

Les insulomes

Intérêt d'un diagnostic morphologique précis

A. Bretholz* et H. Steiner

Institut d'Anatomie pathologique de l'Université, Lausanne, Suisse

Reçu le 6 juillet 1972

Insulomas

The Value of Precise Morphologic Diagnosis

Summary. Sixteen cases of pancreatic islet cell tumors were investigated to determine the exact cell types involved. Additional histochemistry and electron microscopy made it possible to establish a precise cytological diagnosis in thirteen instances. Electron microscopy allows an easy distinction between beta and alpha cells but is less accurate for differentiation of alpha-1 and alpha-2 cells. The usual cytological criteria for the distinction of malignant from benign tumors do not necessarily apply in pancreatic islet cell tumors, the existence of metastases being the only reliable sign of malignancy. In the absence of metastases the interpretation should be limited to the terms "benign" or "malignancy suspected", according to the histological appearance. Common aspects of pancreatic islet cell tumors and carcinoid tumors suggest that their cells have an origin analogous to that of the endocrine cells of the gastrointestinal tract or that both groups belong to the larger group of so-called APUD cells.

Zusammenfassung. 16 Fälle von Inseln Tumoren des Pankreas werden untersucht im Hinblick auf eine genaue Diagnose des Zelltyps und zur Überprüfung der Mittel, die eine solche Diagnose zu stellen gestatten. Aus den Untersuchungsergebnissen können folgende Schlüsse gezogen werden: Mit Hilfe von ergänzenden Untersuchungen (Histochemie, biochemische Bestimmungen, Elektronenmikroskopie) ist es in beinahe allen Fällen (in unserer Serie 13mal) möglich, eine exakte Diagnose des Zelltyps zu stellen. Elektronenmikroskopisch können die Betazellen leicht von den Alphazellen unterschieden werden. Die Differenzierung von Alpha 1- und Alpha 2-Zellen ist ebenfalls möglich, jedoch schwieriger. Die üblichen cytologischen Malignitätszeichen sind bei den Inselzelltumoren mit Vorsicht zu interpretieren; lediglich das Vorhandensein von Metastasen erlaubt es, einen Tumor sicher als maligne zu klassieren. In den übrigen Fällen sollte je nach mikroskopischem Bild von einem benignen oder höchstens einem histologisch malignitätsverdächtigen Inselzelltumor gesprochen werden. Gemeinsamkeiten zwischen Inselzelltumoren und Carcinoiden deuten auf einen analogen Ausgangspunkt von endokrinen Zellen des Gastrointestinaltraktes hin oder auf ihre Zugehörigkeit zu einem umfassenderen System, dem System der sog. APUD-Zellen.

Introduction

Les tumeurs des îlots de Langerhans, malgré leur rareté, ont un intérêt considérable tant du point de vue clinique que morphologique. Leur étude sur le plan fonctionnel n'est cependant que relativement récente. Le premier cas rapporté de carcinome pancréatique avec des métastases hépatiques contenant de l'insuline date de 1927 (Wilder *et al.*). Par la suite, le nombre des tumeurs du pancréas avec syndrome hypoglycémique («insulinomes») traitées chirurgicalement n'a cessé d'augmenter dans la littérature. Mais si le point de départ de ces

* Adresse actuelle: Département für innere Medizin, Kantonsspital Zürich.

dernières a été reconnu très tôt dans les cellules B, l'origine précise des autres tumeurs dérivées du tissu endocrine pancréatique est demeurée longtemps obscure.

La localisation par immuno-fluorescence du glucagon dans les cellules A₂ (Lomsky *et al.*, 1969 a) et de la gastrine dans les cellules A₁ (Lomsky *et al.*, 1969 b) a jeté une lumière nouvelle sur la classification des insulomes pour le diagnostic desquels le pathologue dispose actuellement non seulement de méthodes histologiques et histochimiques perfectionnées mais encore des données apportées par le microscope électronique et l'immunofluorescence.

Sur la base de ces éléments relativement récents et partiellement encore mal connus, il nous a paru intéressant de reconsidérer l'ensemble du problème du diagnostic morphologique des tumeurs langerhansiennes à la lumière de 16 observations personnelles. En plus des examens habituels, certains cas ont bénéficié de méthodes complémentaires telles que microscopie électronique, histochimie et dosages biochimiques des hormones trouvées dans le tissu tumoral. Il nous a paru nécessaire de revoir les dossiers cliniques de chaque cas afin de pouvoir mieux juger de la validité des diagnostics morphologiques et de rechercher une éventuelle appartenance à un des syndromes endocriniens pluriglandulaires classifiés par Steiner *et al.* (1968).

