.13.3 **Chimiothérapie**

Les chimiothérapies conventionnelles sont essentiellement utilisées en tant que traitement néoadjuvant ou adjuvant, dans les chondrosarcomes dédifférenciés et mésenchymateux. Elles peuvent également être utilisées chez des patients présentant un stade avancé de la maladie. Elles permettraient d'améliorer essentiellement le pronostic des patients atteints de chondrosarcomes mésenchymateux.<sup>88</sup>



Deux facteurs seraient à l'origine de la résistance à la chimiothérapie. Elle serait d'une part secondaire à l'activation de pompes membranaires qui excrèteraient les molécules chimiothérapeutiques de la cellule et d'autre part secondaire à une majoration des facteurs anti-apoptotiques Bcl2 et Bcl-x1<sup>3,89</sup>

Pour pallier à ce problème majeur de résistance, de nouvelles thérapies, ciblant diverses voies de signalisation engagées ou potentiellement engagées dans la physiopathologie des chondrosarcomes, sont développées.

#### 1.13.4 Principales thérapies émergentes

##### 1.13.4.1 *Thérapie ciblant la voie IDH*

Des inhibiteurs des protéines IDH1 et IDH2 ont été développés. Une première étude réalisée in vitro avec un inhibiteur d'IDH1, a mis en évidence l'inefficacité de la molécule sur la viabilité, la croissance et la migration cellulaire, laissant supposer une régulation épigénétique plus complexe<sup>85,90</sup>. Des essais cliniques avec de nouvelles molécules sont cependant en cours d'évaluation sur des patients atteints de gliomes, de chondrosarcomes, de cholangiocarcinomes et de lymphomes T angio-immunoblastiques<sup>56</sup>.

##### 1.13.4.2 *Thérapie ciblant la voie Hedgehog*

De récentes études ont démontré un effet antitumoral in vitro des inhibiteurs de la voie HH sur des cellules chondrosarcomateuses avec pour conséquence une diminution de leurs capacités prolifératives, invasives et de migration<sup>91,92</sup>. Cependant, deux essais cliniques testant l'efficacité de deux inhibiteurs de HH (le saridegib et le vismodegib), n'ont montré aucune efficacité de ces molécules.

#### 1.13.4.3 *Thérapie ciblant la voie Phosphoinositide 3-Kinase/AKT/Mammalian Target Of Rapamycin (PI3K-Akt-mTor)*

Cette voie est physiologiquement impliquée dans la prolifération, la croissance et le cycle cellulaire. Une activation aberrante de récepteurs tyrosines kinases (RTK) tels que IGF-1 (insulin-like growth factor-1) et PDGFR- $\alpha/\beta$  (platelet-derived growth factor receptor) entraîne une activation constitutive de la voie PI3K-Akt-mTor impliquée dans la tumorigenèse de nombreux cancers. L'étude de Yi-Xiang Zhang<sup>93</sup> et *al* a montré une forte phosphorylation de la protéine ribosomale S6, marqueur de l'activation de la voie PI3K-Akt-mTor, dans 69% des chondrosarcomes conventionnels et 44% des chondrosarcomes dédifférenciés. De même, les auteurs ont observé qu'une inhibition des RTK aboutissait à une suppression de la phosphorylation d'Akt et de S6. Les études et essais cliniques testant l'efficacité des inhibiteurs de mTOR (évérolimus, sirolimus et temsirolimus) en mono ou bithérapie ont mis en évidence un blocage de la prolifération cellulaire<sup>94</sup> et un contrôle de la maladie avec une stabilisation ou une amélioration de l'état de patients atteints de chondrosarcomes dans 56%<sup>95</sup> et 70%<sup>96</sup> des cas.

#### 1.13.4.4 *Thérapie ciblant les agents anti-apoptotiques*

Une surexpression des protéines anti-apoptotiques telles que Bcl2, Bcl-xl ou Bcl-w peut entraîner des phénomènes de résistance au traitement. Une forte expression de la protéine Bcl2 a été observée dans les chondrosarcomes conventionnels suggérant son implication dans la physiopathologie de ces tumeurs. Sa surexpression ainsi que celle de la protéine Bcl-xl a été également observée dans des chondrosarcomes plus rares (chondrosarcomes dédifférenciés, méenchymateux et à cellules claires)<sup>97-99</sup>. Une étude réalisée *in vitro* par Van Oosterwijk et *al*<sup>99</sup> a montré que l'ABT-737, un traitement mimant le domaine BH3 et

inhibant les protéines Bcl2, Bcl-x1 et Bcl-w, sensibilisait la cellule chondrosarcomateuse à la chimiothérapie. A ce jour aucun essai clinique n'a été conduit.

#### 1.13.4.5 *Thérapie ciblant la voie Src*

Les protéines Src constituent une famille de tyrosines kinases jouant un rôle majeur dans la transduction des signaux provenant des récepteurs membranaires tyrosines kinases. Certaines ont déjà été observées dans de nombreux cancers, permettant la transmission de signaux impliqués dans la survie, la prolifération, la migration cellulaire et l'angiogenèse<sup>100</sup> (figure 21). Ces protéines, à activité oncogénique lorsqu'elles sont dérégulées, sont également activées dans de nombreux sarcomes (ostéosarcome, léiomyosarcome, fibrosarcome, sarcome d'Ewing) montrant leur probable implication dans le développement de ces tumeurs<sup>101,102</sup>. Des inhibiteurs des tyrosines kinases, tels que le dasatinib, ont ainsi été développés. Une étude préclinique a montré que le dasatinib a pour effet une limitation de la croissance tumorale et du développement métastatique<sup>101,103</sup>. L'essai clinique SARC009 réalisé avec cette même molécule et incluant des patients atteints de sarcomes de haut-grade à un stade avancé montre cependant une inefficacité de la molécule en monothérapie<sup>104</sup>.

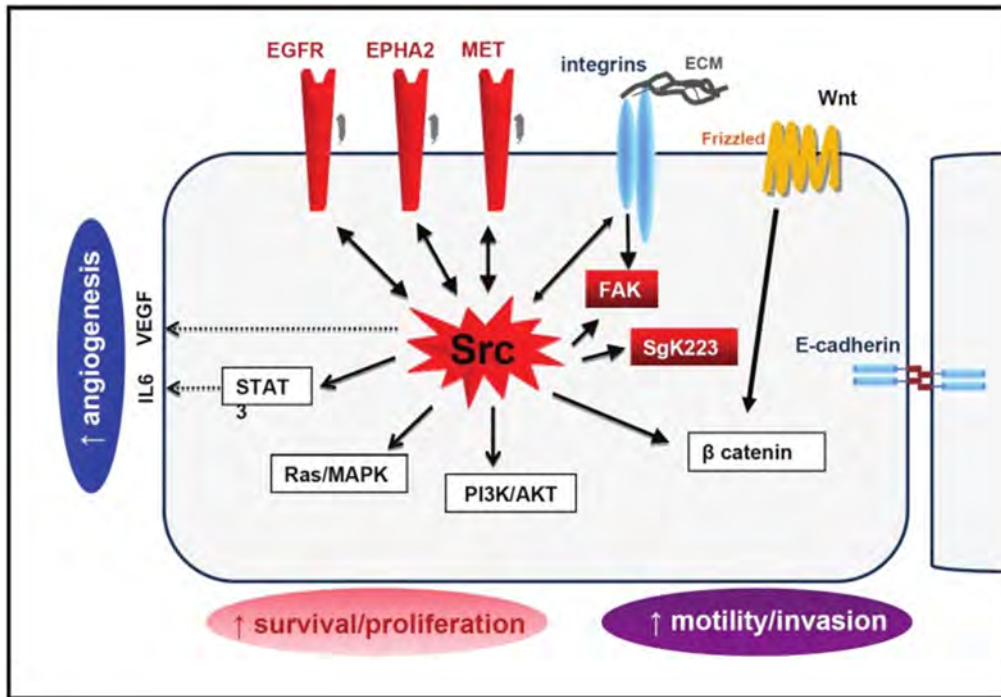


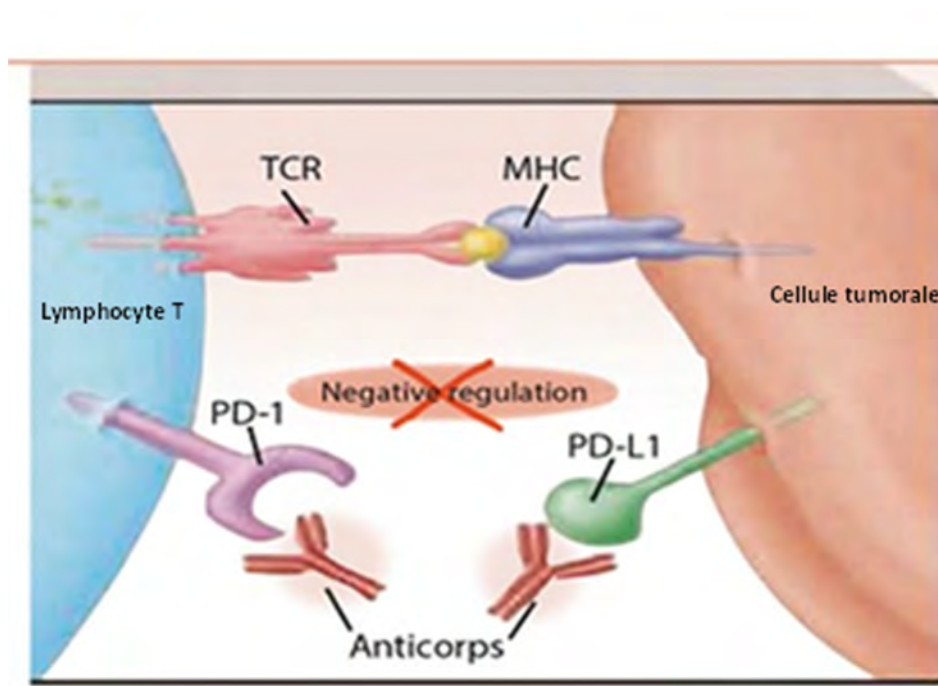
Figure 21. Voie de signalisation des protéines tyrosine- kinases Src dans la tumorigenèse. Dérégulation des protéines Src, activées par les récepteurs tyrosines kinases (RTK), avec activation des voies de signalisation PI3K (Phosphoinositide 3-Kinase )/Akt, Ras/MAPK (Mitogen-activated protein kinase), et des protéines STAT3 (Signal Transducers and Activators of Transcription) et  $\beta$  catenine. D'après Sirvent et *al*, Am J Cancer Res, 2012.

#### 1.13.4.6 Immunothérapie

Un nombre limité d'antigène cibles, tels que MAGE, NY-ESO-1, LAGE 1 et PRAME a été identifié dans les chondrosarcomes<sup>46,105-107</sup>. Les cellules T CD8+, spécifiquement dirigées contre ces antigènes entraînent in vitro une lyse des cellules chondrosarcomateuses.

D'autre part, la protéine PD-1 (Programmed cell death 1), présente à la surface du lymphocyte T, et son ligand PDL-1, présent à la surface de la cellule tumorale, jouent un rôle clé dans la suppression de la réponse immune cytotoxique. En effet, la liaison des deux molécules induit un effet inhibiteur sur le lymphocyte T. Le blocage de l'interaction entre la protéine PD-1 et son ligand a un effet anti-tumoral connu dans le traitement de tumeurs solides (mélanome, cancers pulmonaires, tumeurs rénales) à un stade avancé (figure 22). Une étude menée par

Kostine et *al* évaluant l'expression de PDL-1 dans une série de chondrosarcomes conventionnels, dédifférenciés, mésoenchymateux et à cellules claires, a mis en évidence une positivité du marqueur uniquement dans les chondrosarcomes dédifférenciés<sup>108</sup>. Les résultats préliminaires d'un essai en phase II (SARC028), testant le pembrolizumab, anticorps anti-PD1, chez des patients présentant un stade avancé de sarcome osseux et extra-osseux, montrent que 33% des patients atteints de sarcome pléomorphe indifférencié et de liposarcome dédifférencié ont vu une réduction de leur volume tumoral. Dans cet essai, un patient atteint d'un chondrosarcome dédifférencié sur les six inclus, a présenté une rémission partielle<sup>56</sup>.



**Figure 22. Voie d'inhibition de l'immunité anti-tumorale.** Reconnaissance par le récepteur à cellule T (TCR) de l'antigène tumoral associé au complexe majeur d'histocompatibilité (MHC), permettant l'activation du lymphocyte T. L'inhibition par un anticorps anti-PD1 (Programmed cell death 1) ou PDL-1 (Programmed death ligand 1) empêche la suppression de la réponse immune. D'après Ribas et *al* N Engl J Med 2012.

### **1.14 Objectifs de l'étude**

L'objectif principal de notre étude était d'évaluer la prévalence des mutations *IDH* dans notre cohorte toulousaine de chondrosarcomes en fonction de leur sous-type histologique, de leur grade et de leur localisation.

Dans un deuxième temps nous nous sommes intéressés à l'impact de ces mutations sur le pronostic, peu étudié à ce jour.

## 2 MATERIELS ET METHODES

### 2.1 Recueil des données cliniques

Nous avons analysé rétrospectivement 162 échantillons de tumeurs cartilagineuses bénignes et malignes, provenant de 139 patients recensés entre 2000 et 2017. Au final, le statut *IDH* a pu être déterminé pour seulement 92 échantillons.

Il s'agissait de cas essentiellement toulousains avec quelques échantillons provenant d'autres centres hospitaliers (CHU de Besançon et de Limoges) avec un diagnostic confirmé ou établi à Toulouse.

Les données cliniques ont été recueillies à l'aide des logiciels informatiques de traitement du dossier médical Orbis et DPI (Dossier Patient Informatisé). Les données histopathologiques ont été recueillies à l'aide des logiciels Apix et Diamic.

Pour chaque patient, les données suivantes ont été recueillies :

- Sexe
- Date de naissance
- Localisation, sous type histologique et grade du chondrosarcome
- Présence d'un antécédent de tumeur cartilagineuse bénigne solitaire ou multiple associée
- Age au diagnostic
- Date du diagnostic
- Date et type de la chirurgie : curetage ou chirurgie monobloc.

- Présence d'un traitement néoadjuvant et/ou adjuvant : chimiothérapie, radiothérapie, protonthérapie
- Type de chimiothérapie
- Evaluation de la réponse à la chimiothérapie en cas de chimiothérapie néoadjuvante.
- Evolution : rémission complète, récurrence locale ou à distance, décès
- Durée du suivi
- Existence de prélèvements cryopréservés.

## **2.2 Etude des mutations IDH**

### **2.2.1 Extraction de l'ADN**

L'extraction d'ADN génomique a été réalisée à partir de copeaux de tissus tumoraux fixés et inclus en paraffine (144 échantillons) ou cryopréservés (18 échantillons) à l'aide du robot extracteur Promega, après la réalisation des étapes de digestion et de préparation à l'extraction. Il a été utilisé un kit de purification « Maxwell® 16 FFPE Plus LEV DNA Purification Kit » selon les recommandations du fournisseur.

Les prélèvements paraffinés avaient fait l'objet avant leur inclusion, d'une décalcification à l'acide nitrique (10%) ou à partir d'une solution VWR® prête à l'emploi à base d'acide chlorhydrique.

#### **2.2.1.1 Digestion-Déparaffinage**

Pour chaque échantillon, 5 à 10 coupes de tissus de 10µm d'épaisseur ont été placées dans un tube Eppendorf, dans lequel a été ajouté 20µL de protéinase K 30 µM/mg et 180 µL de



tampon d'incubation. L'ensemble a ensuite été placé à 70°C toute une nuit ou durant 4 heures en agitant toutes les 30 minutes.

#### 2.2.1.2 *Extraction*

A la fin de la digestion, a été ajouté à chaque échantillon 400 µL de tampon de lyse. Les tubes ont été vortexés et placés à 70°C afin de faire fondre la paraffine, puis laissés à température ambiante afin de figer cette dernière au-dessus de l'échantillon.

L'ADN a ensuite été extrait de manière automatisée pour un volume d'élution finale de 60 µL.

Les ADN extraits ont été stockés dans des réfrigérateurs à une température de 4°C après le dosage de leur concentration par spectrofluorométrie (Qubit *invitrogen*).

### 2.3 Amplification par PCR en temps réel et HRM

#### 2.3.1 PCR en temps réel

Seuls les exons 4, comportant les codons 132 et 172 respectivement des gènes *IDH1* et *IDH2* ont été amplifiés. Cette amplification a été réalisée grâce à une réaction en chaîne par polymérase (PCR) en temps réel ou qPCR (PCR quantitative). Cette technique permet de suivre en temps réel l'amplification d'ADN grâce à l'incorporation d'un intercalant qui maximise sa fluorescence lorsqu'il est incorporé dans les matrices d'ADN double brin néo-synthétisées. Notre qPCR a été réalisée avec le kit ROCHE (Lightcycler® 480, High Resolution Melting Master), qui utilise un intercalant saturant.

Pour ce faire, un mélange réactionnel de 10 µL comprenant (par réaction) 6 µL d'un MasterMIX, 0,12 µL d'amorce sens *IDH1* (biotinylé) ou *IDH2* à 10 µM, 0,12 µL d'amorce

anti-sens IDH1 ou IDH2 (biotinylé) à 10  $\mu$ M, et 2,32  $\mu$ L d'H<sub>2</sub>O a été réalisé. A ces 10  $\mu$ L ont été rajoutés 2  $\mu$ L d'ADN.

Les conditions de la PCR étaient : 1 cycle de dénaturation à 95°C, 50 cycles d'amplification/quantification de 15 sec à 95°C – 15 sec à 65°C – 25 sec à 72°C, 1 cycle de fusion de 1 min à 95°C – 1 min à 40°C – 5 sec à 70°C - avec une augmentation lente de la température jusqu'à atteindre 95°C, 1 cycle de refroidissement 30 sec à 40°C.

Lors des cycles de PCR, les intercalants présents dans le MIX, ne se fixaient qu'à l'ADN double brin, ce qui permettait de majorer leur fluorescence.

La qPCR est caractérisée par l'existence de deux phases : une phase exponentielle durant laquelle la quantité d'ADN est doublée à chaque cycle, suivie d'une phase de plateau durant laquelle il existe une diminution progressive des réactifs d'amplification. Les données de fluorescences sont collectées à la fin de chaque cycle de la PCR et représentent la quantité de produits amplifiés à cet instant. Plus la quantité d'ADN initiale est importante, moins il faut de cycles pour atteindre un point pour lequel le signal fluorescent est significativement supérieur au bruit de fond. Ce point est défini comme le Ct (Cycle threshold) et apparaît en début de phase exponentielle.

Les échantillons présentant un Ct supérieur à 35 ont été considérés comme non analysables.

Tous les échantillons ont été analysés en duplicat et chaque réaction comportait des témoins positifs mutés et négatifs sauvages.

### 2.3.2 HRM

A la fin de la PCR en temps réel, a été réalisée une courbe de fusion haute résolution ou High Resolution Melting (HRM). Lors de cette étape les amplicons ont progressivement été dénaturés entraînant une perte de fluorescence.

La dénaturation de l'ADN a initialement été obtenue par une augmentation brutale de la température à 95°C suivie d'une renaturation à 40°C favorisant la formation d'hétéroduplex (hybridation brin muté-brin sauvage). A la phase de dénaturation suivante, ces hétéroduplex, du fait de leurs mésappariements, présentaient une dénaturation précoce avec un  $T_m$  (température de fusion) moins élevé que pour un homoduplex wild-type, signant la présence d'une mutation (le  $T_m$  étant la température à laquelle 50% de l'ADN est dénaturé).

Cette mutation a été ainsi repérée par une modification de la cinétique de la fluorescence par rapport à un témoin non muté. L'enregistrement de l'intensité de la fluorescence en fonction de la température est appelé courbe de fusion.

Les courbes de fusion ont été analysées avec le logiciel Lightcycler® 480. Parmi nos échantillons seuls les profils HRM mutés (figure 23) ou douteux ont été séquencés afin de caractériser les mutations. Les échantillons aux profils non mutés ont été considérés comme sauvages.

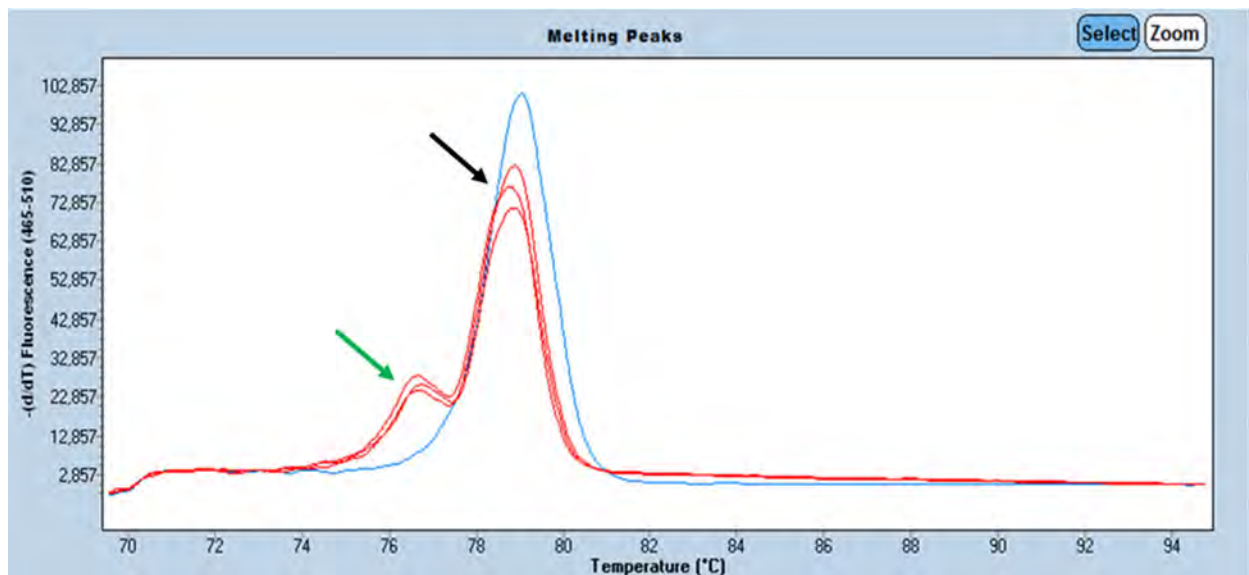


Figure 23. Courbe de fusion. Exemple de profil HRM *IDH1* muté.

Courbe bleue : témoin wild-type. Courbes rouges : Témoin muté *IDH1* + patient analysé en duplicat. Présence sur le témoin muté et le patient analysé d'un double pic correspondant à une dissociation en deux temps (flèches) et signant la présence d'une mutation. Le premier pic (flèche verte) correspond à une dénaturation précoce de la zone mutée.

## 2.4 Pyroséquençage

Il s'agit d'un séquençage direct d'une courte séquence d'ADN biotinylé, dont le principe correspond à l'incorporation de nucléotides dans un ordre déterminé (ordre de dispensation).

Ce séquençage permet d'étudier 24 échantillons en une courte durée (15-20 min)

Notre pyroséquençage a été réalisé à l'aide du kit Pyromark de Qiagen.

### 2.4.1 Réaction d'immobilisation et préparation du MIX

Il était nécessaire de réaliser en premier lieu une réaction d'immobilisation de l'ADN à la streptavidine. Cette réaction comprenait pour un tube, 28  $\mu$ L d'eau purifiée, 40  $\mu$ L de Pyromark binding buffer, 2  $\mu$ L de billes de streptavidine (Sepharose High performance), 10

$\mu\text{L}$  de PCR. Les prélèvements ont ensuite été placés sur un agitateur durant 30 min à 1400 rpm.

Parallèlement, 25  $\mu\text{L}$  d'un MIX comprenant pour un échantillon 24,2  $\mu\text{L}$  de Pyromark annealing et 0,8  $\mu\text{L}$  d'amorce de séquençage IDH1 ou IDH2 10  $\mu\text{M}$ , ont été déposés dans chaque puit de la plaque du run (1 plaque comprenant 24 puits).

Par l'intermédiaire d'une « station de travail », l'ADN biotinylé capturé et fixé sur les billes lors de la réaction d'immobilisation, a été dénaturé à la soude (passage d'un ADN double brin à un ADN simple brin et élimination du brin non biotinylé), lavé et élué dans le tampon d'annealing contenant l'amorce de séquençage (*IDH1* ou *IDH2*). La plaque a ensuite été chauffée 2 min à 80°C puis laissée à température ambiante durant 15 min afin de permettre une hybridation spécifique des amorces. Les échantillons de la plaque ont ensuite été séquencés.

#### 2.4.2 Pyroséquençage

Seules les positions c.394 et c.395 du codon 132 du gène *IDH1*, ainsi que les positions c.514, c.515 et c.516 du codon 172 du gène *IDH2* ont été explorées.

##### Principe du pyroséquençage :

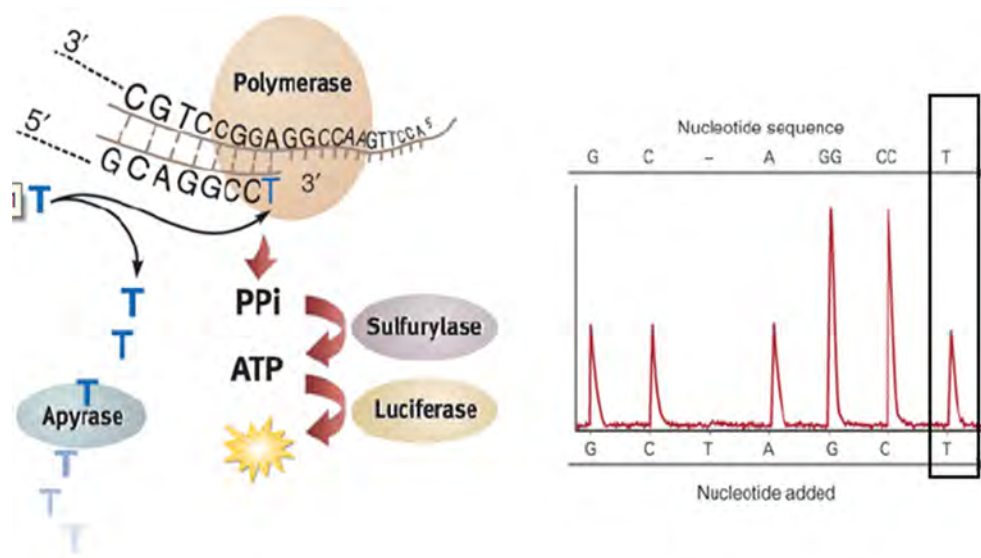
Lors du séquençage, si un nucléotide est incorporé dans le brin en cours de synthèse, un pyrophosphate est libéré.

Ce pyrophosphate est alors transformé en ATP par une ATP sulfurylase. Cet ATP est utilisé par une luciférase pour produire un signal lumineux.

Le pyroséquenceur capte ce signal et le transforme en pic sur un pyrogramme, dont la taille correspond au nombre d'un même nucléotide incorporé.

Les nucléotides non incorporés ou en excès sont dégradés par une apyrase (figure 24).

Lors des pyroséquençages, chaque patient a été analysé en duplicat et pour chaque plaque, un témoin positif muté, négatif sauvage et un témoin nul (sans ADN) ont également été analysés.



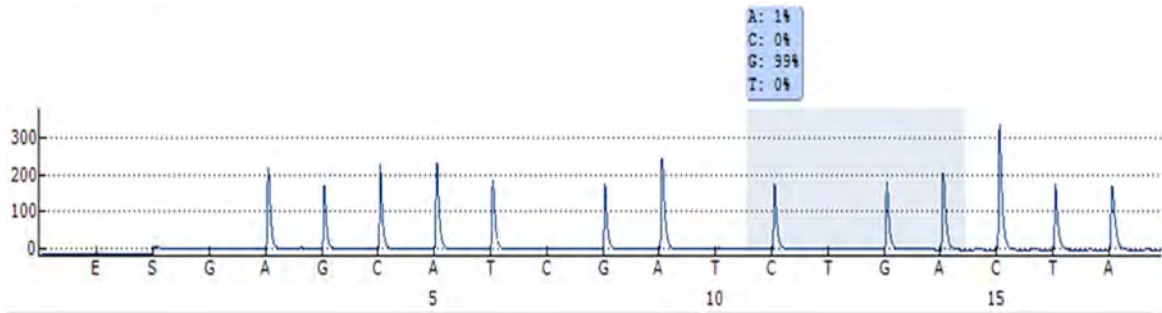
**Figure 24. Principe du pyroséquençage**

Les pyrogrammes ont été analysés à l'aide du logiciel Pyromark Q24 2.0.6 (figure 25)

Les loci étudiés correspondent aux mutations :

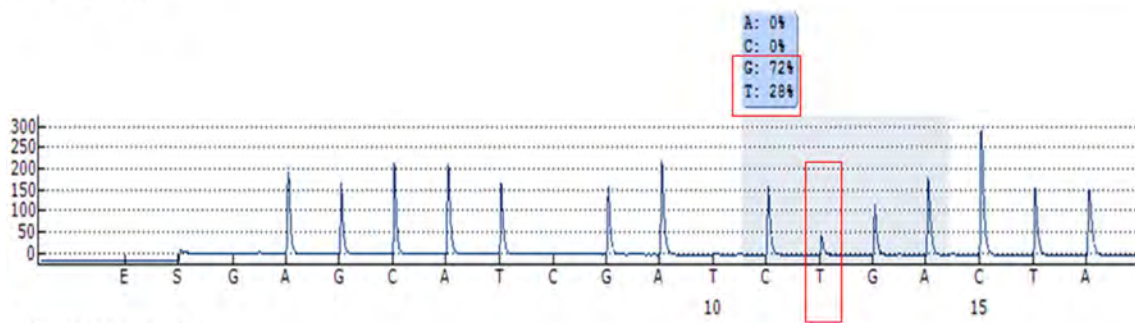
- IDH1 : c.395 : R132H (c.395 G>A), R132L (c.395 G>T)  
c.394 : R132C (c.394 C>T), R132S (c.394 C>A), R132G (c.394 C>G)
- IDH2 : c.516 : R172S (c.516 G>C) ou (c.516 G>T)  
c.515 : R172K (c.515 G>A), R172M (c.515 G>T)  
c.514 : R172G (c.515 A>G), R172W (c.515 A>T)

B2 AGCATGACNACCTAT



Pyrogramme A

A4 AGCATGACNACCTAT



Pyrogramme B

Figure 25. Exemple de pyrogramme : analyse du gène *IDH1*.  
Pyrogramme A : patient non muté ; pyrogramme B : patient muté R132S c.394 C>A

## **2.5 Analyses statistiques**

Les résultats sont présentés sous forme de médiane (1<sup>er</sup>-3<sup>ème</sup> quartile) ou de moyenne  $\pm$  écart-type. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel GraphPadPrism (version 5.00). Les variables qualitatives ont été comparées avec le test de  $\chi^2$ . Les variables quantitatives ont été comparées en utilisant le test de Mann-Whitney. Pour comparer les courbes de survie, nous avons utilisé le test du log-rank.

Les résultats ont été considérés comme significativement différents pour  $P < 0,05$ .



## **3 RESULTATS**

### **3.1 Données clinico-pathologiques**

#### **3.1.1 Données épidémiologiques de l'ensemble de la cohorte**

Notre cohorte incluait 162 échantillons de tumeurs cartilagineuses bénignes et malignes, provenant de 139 patients recensés entre 2000 et 2017.

Les patients étaient âgés de 9 à 91 ans avec un âge médian de 52 ans. Le nombre d'hommes et de femmes était équivalent avec un suivi médian de 33 mois (0 à 370 mois).

Nos échantillons étaient composés de 139 tumeurs primaires (tableau 2), comprenant 116 chondrosarcomes et 23 tumeurs cartilagineuses bénignes. Parmi les 116 chondrosarcomes, il y avait parmi elles 7 chondrosarcomes secondaires centraux dont 3 étaient développés sur enchondromes solitaires et 4 développés sur enchondromatose. On notait 17 chondrosarcomes secondaires périphériques dont 8 étaient développés sur ostéochondrome solitaire et 9 sur maladie exostosante. Enfin, concernant les 23 tumeurs cartilagineuses bénignes, on distinguait 20 enchondromes et 3 ostéochondromes. Notre cohorte comprenait également 21 tumeurs récidivantes, à savoir 18 récurrences locales et 3 récurrences métastatiques. Enfin, deux tumeurs cartilagineuses initialement étiquetées enchondromes ont secondairement évolué vers un chondrosarcome.

Les tumeurs se localisaient principalement au niveau des os longs (39,6% soit 55 sur 139), des os plats (20,1% soit 28 sur 139), du bassin (14,4% soit 20 sur 139) et des extrémités distales (9,6% soit 13 sur 139). Elles mesuraient en moyenne 7,5 cm de grand axe (entre 1 et 25 cm).

Cent-trente patients ont été traités chirurgicalement : 46 (33,1%) par curetage et 84 (60,4%) par exérèse monobloc de la tumeur. Six patients (5,2%) ont également bénéficié d'un traitement néoadjuvant par chimiothérapie +/- radiothérapie et 8 patients (6,9%) d'un

traitement adjuvant par chimiothérapie +/- radiothérapie. Les traitements adjuvants et néo-adjuvants étaient essentiellement réservés aux patients atteints de chondrosarcomes dédifférenciés et mésoenchymateux et aux patients présentant un stade avancé de la maladie.

Aucun des patients ayant reçu un traitement néo-adjuvant n'a présenté de réponse histologique.

Critères clinico-histopathologiques	Ensemble de la population (n=139)	Patients inclus (tumeurs analysables) (n=74)	Patients exclus (tumeurs non analysables) (n=65)
<b>Sexe : Homme (%)</b>	70 (50,3%)	44 (59,5%)	26(40%)
<b>Age médian au diagnostic (ans)</b>	52 (38,5-64,5)	54 (36,5-66)	52 (40-61)
<b>Sous type histologique</b>			
CC	79 (56,8%)	45 (60,8%)	34 (52,3%)
CSC	7 (5%)	3 (4%)	4 (6,1%)
CSP	17 (12,2%)	6 (8,1%)	11 (16,6%)
CM	2 (1,4%)	1 (1,3%)	1 (1,5%)
CD	9 (6,5%)	5 (6,7%)	4 (6,1%)
CCC	1 (0,7%)	1 (1,3%)	0
CP	1 (0,7%)	1 (1,3%)	0
Tumeurs cartilagineuses bénignes	23 (16,5%)	12 (16,2%)	11 (16,6%)
<b>Grade*/**</b>			
Grade 1	37 (35,6%)	18 (32,7%)	19 (38,8%)
Grade 2	62 (59,6%)	33 (60%)	29 (59,2%)
Grade 3	5 (4,8%)	4 (7,3%)	1 (2%)
<b>Localisation</b>			
Os longs	55 (39,6%)	24 (32,4%)	31 (47,7%)
Bassin	20 (14,4%)	14 (18,9%)	6 (9,2%)
Extrémités distales	13 (9,6%)	10 (13,5%)	3 (4,6%)
Os plats	28 (20,1%)	15 (20,3%)	13 (20%)
Cranio-faciale	8 (5,6%)	5 (6,7%)	3 (4,6%)
Rachis	8 (5,6%)	3 (4%)	5 (7,7%)
ORL	7 (5%)	3 (4%)	4 (6,1%)
<b>Taille de la tumeur (cm)</b>	7,5 ± 4,4	8,5 ± 4,2	7,8 ± 4,5
<b>Tumeur localisée*</b>	81 (69,8%)	36 (58,1%)	45 (83,3%)
<b>Métastase au diagnostic (%)*</b>	4 (3,4%)	4 (6,5%)	0
<b>Récidive locale (%)*</b>	13 (11,2%)	6 (9,8%)	7 (10,8%)
<b>Traitement de la tumeur primaire</b>			
<b>Traitement chirurgical</b>			
Curetage	46 (33,1%)	23 (31,1%)	23 (35,4%)
Exérèse monobloc	84 (60,4%)	44 (59,4%)	40 (61,5%)
Absence de traitement chirurgical	5 (3,6%)	4 (5,4%)	1 (1,5%)
ND	4 (2,9%)	3 (4%)	1 (1,5%)
<b>Traitement néoadjuvant*</b>			
Chimiothérapie	5 (4,3%)	3 (4,8%)	2 (3,7%)
Radiothérapie			
CT + RT	1 (0,9%)	1 (1,6%)	
<b>Traitement adjuvant*</b>			
Chimiothérapie	4 (3,4%)	3 (4,8%)	1 (1,9%)
Radiothérapie	2 (1,7%)	2 (3,2%)	
CT + RT	1 (0,9%)	1 (1,6%)	
ND traitement néoadjuvant/adjuvant*	19 (16,4%)	12 (19,3%)	7 (11,9%)
<b>Suivi médian (mois)</b>	33 (9-67)	28 (6,2-64,7)	39 (12-69)

**Tableau 4. Caractéristiques clinico-histopathologiques de l'ensemble de la cohorte**

\*Critères concernant uniquement la population chondrosarcomateuse. \*\*Critères concernant uniquement les CC, CSC, CSP, CP et CD. CC : chondrosarcomes conventionnels; CSC : chondrosarcomes secondaires centraux; CSP : chondrosarcomes secondaires périphériques; CM : chondrosarcomes mésoenchymateux; CD : chondrosarcomes différenciés; CCC : chondrosarcomes à cellules claires; CP : chondrosarcomes périostés; CT : chimiothérapie; RT : radiothérapie; ND : non déterminé; n : nombre

### 3.1.2 Données épidémiologiques de la population chondrosarcomateuse

#### ***Localisation***

Concernant la population chondrosarcomateuse, l'étude a montré une corrélation entre certains sous-types de chondrosarcomes et leur localisation anatomique.

Les CSC (chondrosarcomes secondaires centraux) se localisaient préférentiellement aux extrémités distales ( $p < 0,05$ ) comparés aux CC (chondrosarcomes conventionnels) et aux CSP (chondrosarcomes périphériques centraux). Les CSP se localisaient, eux, préférentiellement au niveau du bassin ( $p < 0,05$ ).

#### ***Grade***

Là encore, il a été mis en évidence une corrélation ( $p < 0,05$ ) entre le type de chondrosarcome et son grade. Les chondrosarcomes conventionnels et secondaires centraux étaient majoritairement de grade 2 de O'Neal & Ackerman tandis que les chondrosarcomes secondaires périphériques étaient le plus souvent de grade 1.

#### ***Récidive locale et/ou à distance - Mortalité***

Le taux de récurrence locale et/ou à distance était de 21,5% (25 sur 116) dans un délai médian de 17,5 mois (entre 4 et 88 mois).

Concernant l'apparition de métastase, elle était significativement ( $p = 0,02$ ) plus fréquente chez les patients atteints de chondrosarcomes dédifférenciés (33,3% soit 3 sur 9) et conventionnels (12,7% soit 10 sur 79) que chez ceux atteints de chondrosarcomes secondaires périphériques

(0/17). Les CD (chondrosarcomes dédifférenciés) présentaient par ailleurs un taux de décès plus important ( $p=0,008$ ) atteignant les 55,5% (5 sur 9). La mortalité était de 13,8% (16 sur 116) pour l'ensemble de la population chondrosarcomateuse.

### ***Comparaison chondromes-chondrosarcomes***

Les tumeurs cartilagineuses bénignes touchaient des patients plus jeunes ( $p < 0,0001$ ) avec une moyenne d'âge de  $37 \pm 14,56$  ans contre  $54,09 \pm 18,84$  ans pour les patients atteints de chondrosarcomes.

De même on observait une répartition différente des chondromes qui se localisaient préférentiellement au niveau des extrémités distales ( $p=0,003$ ) alors que les chondrosarcomes touchaient plus fréquemment les os longs ( $p=0,006$ ).

### **3.2 Analyse mutationnelle**

Sur les 162 échantillons, seuls 92 ont pu bénéficier d'une analyse des gènes *IDH1* et *IDH2*. Les 70 échantillons restant présentaient un profil HRM correspondant à un ADN dégradé ou en quantité insuffisante. Une analyse par pyroséquençage n'a donc pas été réalisée sur ces cas. Les échantillons analysables étaient composés de 74 tumeurs primaires (tableau 2), comprenant 62 chondrosarcomes et 12 tumeurs cartilagineuses bénignes, et de 18 tumeurs récidivantes.

Parmi les chondrosarcomes il y avait 3 chondrosarcomes secondaires centraux tous développés sur maladie d'Ollier et 6 chondrosarcomes secondaires périphériques dont 2 étaient développés sur exostoses solitaires et 4 sur maladie exostosante. Les tumeurs

cartilagineuses bénignes comprenaient 10 enchondromes solitaires, 1 ostéochondrome solitaire et 1 enchondrome dans le cadre d'une maladie d'Ollier.

En ce qui concerne les tumeurs récidivantes, 18 ont pu être analysées, correspondant à 3 métastases et 15 récurrences locales provenant de 13 patients différents.

### 3.2.1 Répartition des mutations *IDH*

Sur les 74 tumeurs primaires examinées, 40 soit 54% se sont révélées être porteuses d'une mutation *IDH1* ou *IDH2* (Tableau 3). Les mutations *IDH1* étaient prédominantes, représentant 37,8% (28 sur 74) contre 16,2 % (12 sur 74) pour les mutations *IDH2*. Ces mutations intéressaient 54,8% des chondrosarcomes (34 sur 62) et 50% des tumeurs cartilagineuses bénignes (6 sur 12), correspondant à 5 enchondromes solitaires et 1 enchondrome de maladie d'Ollier.

La mutation *IDH1* R132C était la plus représentée des 7 mutations analysées (Figure 26). Elle était retrouvée dans 42,5 % (28 sur 40) des cas mutés et dans 60,7 % (17 sur 28) des cas mutés *IDH1*.

Nous avons par ailleurs mis en évidence une double mutation *IDH1* R132S/*IDH1* R132L chez l'un de nos patients. Il s'agissait d'un patient de 89 ans atteint d'un chondrosarcome conventionnel de grade 2 localisé au niveau de la scapula. Malheureusement l'absence de suivi de ce patient n'a pas permis de connaître son évolution.

A noter qu'il n'y avait aucune différence entre l'âge et la répartition homme/femme des patients de cette population par rapport à l'ensemble de la cohorte.

## Mutations IDH

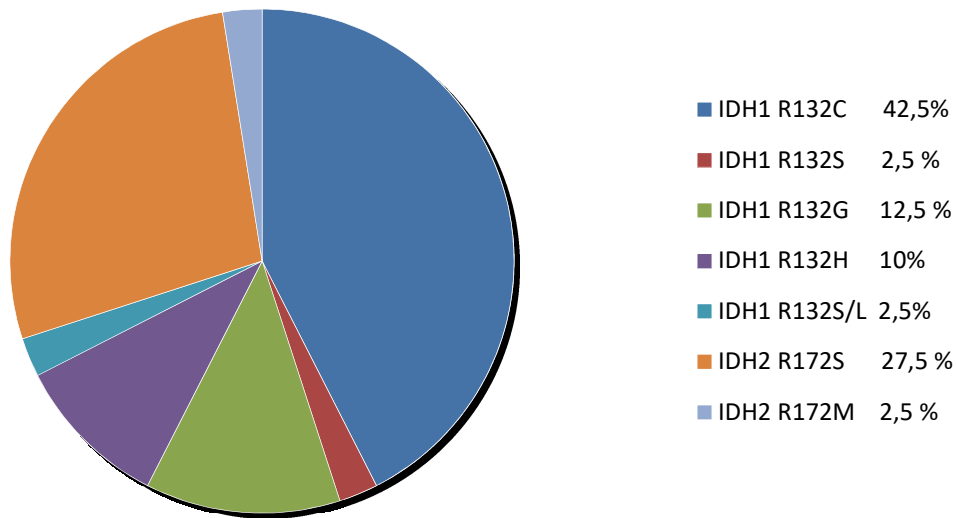


Figure 26. Répartition des mutations *IDH* sur les 40 échantillons mutés

### 3.2.2 Sous-type et grade histologique

Nous n'avons retrouvé aucune corrélation significative entre la présence de mutations *IDH* et le sous type histologique de la tumeur en ce qui concerne les chondromes, les CC, les CSP et les CD. Cependant tous les cas de chondrosarcomes développés sur maladie d'Ollier (n=3) présentaient tous la mutation *IDH1R132C* (tableau 3). Le seul enchondrome de maladie d'Ollier analysé présentait également cette mutation.

Le seul enchondrome solitaire à l'origine d'un chondrosarcome secondaire central examiné n'était pas muté. Malheureusement la tumeur maligne n'a pas pu être analysée compte tenu de la dégradation de son ADN.

Enfin nous avons observé une mutation *IDH2 R172S* sur 1/17 cas de chondrosarcomes secondaires périphériques.

Concernant le grade tumoral, il n'était pas impacté par le statut mutationnel.

	IDH 1						IDH 2			WT (n=34)
	Mutations IDH1 totales (n=28)	R132C (n=17)	R132S (n=1)	R132G (n=5)	R132H (n=4)	R132S /R132L (n=1)	Mutations IDH2 totales (n=12)	R172S (n=11)	R172M (n=1)	
<b>Sexe : Homme</b>	<b>18 (64,3%)</b>	11 (64,7%)	0	3 (60%)	3 (75%)	1 (100%)	<b>8 (66,7%)</b>	7 (63,6%)	1 (100%)	<b>18 (52,9%)</b>
<b>Age au diagnostic (ans)</b>	<b>57 (43-62,5)</b>	59 (47-64)	87	44 (42-57)	35,5 (22,5-38,5)	89	<b>52,5 (35-64)</b>	45 (31-66)	60	<b>51 (31-70,5)</b>
<b>Ss type histologique</b>										
CC	<b>17 (60,7%)</b>	10 (58,8%)	1 (100%)	3 (60%)	2 (50%)	1 (100%)	<b>10 (83,3%)</b>	9 (81,8%)	1 (100%)	<b>18 (52,9%)</b>
CSC	<b>3 (10,7%)</b>	3 (17,6%)					<b>1 (8,3%)</b>	1 (9,1%)		<b>5 (14,7%)</b>
CSP										<b>1 (2,9%)</b>
CM										<b>2 (5,9%)</b>
CD	<b>3 (10,7%)</b>	2 (11,8%)		1 (20%)						<b>1 (2,9%)</b>
CCC										<b>1 (2,9%)</b>
CP										<b>1 (2,9%)</b>
Chondromes	<b>5 (17,9%)</b>	2 (11,8%)		1 (20%)	2 (50%)		<b>1 (8,3%)</b>	1 (9,1%)		<b>6 (17,6%)</b>
<b>Grade */**</b>										
Grade 1	<b>5 (21,7%)</b>	4 (26,7%)		1 (25%)			<b>3 (27,3%)</b>	3 (30%)		<b>10 (38,5%)</b>
Grade 2	<b>14 (60,9%)</b>	9 (60%)		2 (50%)	2 (100%)	1 (100%)	<b>6 (54,5%)</b>	6 (60%)		<b>13 (50%)</b>
Grade 3	<b>4 (17,4%)</b>	2 (13,3%)	1 (100%)	1 (25%)			<b>2 (18,2%)</b>	1 (10%)	1 (100%)	<b>3 (11,5%)</b>
<b>Localisation</b>										
Os longs	<b>12 (42,8%)</b>	8 (47%)	1 (100%)	2 (40%)	1 (25%)		<b>4 (33,3%)</b>	3 (27,3%)	1 (100%)	<b>8 (23,5%)</b>
Bassin	<b>5 (17,9%)</b>	2 (11,8%)		1 (20%)	2 (50%)		<b>3 (25%)</b>	3 (36,3%)		<b>6 (17,6%)</b>
Extrémités distales	<b>7 (25%)</b>	4 (23,5%)		2 (40%)	1 (25%)					<b>3 (8,8%)</b>
Os plats	<b>2 (7,1%)</b>	1 (5,9%)				1 (100%)	<b>1 (8,3%)</b>	1 (9,1%)		<b>12 (35,2%)</b>
Cranio-faciale	<b>1 (3,6%)</b>	1 (5,9%)					<b>2 (16,7%)</b>	2 (18,2%)		<b>2 (5,9%)</b>
Rachis	<b>1 (3,6%)</b>	1 (5,9%)					<b>1 (8,3%)</b>	1 (9,1%)		<b>1 (2,9%)</b>
ORL							<b>1 (8,3%)</b>	1 (9,1%)		<b>2 (5,9%)</b>
<b>Métastase au diagnostic *</b>	<b>1 (4,3%)</b>	1 (6,7%)	0%	0%	0%	0%	<b>1 (9,1%)</b>	0%	1 (100%)	<b>2 (7%)</b>
<b>Récidive locale*</b>	<b>2 (8,7%)</b>	1 (6,7%)	0	0	1 (50%)	0	<b>3 (27,3%)</b>	3 (30%)	0	<b>1 (3,6%)</b>
<b>Suivi médian (mois)</b>	<b>27 (5,7-73)</b>	35 (18-100)	14	25 (0-28)	32 5(5,7-136)	1	<b>46,5 (12,2-74,7)</b>	58 (10,5-83,5)	31	<b>27 (4,7-52,7)</b>

**Tableau 3. Caractéristiques clinico-histopathologiques corrélées au statut IDH.**

\*Critères concernant uniquement la population chondrosarcomateuse. \*\*Critères concernant uniquement les CC, CSC, CSP, CP et CD. CC : chondrosarcomes conventionnels; CSC : chondrosarcomes secondaires centraux ; CSP : chondrosarcomes secondaires périphériques ; CM : chondrosarcomes mésenchymateux ; CD : chondrosarcomes dédifférenciés ; CCC : chondrosarcomes à cellules claires ; CP : chondrosarcomes périostés ; WT = wild-type.



### 3.2.3 Localisation tumorale

Nous avons observé une corrélation entre le statut *IDH* et la localisation tumorale en ce qui concerne les chondrosarcomes des os plats et des os longs.

Les chondrosarcomes *IDH*-wt (wild-type/sauvage) se localisaient préférentiellement au niveau des os plats ( $p=0,0018$ ), tandis les chondrosarcomes *IDH* muté se localisaient essentiellement au niveau des os longs ( $p=0,035$ ) (figure 27).

Il n'a été retrouvé aucune différence significative pour les CS d'autres localisations.

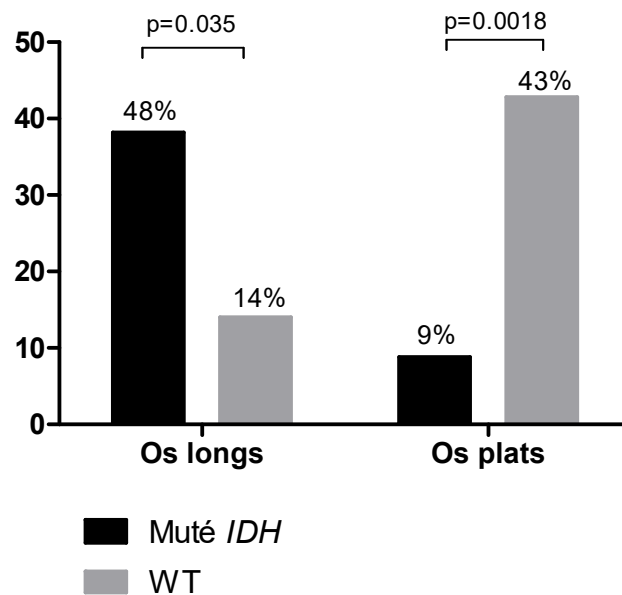


Figure 26. Corrélation entre la localisation tumorale et le statut *IDH* des CS des os longs et des os plats

### 3.2.4 Récidives locales et/ou métastatiques

L'étude individuelle de la tumeur primaire et récidivante de 13 patients, dont 10 analysables, a montré une différence de statut mutationnel dans 7 cas (tableau 4). Ainsi, sur 8 patients ayant eu des tumeurs primaires *IDH* muté, 3/8 ont présenté une métastase ou une récidive locale portant la même mutation (n°2, n°6, et n°13). Les 5 patients restant ont présenté des récidives locales WT. De même, sur les 3 tumeurs primaires initialement WT, 2 ont présenté des récidives locales mutées *IDH1*R132G (n°9) et *IDH2* R172S (n°8). Le patient n°8 présentait également une métastase pulmonaire de génotype WT

Pour les 8 patients présentant une modification de leur statut mutationnel lors des récidives, 4/8 ont vu une modification de leur grade tumoral (n°1, 3, 4 et 9). Notons que le cas n°4 présentait une tumeur initiale mixte composée d'un CC de grade 2 et d'un chondrosarcome à cellules claires. Sa récidive locale était, elle, composée d'un contingent à cellules claires et d'un contingent dédifférencié.

Cas	Nombre d'échantillons	Tumeur primaire grade-statut mutationnel	Tumeur récidivante grade-statut mutationnel
1	2	G2-IDH2 R172S	G3-WT
2	2	G3-IDH2 R172S	G3-IDH2 R172S
3	4	G2-IDH2 R172S	G2+G3-WT
4	2	G2-IDH1 R132G	CCC+CD-WT
5	2	G2-IDH1 R132C	G2-WT
6	2	G1-IDH1 R132C	M-IDH1 R132C
7	2	G2-IDH1 R132H	G2-WT
8	3	G2-WT	G2-IDH2 R172S ; M-WT
9	2	G2-WT	G1-IDH1 132G
10	3	G2-NA	G3-WT
11	3	G1-NA	CD-WT ; Ostéo-WT
12	2	G2-NA	G2-IDH1 R132G
13	2	G2-IDH1 R132C	M-IDH1 R132C

**Tableau 4. Statut mutationnel des tumeurs primaires et de leurs récidives.**

**G : grade ; CCC : chondrosarcome à cellules claires ; CD : chondrosarcome dédifférencié ; WT : wild-type ; M : métastase ; Ostéo : ostéosarcome ; NA : non analysable**

Il n'a pas été retrouvé d'impact des mutations *IDH* sur la prévalence des récurrences locales (tableau 2) ( $p=0,15$ ) ou des métastases (tableau 5) ( $p=0,77$ ) par rapport aux tumeurs sauvages.

	Mutations	Tumeurs localisées	Tumeurs métastatiques	ND
<b>IDH1</b>	<b>Mutations <i>IDH1</i> toutes confondues (n=23)</b>	<b>13 (56,5%)</b>	<b>7 (30,4%)</b>	<b>3 (13%)</b>
	R132C (n=15)	10 (66,7 %)	4 (26,7%)	1 (6,7%)
	R132S (n=1)		1 (100%)	
	R132G (n=4)	1 (25%)	2 (50%)	1 (25%)
	R132H (n=2)	2 (100%)		
	R132S /R132L (n=1)			1 (100%)
<b>IDH2</b>	<b>Mutations <i>IDH2</i> toutes confondues (n=11)</b>	<b>6 (54,5%)</b>	<b>3 (27,3%)</b>	<b>2 (18,2%)</b>
	R172S (n=10)	6 (60%)	2 (20%)	2 (20%)
	R172M (n=1)		1 (100%)	
<b>WT (n=28)</b>		<b>16 (57,1%)</b>	<b>6 (21,4%)</b>	<b>6 (21,4%)</b>

**Tableau 5. Nombre de cas métastatiques *IDH* muté versus wild-type.**  
**WT : wild-type ; ND : non déterminé**

### 3.2.5 Etude de la survie de la population chondrosarcomateuse

Notre étude n'a pas permis de mettre en évidence de corrélation ( $p=0,31$ ) entre les survies sans récurrence des patients *IDH* muté et des patients WT (figure 28).

34,8% (8/23) des patients mutés *IDH1*, 36,4% (4/11) des patients mutés *IDH2* et 14,3 % (4/28) des patients WT ont présenté des récurrences locales ou/et à distance. La durée de suivi médian avant l'apparition d'une récurrence était de 14 mois (de 4 à 88 mois).

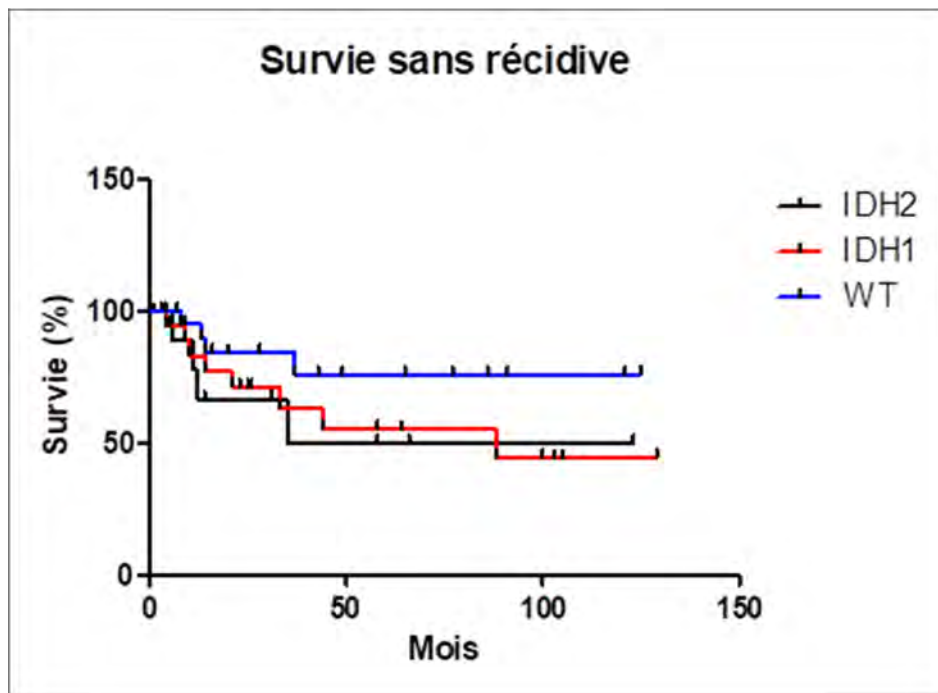


Figure 28. Survie sans récurrence des patients *IDH* muté et wild-type ( $p = 0,31$ )

L'étude des patients métastatiques n'objectivait pas non plus de différence ( $p=0,89$ ) de survie sans progression entre les patients *IDH* muté et les patients WT (figure 29)

30,4% (7/23) des patients *IDH1* muté, 18,2% (2/11) des patients *IDH2* muté et 21,4% (6/28) patients non mutés ont présenté une maladie métastatique. Sur ces 15 patients, 4 (2 patients *IDH* muté et 2 patients *IDH* non muté) étaient métastatiques au diagnostic (tableau 6).

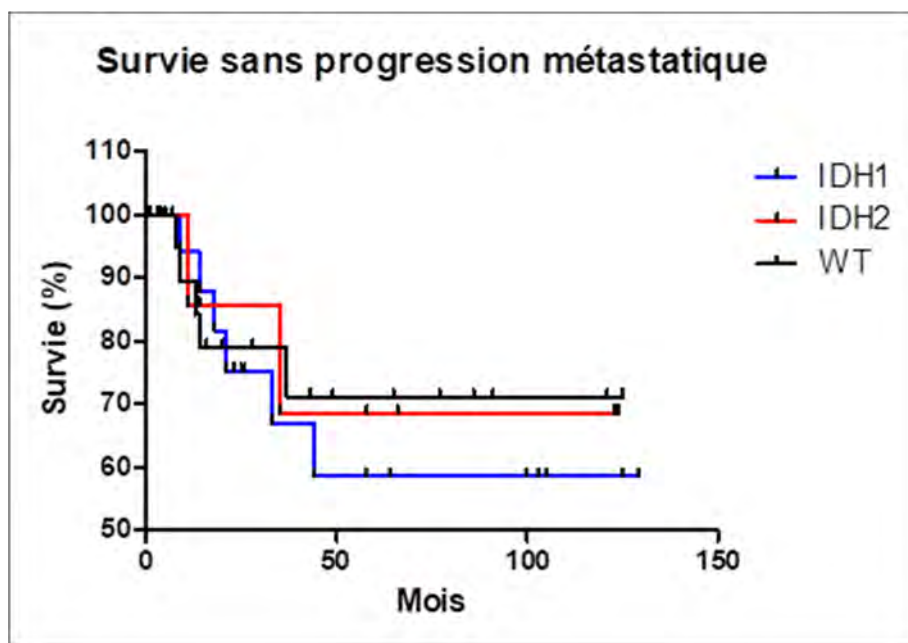


Figure 29. Survie sans progression métastatique des patients *IDH* muté et wild-type ( $p = 0,89$ )

Cas	Sexe	Age au diagnostic (ans)	Sous- type histologique	Grade	Localisation	Taille (cm)	Mutation tumeur primaire	Méta au diagnostic	Récidive/ Progression	Site métastatique	Mutation de la métastase	Délais récidive (mois)	Traitement 1 <sup>ère</sup> intention	Traitement 2 <sup>nd</sup> intention	Dernier statut
1	H	45	CC	G2	Ischion Gch	10	IDH2 R172S	Non	L+D	Poumon	ND	11	EM	Chir+ CT+ RT	Décès
2	H	60	CC	G3	Fémur Gch	13	IDH2 R172M	Oui	L+D	Poumon	ND		EM	CT+RT	Décès
3	H	44	CC	G2	Fémur Dt	15	IDH1 R132G	Non	L + D	Poumon	ND	14	EM	Chir+ CT+RT	Décès
4	F	87	CC	G3	Humérus Dt	13	IDH1 R132S	Non	L+D	Poumon	ND	9	EM	RT	Décès
5	F	57	CC	G2	Costale Gch	8,5	IDH1 R132C	Oui	L+D	Poumon +Os	IDH1 R132C	10	EM	Chir+CT+ RT	Décès
6	H	66	CC	G2	Métatarse pied Dt	5	IDH1 R132C	Non	D	Poumon	ND	33	EM	Chir	Vivant
7	F	58	CSC (sur MO)	G2	Fémur	ND	IDH1 R132C	Non	D	Poumon	ND	21	EM	CT	Décès
8	H	47	CSC (sur MO)	G1	2 <sup>ème</sup> orteil Dt	ND	IDH1 R132C	Non	D	Poumon	IDH1 R132C	44	Curetage	Chir	Vivant
9	H	57	CD	G3	B. ilio-pubienne Dt	10	IDH1 R132G	Non	L+D	Poumon +Os	ND		EM+ CT et RT néo	Non	Décès
10	H	28	CC	G2	Costale Gch	6	WT	Non	L+D	Poumon	WT	13	EM	Chir+RT	Vivant
11	F	75	CC	G2	Costale Gch	18	WT	Oui	L+D	Poumon	ND		RT	Non	Décès
12	M	81	CC	G2	Sous glottique	ND	WT	Non	L+D	Poumon	ND		Non	Non	Décès
13	M	86	CD	G3	Costale	6	WT	Non	D	Poumon, foie	ND	8	EM	CT	Décès
14	F	9	CM		Costale	15	WT	Non	D	Poumon	ND	37	EM+CT néo	Chir	Vivant
15	F	62	CD	G3	Costale Dt	12	WT	Oui	L+D	Poumon	ND		EM +CT	CT+RT	Décès

**Tableau 6. Caractéristiques clinico-histopathologiques des patients métastatiques.**

H : homme ; F : femme ; CC : chondrosarcome conventionnel ; CSC : chondrosarcome secondaire central ; MO : Maladie d'Ollier ; CD : chondrosarcome dédifférencié ; CM : chondrosarcome mésenchymateux ; G : grade ; Gch : gauche ; Dt : droit ; D : à distance ; L : locale ; WT : wild-type ; ND : non déterminé ; EM : exérèse monobloc ; Chir : chirurgie ; CT : chimiothérapie ; RT : radiothérapie ; néo : néoadjuvant.

Enfin, il n'a pas été montré d'impact des mutations *IDH* sur la survie globale ( $p = 0,84$ ) (figure 30).

Les patients ont été suivis durant un délai médian de 27,5 (7-63,5) mois. On comptait 12 décès (19,3%) des suites de la maladie qui concernaient 6 des 23 (26,1%) patients *IDH1* muté, 2 des 11 (18,2%) patients *IDH2* muté et 4 des 28 (14,3%) patients WT.

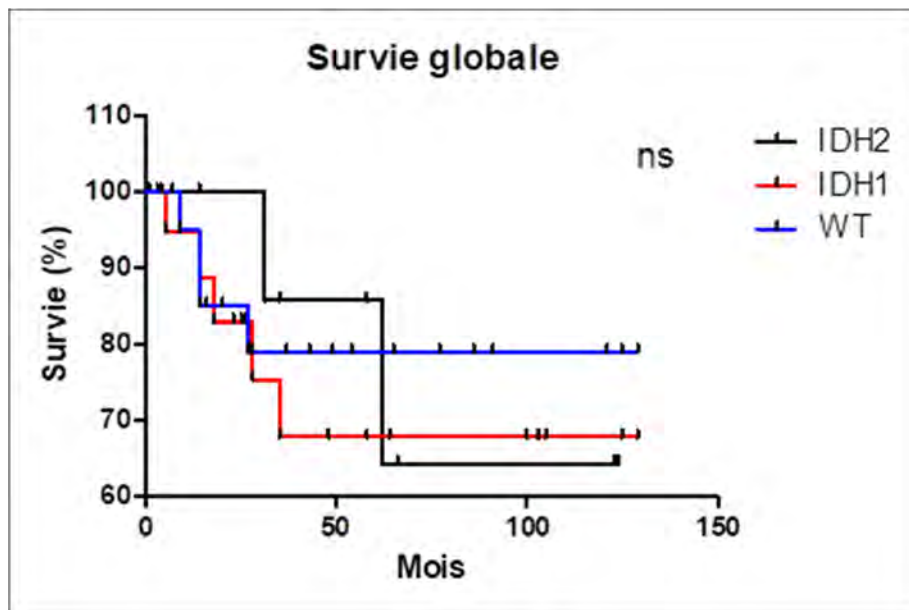


Figure 30. Survie globale des patients *IDH* muté et wild-type ( $p = 0,84$ ). ns : non significatif



## 4 DISCUSSION

Notre cohorte, en termes de caractéristiques cliniques et histopathologiques était similaire aux données de la littérature. Ainsi, le plus jeune âge des patients enchondromateux, la plus forte proportion de tumeurs de bas grade dans les chondrosarcomes secondaires périphériques ou encore l'agressivité des chondrosarcomes dédifférenciés objectivés dans notre étude sont des éléments déjà décrits dans la littérature.

### *Mutations IDH et tumorigenèse*

Nous avons analysé les mutations des gènes *IDH1* et *IDH2* de 74 échantillons de tumeurs cartilagineuses bénignes et malignes. La prévalence des mutations était de 54% , comparable aux données de la littérature<sup>82,84,109,110</sup>. La prédominance des mutations *IDH1* (37,8%) sur les mutations *IDH2* (16,2%) et notamment de la mutation *IDH1R132C* avait été décrite dans ces études. Les mutations n'étaient par ailleurs corrélées ni à l'âge ni au sexe des patients. Étonnamment, nous avons retrouvé une mutation *IDH2R172S* au sein d'un chondrosarcome secondaire périphérique. Jusqu'ici aucune mutation n'avait été décrite dans ce sous-type de chondrosarcome<sup>82,84</sup>.

Concernant la répartition des mutations, nous n'avons mis en évidence aucune corrélation entre la présence de mutations *IDH* et le sous-type histologique de la tumeur. Ces mutations ont été aussi bien retrouvées dans les chondromes que dans les chondrosarcomes allant dans le sens d'une mutagenèse précoce amorçant le développement tumoral. De plus, les 5 échantillons de patients atteints de maladie d'Ollier (1 enchondrome, 3 chondrosarcomes et 1 métastase) étaient tous mutés *IDH1R132C* corroborant l'hypothèse de mutation « driver ». Dans la littérature les patients atteints d'enchondromatose présentent également un taux élevé

de mutations *IDH* (86%), suggérant un rôle majeur de ce dernier dans la tumorigenèse de cette pathologie.

L'absence de mutation *IDH* dans près de la moitié des CS analysés suggère, l'existence de divers mécanismes de tumorigenèse, dont l'altération des protéines isocitrates déshydrogénases ne serait qu'un élément. D'autres enzymes métaboliques du cycle de Krebs comme la fumarate déshydrogénase (FH) ou la succinate déshydrogénase (SDH) impliquées dans la tumorigenèse de tumeurs non cartilagineuses (tumeurs stromales gastro-intestinales, paragangliomes héréditaires, léiomyomes héréditaires, tumeurs rénales)<sup>111-114</sup>, ont été étudiées dans les chondrosarcomes. Les mutations des gènes *FH* et *SDH* sont à l'origine d'une perte de fonction protéique conduisant à une accumulation respective de fumarate et succinate, elles-mêmes à l'origine d'une inhibition des enzymes  $\alpha$ -KG dépendantes. L'étude de Cleven et al<sup>57</sup> n'a pas confirmé cette hypothèse, en montrant l'absence de mutation des gènes *FH* et *SDH* dans les chondrosarcomes.

D'autres voies, non encore explorées, pourraient entrer en jeu dans le mécanisme physiopathologique des chondrosarcomes. C'est le cas de celles impliquées dans l'hypoxie. En effet, le tissu cartilagineux possède physiologiquement un micro-environnement hypoxique<sup>115-117</sup>. Or, il a été démontré qu'un environnement hypoxique favorisait l'accumulation du facteur HIF1- $\alpha$  impliqué dans la tumorigenèse via la transcription de nombreux gènes notamment impliqués dans l'angiogenèse, la survie et l'invasion cellulaire. L'étude de Thienpont et al<sup>118</sup> a récemment montré que les activités des TETs (ten-eleven translocation, DNA hydroxylases) étaient inhibées en condition hypoxique avec pour conséquence une hyperméthylation de l'ADN notamment au niveau des promoteurs des gènes suppresseurs de tumeur. Ce mécanisme pourrait être impliqué dans la physiopathologie des chondrosarcomes.

L'hypothèse de l'existence de multiples voies de tumorigenèse est appuyée par le fait que nous avons pu observer une relation entre le statut mutationnel et la localisation tumorale dans un certain nombre de cas. En effet nous avons observé une localisation préférentielle des CS *IDH* muté au niveau des os longs ( $p=0,035$ ) alors que les CS sauvages se localisaient plus fréquemment au niveau des os plats ( $p<0,0018$ ). Ces corrélations n'ont pas été retrouvées dans les études précédentes<sup>82,84</sup> qui observaient une localisation préférentielle significative des tumeurs cartilagineuses centrales et périostées *IDH* muté au niveau des extrémités distales. Les différents mécanismes de tumorigenèse pourraient possiblement s'activer en fonction de la localisation anatomique et des stimuli environnementaux.

### ***Hétérogénéité tumorale***

Notre étude pose la question d'une hétérogénéité tumorale au sein des chondrosarcomes. En effet, l'étude des tumeurs récidivantes (locales ou à distance) comparées à leur tumeur primaire a montré une modification du génotype dans 7 cas sur 10 avec l'apparition ou la disparition de la mutation *IDH*. Aucun de ces patients n'avait bénéficié d'un traitement par radio ou chimiothérapie préalable au geste chirurgical excluant une modification génomique tumorale post-thérapeutique.

Ces résultats diffèrent de ceux d'Amary et al<sup>119</sup> publiés en 2015 qui ont mis en évidence une concordance entre les tumeurs primaires et récidivantes (locale ou à distance) de chondrosarcomes centraux et dédifférenciés quant à leur statut *IDH*. Ces résultats confortent les auteurs dans le fait que la mutation apparaisse précocement et qu'elle occupe un rôle de driver dans le développement tumoral. Ils considèrent ainsi les protéines *IDH* comme une cible thérapeutique intéressante.

Nous pouvons en partie expliquer cette différence de résultats par le fait que pour de nombreux prélèvements, la quantité réduite d'ADN extrait secondaire à la décalcification ne nous a probablement pas permis de mettre en évidence l'ensemble des mutations au sein nos échantillons. Aussi notre taux de mutation global est probablement sous-estimé. L'équipe d'Amary ne précise malheureusement pas dans leur étude l'état de conservation de leurs échantillons (en paraffine ou cryopréservés), le mode de décalcification employé et le type de prélèvement analysé : curetage (nécessitant une décalcification rapide) ou exérèse monobloc (décalcification plus intense). Notre cohorte, quant à elle, contenait majoritairement des prélèvements provenant d'exérèse en monobloc.

Cependant, le fait même que nous ayons mis en évidence des mutations dans les deux types de prélèvements interpelle sur l'existence d'une hétérogénéité tumorale, d'autant plus qu'une partie de ces patients a présenté une modification du grade histologique (majoritairement plus agressif) lors de leur récurrence voire une modification du sous-type histologique.

Ces résultats suggèrent que la récurrence tumorale s'effectue possiblement à partir d'un groupe de cellules plus agressives et ceci indépendamment du statut *IDH*.

Il a été montré dans différentes études, l'existence de nombreux sous-clones tumoraux au sein d'une même tumeur<sup>120,121</sup> conduisant à une hétérogénéité tumorale. Cette dernière s'établit à des niveaux variés : génotypiques, épigénétiques, transcriptionnels, protéiques. Selon Nowell<sup>120</sup>, la présence de sous populations cellulaires intra-tumorales serait due à une instabilité génétique lors la réplication avec un enrichissement au sein de la tumeur des clones plus agressifs conduisant à un processus de métastase. L'hétérogénéité spatiale et temporelle a été démontrée en examinant plusieurs régions d'une même tumeur mais également en comparant les mutations retrouvées dans les tumeurs primaires et leurs métastases<sup>122-124</sup>. Cette hétérogénéité existe en l'absence d'administration d'un traitement néoadjuvant<sup>125</sup>.

### ***Aspects thérapeutiques***

L'existence de sous-clones tumoraux et de différentes voies de signalisation activées au sein d'une même tumeur pourrait expliquer la difficulté de la prise en charge thérapeutique des patients atteints de chondrosarcomes à un stade avancé. En effet, il est possible que cette hétérogénéité soit la clé de la résistance aux traitements classiques et émergents.

De plus l'absence d'impact majeur d'*IDH* sur les caractéristiques cliniques et histologiques tumorales (sous-type, grade, survie) expliquerait l'échec des inhibiteurs d'*IDH1* et *IDH2* lors des études précliniques. A l'instar des études précédentes<sup>57,84</sup> nous n'avons retrouvé aucune corrélation entre le statut *IDH* des patients et leur survie globale, sans récurrence ou sans progression métastatique. Au sein de notre cohorte, sur les 9 patients ayant bénéficié d'un traitement par chimiothérapie, 3 ont été traités par chimiothérapie classique (agents alkylants, anthracycline), 2 ont été traités par évérolimus (inhibiteur de mTOR), 2 par inhibiteurs des tyrosines kinases (régorafénib, pazopanib ou sorafénib) et 2 par inhibiteur de la voie Hedgehog (erivedge). Plusieurs de ces patients ont bénéficié de lignes successives de chimiothérapies. Un seul, traité uniquement par évérolimus en monothérapie, a présenté une stabilisation de la maladie. Les autres sont décédés, soulignant l'inefficacité de ces traitements.

### ***Intérêt des mutations *IDH****

A l'heure actuelle, l'intérêt majeur de la recherche de ces mutations réside dans la possibilité d'écarter les diagnostics différentiels des chondrosarcomes (chordome, ostéosarcome chondroblastique, sarcomes myxoïdes) en l'absence de critères cliniques et histologiques discriminants. Une étude d'Amary et al<sup>84</sup> a montré une absence de mutation *IDH1* sur 655 tumeurs mésenchymateuses et 106 sarcomes osseux qui comprenaient 79 chordomes, 25

PNET (tumeur neuroectodermique primitive)/sarcome d'Ewing, 1 chondrosarcome à cellules claires et 1 fibrosarcome.

### ***Limites de notre étude et perspectives***

Notre étude s'est axée sur une évaluation de l'implication des gènes *IDH* dans le pronostic des patients atteints de chondrosarcomes, mais uniquement en réalisant une analyse univariée. Il serait intéressant d'associer différents facteurs tels que le statut *IDH* et le grade dont les effets pourraient se potentialiser.

Hormis les résultats obtenus sur la prévalence et l'implication des mutations *IDH* dans le pronostic, cette étude a également mis en lumière la difficulté à analyser, notamment en biologie moléculaire, des prélèvements osseux décalcifiés. Sur nos 162 échantillons initiaux, seuls 56,8% (92/162) ont pu être analysés. Une étude multicentrique évaluant la préservation des tissus osseux et cartilagineux après décalcification au TBD-2, solution à base d'acide formique, a récemment été réalisée<sup>126</sup>. Elle a mis en évidence une meilleure préservation des protéines et acides nucléiques de ces tissus par rapport aux tissus décalcifiés avec des solutions à base d'acide chlorhydrique. Ceci laisse entrevoir la possibilité d'effectuer, sur ces tissus, des analyses moléculaires de meilleure qualité.

Par ailleurs certains sous-types histologiques plus rares (chondrosarcomes périostés, à cellules claires, méenchymateux) n'ont pu être inclus dans les analyses statistiques, du fait de leur effectif restreint.

Enfin, il est nécessaire de poursuivre l'exploration des multiples voies de tumorigenèse pouvant être impliquées dans ces cancers. Parmi elles, les voies de l'hypoxie impliquant des

protéines comme les sphingosines kinases, ou les TETs, non encore étudiées à ce jour dans les chondrosarcomes mériteraient d'être étudiées.

## 5 CONCLUSION

Dans la cohorte toulousaine de chondrosarcomes, la prévalence des mutations *IDH1* et *IDH2* était de 54,8%, avec une nette prédominance des mutations *IDH1*. Cette prévalence était identique entre les tumeurs bénignes et malignes. Si la présence de mutations n'influe ni sur le sous-type histologique, ni sur le grade tumoral, nous rapportons en revanche une corrélation entre le statut *IDH* du patient et la localisation anatomique de la tumeur. Nous avons ainsi observé une localisation préférentielle des chondrosarcomes mutés au niveau des os longs et des chondrosarcomes sauvages au niveau des os plats. De même, l'analyse de la tumeur primaire et secondaire de mêmes patients, a fréquemment montré une discordance du statut mutationnel entre les deux tumeurs.

Ces résultats suggèrent l'existence de multiples voies de tumorigenèse pouvant expliquer la résistance des tumeurs aux traitements conventionnels et aux thérapies ciblées. De plus, l'absence d'impact pronostique des mutations *IDH* tant sur la survie que sur la survenue de récurrences, minimise le rôle d'*IDH* dans la physiopathologie de ces tumeurs.

Ainsi, la présence de mutations *IDH*, bien que difficile à mettre en évidence sur des prélèvements décalcifiés, est fréquente dans les chondrosarcomes et peut apporter une aide diagnostique. Malgré l'absence d'impact pronostique, cette voie métabolique reste une cible thérapeutique potentielle.

Professeur Laurence LAFONT  
Département d'Anatomie et d'Ophtalmologie  
INSTITUT UNIVERSITAIRE DU CANCER  
1 avenue Irène Joliot-Curie  
31059 TOULOUSE CEDEX 9  
Tél. 05 31 67 19 97

Vu permis d'imprimer  
Le Doyen de la Faculté  
de Médecine Toulouse - Purpan



Didier CARRIÉ



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Monderer, D. *et al.* New chondrosarcoma cell lines and mouse models to study the link between chondrogenesis and chemoresistance. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* **93**, 1100–1114 (2013).
2. Tinoco, G. *et al.* The Biology and Management of Cartilaginous Tumors: A Role For Targeting Isocitrate Dehydrogenase. *J. Clin. Oncol.*
3. Onishi, A. C., Hincker, A. M. & Lee, F. Y. Surmounting Chemotherapy and Radioresistance in Chondrosarcoma: Molecular Mechanisms and Therapeutic Targets. *Sarcoma* **2011**, (2011).
4. Murphey, M. D. *et al.* From the archives of the AFIP: imaging of primary chondrosarcoma: radiologic-pathologic correlation. *Radiogr. Rev. Publ. Radiol. Soc. N. Am. Inc* **23**, 1245–1278 (2003).
5. Angelini, A. *et al.* Clinical outcome of central conventional chondrosarcoma. *J. Surg. Oncol.* **106**, 929–937 (2012).
6. Damron, T. A., Ward, W. G. & Stewart, A. Osteosarcoma, chondrosarcoma, and Ewing's sarcoma: National Cancer Data Base Report. *Clin. Orthop.* **459**, 40–47 (2007).
7. Evans, H. L., Ayala, A. G. & Romsdahl, M. M. Prognostic factors in chondrosarcoma of bone: a clinicopathologic analysis with emphasis on histologic grading. *Cancer* **40**, 818–831 (1977).
8. Björnsson, J., McLeod, R. A., Unni, K. K., Ilstrup, D. M. & Pritchard, D. J. Primary chondrosarcoma of long bones and limb girdles. *Cancer* **83**, 2105–2119 (1998).
9. Marco, R. A., Gitelis, S., Brebach, G. T. & Healey, J. H. Cartilage tumors: evaluation and treatment. *J. Am. Acad. Orthop. Surg.* **8**, 292–304 (2000).
10. Nota, S. P. F. T., Braun, Y., Schwab, J. H., van Dijk, C. N. & Bramer, J. A. M. The Identification of Prognostic Factors and Survival Statistics of Conventional Central Chondrosarcoma. *Sarcoma* **2015**, (2015).
11. Altay, M., Bayrakci, K., Yildiz, Y., Ereku, S. & Saglik, Y. Secondary chondrosarcoma in cartilage bone tumors: report of 32 patients. *J. Orthop. Sci.* **12**, 415–423 (2007).
12. Sharma, A. & Maini, L. Limb Salvage in Secondary Chondrosarcoma of the Metatarsus. *J. Foot Ankle Surg.* **55**, 299–302 (2016).
13. Strovski, E., Ali, R., Graeb, D. A., Munk, P. L. & Chang, S. D. Malignant degeneration of a lumbar osteochondroma into a chondrosarcoma which mimicked a large retroperitoneal mass. *Skeletal Radiol.* **41**, 1319–1322 (2012).
14. Chun, K. A., Stephanie, S., Choi, J. Y., Nam, J. H. & Suh, J. S. Enchondroma of the Foot. *J. Foot Ankle Surg.* **54**, 836–839 (2015).
15. Silve, C. & Jüppner, H. Ollier disease. *Orphanet J. Rare Dis.* **1**, 37 (2006).
16. Ali, S. M., Sofien, B., Feten, S., Khaled, B. & Riadh, M. Enchondroma of the scaphoid: a case report. *Pan Afr. Med. J.* **21**, (2015).
17. Lubahn, J. D. & Bachoura, A. Enchondroma of the Hand: Evaluation and Management. *J. Am. Acad. Orthop. Surg.* **24**, 625–633 (2016).

18. *WHO Classification Of Tumours Of Soft Tissue and Bone.* (2013).
19. Pansuriya, T. C., Kroon, H. M. & Bovée, J. V. Enchondromatosis: insights on the different subtypes. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* **3**, 557 (2010).
20. Maione, V., Stinco, G. & Errichetti, E. Multiple enchondromas and skin angiomas: Maffucci syndrome. *The Lancet* **388**, 905 (2016).
21. Auyeung, J., Mohanty, K. & Tayton, K. Maffucci lymphangioma syndrome: an unusual variant of Ollier's disease, a case report and a review of the literature. *J. Pediatr. Orthop. Part B* **12**, 147–150 (2003).
22. Ngai, C., Ding, D. Y. & Rapp, T. B. Maffucci Syndrome. An Interesting Case and a Review of the Literature. *Bull. Hosp. Jt. Dis.* **2013** **73**, 282–285 (2015).
23. Verdegaal, S. H. M. *et al.* Incidence, predictive factors, and prognosis of chondrosarcoma in patients with Ollier disease and Maffucci syndrome: an international multicenter study of 161 patients. *The Oncologist* **16**, 1771–1779 (2011).
24. Herget, G. W. *et al.* Insights into Enchondroma, Enchondromatosis and the risk of secondary Chondrosarcoma. Review of the literature with an emphasis on the clinical behaviour, radiology, malignant transformation and the follow up. *Neoplasma* **61**, 365–378 (2014).
25. Prokopchuk, O. *et al.* Maffucci syndrome and neoplasms: a case report and review of the literature. *BMC Res. Notes* **9**, (2016).
26. Sampath Kumar, V. *et al.* Surveillance of intramedullary cartilage tumours in long bones. *Bone Jt. J.* **98–B**, 1542–1547 (2016).
27. Gelderblom, H. *et al.* The Clinical Approach Towards Chondrosarcoma. *The Oncologist* **13**, 320–329 (2008).
28. Sonia, J., Samia, F., Sahbi, E., Walid, O. & Fayçal, K. Ostéochondrome de fémur révélé par une lésion itérative du muscle vaste latéral: à propos d'un cas. *Pan Afr. Med. J.* **20**, (2015).
29. de Andrea, C. E. *et al.* Secondary peripheral chondrosarcoma evolving from osteochondroma as a result of outgrowth of cells with functional EXT. *Oncogene* **31**, 1095–1104 (2012).
30. Zhou, Q., Yang, C., Chen, M.-J. & Li, L.-Z. Detection of exostosin glycosyltransferase gene mutations in patients with non-hereditary osteochondromas of the mandibular condyle. *Mol. Clin. Oncol.* **5**, 295–299 (2016).
31. van den Berg, H., Kroon, H. M., Slaar, A. & Hogendoorn, P. Incidence of biopsy-proven bone tumors in children: a report based on the Dutch pathology registration 'PALGA'. *J. Pediatr. Orthop.* **28**, 29–35 (2008).
32. Souza, A. M. G. de & Júnior, R. Z. B. Osteochondroma: ignore or investigate? *Rev. Bras. Ortop.* **49**, 555 (2014).
33. Murphey, M. D., Choi, J. J., Kransdorf, M. J., Flemming, D. J. & Gannon, F. H. Imaging of osteochondroma: variants and complications with radiologic-pathologic correlation. *Radiogr. Rev. Publ. Radiol. Soc. N. Am. Inc* **20**, 1407–1434 (2000).
34. Pannier, S. & Legeai-Mallet, L. Hereditary multiple exostoses and enchondromatosis. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* **22**, 45–54 (2008).

35. Wuyts, W. & Van Hul, W. Molecular basis of multiple exostoses: mutations in the EXT1 and EXT2 genes. *Hum. Mutat.* **15**, 220–227 (2000).
36. Jennes, I. *et al.* Multiple osteochondromas: mutation update and description of the multiple osteochondromas mutation database (MOdb). *Hum. Mutat.* **30**, 1620–1627 (2009).
37. Goedhart, L. M., Ploegmakers, J. J. W., Kroon, H. M., Zwartkruis, E. C. H. & Jutte, P. C. The presentation, treatment and outcome of periosteal chondrosarcoma in the Netherlands. *Bone Jt. J.* **96–B**, 823–828 (2014).
38. Weinberg, J. *et al.* Periosteal chondrosarcoma in a 9-year-old girl with osteochondromatosis. *Skeletal Radiol.* **34**, 539–542 (2005).
39. Bharath, G., Burrah, R., Shivakumar, K., Manjunath, S. & Bhanumathi, R. Dedifferentiated chondrosarcoma: An aggressive variant of chondrosarcoma. *Asian Cardiovasc. Thorac. Ann.* **23**, 221–223 (2015).
40. Kawaguchi, S. *et al.* Does Ifosfamide Therapy Improve Survival of Patients With Dedifferentiated Chondrosarcoma? *Clin. Orthop. Relat. Res.* **472**, 983–989 (2014).
41. Uppaluri, S. A. S., Yin, L. H. & Goh, G. H. Maxillary mesenchymal chondrosarcoma presenting with epistaxis in a child. *J. Radiol. Case Rep.* **9**, 33 (2015).
42. Majumdar, S., Boddepalli, R., Uppala, D. & Rao, A. K. Mesenchymal chondrosarcoma of mandible. *J. Oral Maxillofac. Pathol.* **20**, 545 (2016).
43. Nyquist, K. B. *et al.* Whole-transcriptome sequencing identifies novel IRF2BP2-CDX1 fusion gene brought about by translocation t(1;5)(q42;q32) in mesenchymal chondrosarcoma. *PLoS One* **7**, e49705 (2012).
44. Wang, L. *et al.* Identification of a novel, recurrent HEY1-NCOA2 fusion in mesenchymal chondrosarcoma based on a genome-wide screen of exon-level expression data. *Genes Chromosomes Cancer* **51**, 127–139 (2012).
45. Schneiderman, B. A., Kliethermes, S. A. & Nystrom, L. M. Survival in Mesenchymal Chondrosarcoma Varies Based on Age and Tumor Location: A Survival Analysis of the SEER Database. *Clin. Orthop. Relat. Res.* **475**, 799–805 (2017).
46. Cleven, A. H. G. *et al.* Periosteal chondrosarcoma: a histopathological and molecular analysis of a rare chondrosarcoma subtype. *Histopathology* **67**, 483–490 (2015).
47. Chaabane, S., Bouaziz, M. C., Drissi, C., Abid, L. & Ladeb, M. F. Periosteal Chondrosarcoma. *Am. J. Roentgenol.* **192**, W1–W6 (2009).
48. Efremidou, E. I. *et al.* Juxtacortical Clavicular Chondrosarcoma: Diagnostic Dilemmas: Case Report and Review of Literature. *Clin. Med. Insights Oncol.* **7**, 13 (2013).
49. Nagmani, S. *et al.* Clear cell chondrosarcoma calcaneum – A case report and review of literature. *The Foot* **25**, 36–40 (2015).
50. Collins, M. S., Koyama, T., Swee, R. G. & Inwards, C. Y. Clear cell chondrosarcoma: radiographic, computed tomographic, and magnetic resonance findings in 34 patients with pathologic correlation. *Skeletal Radiol.* **32**, 687–694 (2003).
51. Matsuura, S. *et al.* Epithelial and cartilaginous differentiation in clear cell chondrosarcoma. *Hum. Pathol.* **44**, 237–243 (2013).
52. Manfrini, M., Fiscina, S., Righi, A., Montes, J. M. & Vanel, D. Multiple or metastatic clear cell chondrosarcoma: a case report. *Clin. Sarcoma Res.* **4**, 12 (2014).

53. Unni, K. K., Dahlin, D. C., Beabout, J. W. & Sim, F. H. Chondrosarcoma: clear-cell variant. A report of sixteen cases. *J. Bone Joint Surg. Am.* **58**, 676–683 (1976).
54. Bjornsson, J., Unni, K. K., Dahlin, D. C., Beabout, J. W. & Sim, F. H. Clear cell chondrosarcoma of bone. Observations in 47 cases. *Am. J. Surg. Pathol.* **8**, 223–230 (1984).
55. Yang, H., Ye, D., Guan, K.-L. & Xiong, Y. IDH1 and IDH2 mutations in tumorigenesis: mechanistic insights and clinical perspectives. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **18**, 5562 (2012).
56. Polychronidou, G. *et al.* Novel therapeutic approaches in chondrosarcoma. *Future Oncol. Lond. Engl.* **13**, 637–648 (2017).
57. Cleven, A. H. G. *et al.* IDH1 or -2 mutations do not predict outcome and do not cause loss of 5-hydroxymethylcytosine or altered histone modifications in central chondrosarcomas. *Clin. Sarcoma Res.* **7**, (2017).
58. Parsons, D. W. *et al.* An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science* **321**, 1807–1812 (2008).
59. Borger, D. R. *et al.* Frequent mutation of isocitrate dehydrogenase (IDH)1 and IDH2 in cholangiocarcinoma identified through broad-based tumor genotyping. *The Oncologist* **17**, 72–79 (2012).
60. Hemerly, J. P., Bastos, A. U. & Cerutti, J. M. Identification of several novel non-p.R132 IDH1 variants in thyroid carcinomas. *Eur. J. Endocrinol.* **163**, 747–755 (2010).
61. Marcucci, G., Haferlach, T. & Döhner, H. Molecular genetics of adult acute myeloid leukemia: prognostic and therapeutic implications. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **29**, 475–486 (2011).
62. Kranendijk, M. *et al.* IDH2 mutations in patients with D-2-hydroxyglutaric aciduria. *Science* **330**, 336 (2010).
63. Hartmann, C. *et al.* Type and frequency of IDH1 and IDH2 mutations are related to astrocytic and oligodendroglial differentiation and age: a study of 1,010 diffuse gliomas. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **118**, 469–474 (2009).
64. Dang, L. *et al.* Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. *Nature* **462**, 739 (2009).
65. Chowdhury, R. *et al.* The oncometabolite 2-hydroxyglutarate inhibits histone lysine demethylases. *EMBO Rep.* **12**, 463–469 (2011).
66. Zeng, W., Wan, R., Zheng, Y., Singh, S. R. & Wei, Y. Hypoxia, stem cells and bone tumor. *Cancer Lett.* **313**, 129–136 (2011).
67. HIF at a glance. - PubMed - NCBI. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gate2.inist.fr/pubmed/19339544>. (Accessed: 3rd April 2017)
68. Ivan, M. *et al.* HIFalpha targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: implications for O<sub>2</sub> sensing. *Science* **292**, 464–468 (2001).
69. Iyer, N. V. *et al.* Cellular and developmental control of O<sub>2</sub> homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 alpha. *Genes Dev.* **12**, 149–162 (1998).
70. Jin, Y. *et al.* Mutant IDH1 Dysregulates the Differentiation of Mesenchymal Stem Cells in Association with Gene-Specific Histone Modifications to Cartilage- and Bone-Related Genes. *PLoS ONE* **10**, (2015).

71. van den Bent, M. J. *et al.* Adjuvant procarbazine, lomustine, and vincristine chemotherapy in newly diagnosed anaplastic oligodendroglioma: long-term follow-up of EORTC brain tumor group study 26951. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **31**, 344–350 (2013).
72. Cairncross, J. G. *et al.* Benefit from procarbazine, lomustine, and vincristine in oligodendroglial tumors is associated with mutation of IDH. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **32**, 783–790 (2014).
73. Feng, J.-H. *et al.* Prognostic significance of IDH1 mutations in acute myeloid leukemia: a meta-analysis. *Am. J. Blood Res.* **2**, 254–264 (2012).
74. Zhou, K.-G. *et al.* Potential application of IDH1 and IDH2 mutations as prognostic indicators in non-promyelocytic acute myeloid leukemia: a meta-analysis. *Leuk. Lymphoma* **53**, 2423–2429 (2012).
75. Thol, F. *et al.* IDH1 mutations in patients with myelodysplastic syndromes are associated with an unfavorable prognosis. *Haematologica* **95**, 1668–1674 (2010).
76. Wang, N., Wang, F., Shan, N., Sui, X. & Xu, H. IDH1 Mutation Is an Independent Inferior Prognostic Indicator for Patients with Myelodysplastic Syndromes. *Acta Haematol.* **138**, 143–151 (2017).
77. Lin, C.-C. *et al.* IDH mutations are closely associated with mutations of DNMT3A, ASXL1 and SRSF2 in patients with myelodysplastic syndromes and are stable during disease evolution. *Am. J. Hematol.* **89**, 137–144 (2014).
78. Bejar, R. *et al.* Clinical Effect of Point Mutations in Myelodysplastic Syndromes. *N. Engl. J. Med.* **364**, 2496–2506 (2011).
79. Cairns, R. A. *et al.* IDH2 mutations are frequent in angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Blood* **119**, 1901–1903 (2012).
80. Goyal, L. *et al.* Prognosis and Clinicopathologic Features of Patients With Advanced Stage Isocitrate Dehydrogenase (IDH) Mutant and IDH Wild-Type Intrahepatic Cholangiocarcinoma. *The Oncologist* **20**, 1019–1027 (2015).
81. Churi, C. R. *et al.* Mutation Profiling in Cholangiocarcinoma: Prognostic and Therapeutic Implications. *PLoS ONE* **9**, (2014).
82. Pansuriya, T. C. *et al.* Somatic mosaic IDH1 and IDH2 mutations are associated with enchondroma and spindle cell hemangioma in Ollier disease and Maffucci syndrome. *Nat. Genet.* **43**, 1256–1261 (2011).
83. Amary, M. F. *et al.* Ollier disease and Maffucci syndrome are caused by somatic mosaic mutations of IDH1 and IDH2. *Nat. Genet.* **43**, 1262–1265 (2011).
84. Amary, M. F. *et al.* IDH1 and IDH2 mutations are frequent events in central chondrosarcoma and central and periosteal chondromas but not in other mesenchymal tumours. *J. Pathol.* **224**, 334–343 (2011).
85. Suijker, J. *et al.* Inhibition of mutant IDH1 decreases D-2-HG levels without affecting tumorigenic properties of chondrosarcoma cell lines. *Oncotarget* **6**, 12505 (2015).
86. Peyrode, C. *et al.* Proteoglycans as Target for an Innovative Therapeutic Approach in Chondrosarcoma: Preclinical Proof of Concept. *Mol. Cancer Ther.* **15**, 2575–2585 (2016).
87. Doyen, J. *et al.* [Indications and results for protontherapy in cancer treatments]. *Cancer Radiother. J. Soc. Francaise Radiother. Oncol.* **20**, 513–518 (2016).

88. Italiano, A. *et al.* Advanced chondrosarcomas: role of chemotherapy and survival. *Ann. Oncol.* **24**, 2916–2922 (2013).
89. Terek, R. M. *et al.* Chemotherapy and P-glycoprotein expression in chondrosarcoma. *J. Orthop. Res.* **16**, 585–590 (1998).
90. Li, L. *et al.* Treatment with a Small Molecule Mutant IDH1 Inhibitor Suppresses Tumorigenic Activity and Decreases Production of the Oncometabolite 2-Hydroxyglutarate in Human Chondrosarcoma Cells. *PLoS ONE* **10**, (2015).
91. Campbell, V. T. *et al.* Hedgehog Pathway Inhibition in Chondrosarcoma Using the Smoothed Inhibitor IPI-926 Directly Inhibits Sarcoma Cell Growth. *Mol. Cancer Ther.* **13**, 1259–1269 (2014).
92. Xiang, W. *et al.* Hedgehog pathway inhibitor-4 suppresses malignant properties of chondrosarcoma cells by disturbing tumor ciliogenesis. *Oncol. Rep.* **32**, 1622–1630 (2014).
93. Zhang, Y.-X. *et al.* Functional profiling of receptor tyrosine kinases and downstream signaling in human chondrosarcomas identifies pathways for rational targeted therapy. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **19**, 3796–3807 (2013).
94. Perez, J. *et al.* Inhibition of chondrosarcoma growth by mTOR inhibitor in an in vivo syngeneic rat model. *PloS One* **7**, e32458 (2012).
95. Bernstein-Molho, R. *et al.* Clinical activity of mTOR inhibition in combination with cyclophosphamide in the treatment of recurrent unresectable chondrosarcomas. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **70**, 855–860 (2012).
96. Thornton, K. A. *et al.* A dose-finding study of temsirolimus and liposomal doxorubicin for patients with recurrent and refractory bone and soft tissue sarcoma. *Int. J. Cancer* **133**, 997–1005 (2013).
97. Rozeman, L. B. *et al.* Absence of IHH and retention of PTHrP signalling in enchondromas and central chondrosarcomas. *J. Pathol.* **205**, 476–482 (2005).
98. Bovée, J. V., van den Broek, L. J., Cleton-Jansen, A. M. & Hogendoorn, P. C. Up-regulation of PTHrP and Bcl-2 expression characterizes the progression of osteochondroma towards peripheral chondrosarcoma and is a late event in central chondrosarcoma. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* **80**, 1925–1934 (2000).
99. van Oosterwijk, J. G. *et al.* Screening for potential targets for therapy in mesenchymal, clear cell, and dedifferentiated chondrosarcoma reveals Bcl-2 family members and TGFβ as potential targets. *Am. J. Pathol.* **182**, 1347–1356 (2013).
100. Wheeler, D. L., Iida, M. & Dunn, E. F. The role of Src in solid tumors. *The Oncologist* **14**, 667–678 (2009).
101. Shor, A. C. *et al.* Dasatinib inhibits migration and invasion in diverse human sarcoma cell lines and induces apoptosis in bone sarcoma cells dependent on SRC kinase for survival. *Cancer Res.* **67**, 2800–2808 (2007).
102. Bai, Y. *et al.* Phosphoproteomics identifies driver tyrosine kinases in sarcoma cell lines and tumors. *Cancer Res.* **72**, 2501–2511 (2012).
103. Schrage, Y. M. *et al.* Kinome profiling of chondrosarcoma reveals SRC-pathway activity and dasatinib as option for treatment. *Cancer Res.* **69**, 6216–6222 (2009).
104. Schuetze, S. M. *et al.* SARC009: Phase 2 study of dasatinib in patients with previously treated, high-grade, advanced sarcoma. *Cancer* **122**, 868–874 (2016).

105. Endo, M. *et al.* NY-ESO-1 (CTAG1B) expression in mesenchymal tumors. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* **28**, 587–595 (2015).
106. Lai, J.-P. *et al.* NY-ESO-1 expression in synovial sarcoma and other mesenchymal tumors: significance for NY-ESO-1-based targeted therapy and differential diagnosis. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* **25**, 854–858 (2012).
107. Pollack, S. M. *et al.* NYESO-1/LAGE-1s and PRAME are targets for antigen specific T cells in chondrosarcoma following treatment with 5-Aza-2-deoxycytabine. *PloS One* **7**, e32165 (2012).
108. Kostine, M. *et al.* Analysis of PD-L1, T-cell infiltrate and HLA expression in chondrosarcoma indicates potential for response to immunotherapy specifically in the dedifferentiated subtype. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* **29**, 1028–1037 (2016).
109. Lu, C. *et al.* Induction of sarcomas by mutant IDH2. *Genes Dev.* **27**, 1986–1998 (2013).
110. Arai, M., Nobusawa, S., Ikota, H., Takemura, S. & Nakazato, Y. Frequent IDH1/2 mutations in intracranial chondrosarcoma: a possible diagnostic clue for its differentiation from chordoma. *Brain Tumor Pathol.* **29**, 201–206 (2012).
111. Tomlinson, I. P. M. *et al.* Germline mutations in FH predispose to dominantly inherited uterine fibroids, skin leiomyomata and papillary renal cell cancer. *Nat. Genet.* **30**, 406–410 (2002).
112. Baysal, B. E. *et al.* Mutations in SDHD, a mitochondrial complex II gene, in hereditary paraganglioma. *Science* **287**, 848–851 (2000).
113. Niemann, S. & Müller, U. Mutations in SDHC cause autosomal dominant paraganglioma, type 3. *Nat. Genet.* **26**, 268–270 (2000).
114. Janeway, K. A. *et al.* Defects in succinate dehydrogenase in gastrointestinal stromal tumors lacking KIT and PDGFRA mutations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **108**, 314–318 (2011).
115. Domm, C., Schünke, M., Christesen, K. & Kurz, B. Redifferentiation of dedifferentiated bovine articular chondrocytes in alginate culture under low oxygen tension. *Osteoarthritis Cartilage* **10**, 13–22 (2002).
116. Gibson, J. S., Milner, P. I., White, R., Fairfax, T. P. A. & Wilkins, R. J. Oxygen and reactive oxygen species in articular cartilage: modulators of ionic homeostasis. *Pflug. Arch. - Eur. J. Physiol.* **455**, 563–573 (2008).
117. Boeuf, S., Bovée, J. V. M. G., Lehner, B., Hogendoorn, P. C. W. & Richter, W. Correlation of hypoxic signalling to histological grade and outcome in cartilage tumours. *Histopathology* **56**, 641–651 (2010).
118. Thienpont, B. *et al.* Tumor hypoxia causes DNA hypermethylation by reducing TET activity. *Nature* **537**, 63–68 (2016).
119. Amary, M. F. *et al.* Isocitrate dehydrogenase 1 mutations (IDH1) and p16/CDKN2A copy number change in conventional chondrosarcomas. *Virchows Arch.* **466**, 217–222 (2015).
120. Nowell, P. C. The clonal evolution of tumor cell populations. *Science* **194**, 23–28 (1976).
121. Bedard, P. L., Hansen, A. R., Ratain, M. J. & Siu, L. L. Tumour heterogeneity in the clinic. *Nature* **501**, 355–364 (2013).

122. Shah, S. P. *et al.* Mutational evolution in a lobular breast tumour profiled at single nucleotide resolution. *Nature* **461**, 809–813 (2009).
123. Campbell, P. J. *et al.* Subclonal phylogenetic structures in cancer revealed by ultra-deep sequencing. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **105**, 13081–13086 (2008).
124. Hardiman, K. M. *et al.* Intra-tumor Genetic Heterogeneity in Rectal Cancer. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* **96**, 4–15 (2016).
125. Ng, C. K. Y. *et al.* Genetic Heterogeneity in Therapy-Naïve Synchronous Primary Breast Cancers and Their Metastases. *Clin. Cancer Res.* **23**, 4402–4415 (2017).
126. Miquelstorena-Standley. Académie Internationale de Pathologie, Bulletin n°63. 2016



## ANNEXE 1

Nom des amorces	Séquence	Taille amplicon
<b>IDH1-F-Biot</b>	5'-Biot- GGCTTGTGAGTGGATGGGTA -3'	74 pb
<b>IDH1-R</b>	5'- GCCAACATGACTTACTTGATCC -3'	
<b>IDH1-S(R1)</b>	5'- GACTTACTTGATCCCCATA-3'	

Nom des amorces	Séquence	Taille amplicon
<b>IDH2-F1</b>	5'-ATCCCACGCCTAGTCCCT-3'	82 pb
<b>IDH1-R1-Biot</b>	5'-Biot-CTCCACCCTGGCCTACCT-3'	
<b>IDH1-S1 (F)</b>	5'-AAGCCCATCACCATT -3'	

**Tableau 7. Amorces utilisées pour la qPCR et le pyroséquençage pour la détection des mutations *IDH***

## ANNEXE 2

Dispensation pour analyse du gène *IDH1*

GAGCATCGATCTGACTA

a.

Dispensation pour analyse du gène *IDH2*

CGTCATGTCAC

b.

**Tableau 8.** Ordre de dispensation des nucléotides pour l'analyse des gènes *IDH1* (a) et *IDH2* (b).

## ABSTRACT

---

### PREVALENCE AND PROGNOSTIC IMPACT OF IDH1 AND IDH2 MUTATIONS IN CHONDROSARCOMAS

#### STUDY ABOUT 139 PATIENTS WITH CARTILAGINOUS TUMORS

Chondrosarcomas constitute a heterogeneous group of radio- and chemo-resistant malignant cartilaginous tumors. Approximately 50% of chondrosarcomas show a mutation in the *IDH1* or *IDH2* genes. The objective of our study was to analyze the prevalence and the prognostic impact of *IDH* mutations in the Toulouse chondrosarcomas cohort.

To do this, we analyzed the DNA extracted from 162 samples, coming from 139 patients between 2000 and 2017. 92 samples showed an exploitable DNA.

54.8% of our chondrosarcomas had an *IDH* mutation. None of the mutations found had any impact on patient survival and recurrence. However, we observed a preferential localization in the long bones for the mutated chondrosarcomas and a more frequent localization in the flat bones for wild-type tumors.

*IDH* mutations had no impact on the prognosis of chondrosarcomas, implying the involvement of other signaling pathways in tumor development.

## **PREVALENCE ET IMPACT PRONOSTIQUE DES MUTATIONS IDH1 ET IDH2 DANS LES CHONDROSARCOMES**

### **ETUDE A PROPOS DE 139 PATIENTS ATTEINTS DE TUMEURS CARTILAGINEUSES**

---

#### RESUME EN FRANÇAIS :

Les chondrosarcomes constituent un groupe hétérogène de tumeurs cartilagineuses malignes radio et chimio-résistantes, dont le seul véritable traitement reste l'exérèse chirurgicale. Environ 50% des chondrosarcomes présentent une mutation des gènes *IDH1* ou *IDH2*. L'objectif de notre étude était d'analyser la prévalence et l'impact pronostique des mutations *IDH* dans la cohorte toulousaine de chondrosarcomes.

Pour ce faire nous avons analysé l'ADN extrait de 162 échantillons, provenant de 139 patients recensés entre 2000 et 2017. 92 échantillons présentaient un ADN exploitable.

54,8% de nos chondrosarcomes présentaient une mutation *IDH*. Aucune des mutations retrouvées n'avait d'impact sur la survie ou la récurrence tumorale. Nous avons cependant observé une localisation préférentielle des chondrosarcomes mutés au niveau des os longs et des chondrosarcomes sauvages au niveau des os plats.

Les mutations *IDH* n'avaient pas d'impact sur le pronostic des chondrosarcomes, supposant l'implication d'autres voies de signalisation dans le développement tumoral.

---

TITRE EN ANGLAIS : **Prevalence and prognostic impact of *IDH1* and *IDH2* mutations in chondrosarcomas. Study about 139 patients with cartilaginous tumors.**

---

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Médecine spécialisée Clinique

---

MOTS-CLÉS : Chondrosarcomes, mutations *IDH*, pronostic, prévalence, survie, grade, localisation

---

INTITULÉ ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Université Toulouse III-Paul Sabatier

Faculté de médecine Toulouse-Purpan, 37 Allées Jules Guesde 31000 Toulouse

---

Directeur de thèse : Mme le Professeur Anne GOMEZ-BROUCHET