Matériel

Les tissus examinés pour ce travail ont été obtenus chez 12 patients opérés et lors de 4 autopsies. Les dossiers cliniques que nous avons examinés peuvent être répartis schématiquement en 4 groupes; dans le *premier* (cas 1 à 5, 7 et 8), la symptomatologie clinique, soit d'hypoglycémie (triade de Wilms) soit d'ulcérations gastrointestinales récidivantes, avait déjà orienté le diagnostic vers celui d'un insulome pancréatique B ou A₁; ce diagnostic avait été étayé par des dosages hormonaux — insulémie augmentée à 130 μ U dans le cas 3, test de gastrine nettement positif dans les cas 7 et 8 — et ne demandait qu'à être confirmé par l'examen anatomopathologique. Le cas 7 mérite une place particulière: à côté de plusieurs petits insulomes pancréatiques, il présentait une hyperplasie importante, en partie adénomateuse, de la surrénale, ainsi qu'un petit adénome mixte chromophile et éosinophile de l'hypophyse. Cette association a permis de poser le diagnostic de polyadénomatose endocrinienne. Dans le *second groupe*, se situe le cas 6 dans lequel, malgré la symptomatologie ulcéreuse, le diagnostic d'insulome A₁ n'a pu être posé qu'à l'autopsie et après examen attentif du pancréas. Le *groupe 3* comprend les cas sans symptomatologie propre à orienter le diagnostic vers une tumeur insulaire mais avec symptômes généraux banals tels un ictère ou des troubles digestifs divers (cas 9 à 11 et 13 à 15). Le cas 11 mérite quelques commentaires. Le patient présente un ictère et une hépatomégalie causés par une tumeur de la tête du pancréas avec métastases hépatiques. Une pancréatectomie céphalique palliative est effectuée. A l'examen histologique, le diagnostic d'insulome malin A₂ est posé. Des suites post-opératoires défavorables ne permettent pas de procéder à des épreuves fonctionnelles et le patient décède 11 jours plus tard. Du glucagon pancréatique est présent dans deux prises de sang effectuées pendant la période terminale et dans une métastase hépatique prélevée 45 minutes après le décès. Dans le *dernier groupe*, nous avons rangé les cas asymptomatiques: l'insulome était une trouvaille d'autopsie dans le cas 12, une découverte de laparotomie dans le cas 16 opéré pour un cancer du colon.

Le matériel provient de l'institut d'anatomie pathologique de Lausanne (cas 1 à 3, 5, 10 à 11, 13 à 16) auxquels s'ajoutent 6 cas des instituts de pathologie de Bâle (cas 6 à 8, 12), de Zurich (cas 4) et de Genève (cas 9) examinés avec nos méthodes dans notre institut. L'aspect chirurgical des cas 1 à 3, 5, 11 et 15 de notre série a déjà été mentionné dans une publication antérieure (Bougha, 1970), tandis qu'un autre travail (Steiner, 1969) inclut les cas 1 et 2 dans une étude sur les tumeurs endocrines à stroma amyloïde.

Une biopsie de pancréas humain normal a servi de matériel pour la comparaison en microscopie électronique des cellules tumorales avec les différents types cellulaires langerhansiens.

Méthodes

1. Microscopie optique

Les fragments tissulaires fixés au formol à 10% et au fixateur de Bouin ont été inclus en paraffine. Les colorations histologiques suivantes, en plus des colorations de routine, ont été utilisées:

Masson-Hamperl (Hamperl, 1932) pour la mise en évidence de la sérotonine, aldéhyde-fuchsin selon Gomori-Runge (Müller *et al.*, 1956) colorant les cellules B en bleu et les cellules A₁ et A₂ en orange, bleu de victoria selon Ivic pour la distinction des cellules B colorées en bleu des cellules A₁ et A₂ colorées en rouge (Ivic, 1959), Davenport-Hellerström (Hellerström et Hellman, 1960) pour la mise en évidence des cellules A₁ et Grimelius (Grimelius, 1968 a, b) pour la coloration des cellules A₂.

2. Microscopie électronique

Des fragments de pancréas normal, de métastases hépatiques prélevés environ 45 minutes post mortem (cas 11) et de tumeur pancréatique prélevés immédiatement après l'exérèse chirurgicale (cas 16) sont fixés au glutaraldéhyde à 2,3% en tampon cacodylate de sodium postfixés au tétroxyde d'osmium à 2% dans le même tampon, puis enrobés en Epon.

Des coupes de 1 μ obtenues à l'ultramicrotome permettent de choisir au microscope à lumière les régions destinées à l'examen ultrastructural. Les coupes fines sont contrastées à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb, puis observées au microscope électronique Philips EM 300 à 80 kV avec un diaphragme mince de 40 μ dans l'objectif.

Résultats

1. Morphologie classique

Du point de vue *macroscopique*, les dimensions des différentes tumeurs sont données dans le tableau 1. Leur localisation dans la tête (5 cas), dans le corps (6 cas) ou dans la queue (3 cas) du pancréas, ou finalement dans la paroi duodénale (2 cas) ne permet aucune conclu-

Tableau 1

Numéro	Sexe	Age	Symptomatologie	Diamètre (cm)
1.	F	22	H	1
2.	F	60	H	1
3.	F	73	H	4
4.	M	52	H	~3
5.	F	46	U	2
6.	F	61	U	0,5
7.	M	70	U	max 0,4
8.	F	21	U	max 0,5
9.	F	76		2,5
10.	M	63	I	2,5
11.	M	32	I	2
12.	M	61		1
13.	M	61		5,5
14.	F	40		9
15.	M	60		5
16.	F	39		7

M = masculin; F = féminin; H = hypoglycémique; U = ulcéreuse; I = ictérique.

sion. Cinq tumeurs (cas 1, 3, 9, 12 et 16) sont nettement délimitées par une capsule. La consistance, en général ferme, n'est pas nettement différente de celle du tissu pancréatique avoisinant. Certaines tumeurs contiennent des calcifications (cas 3), des zones de nécrose (cas 14) ou des kystes (cas 5). Deux cas seulement ont présenté des métastases, dans les ganglions péripancréatiques pour le cas 10, dans le foie pour le cas 11. Une infiltration tumorale des veines péripancréatiques a été notée deux fois (cas 11 et 14).

L'aspect microscopique, quant à lui, a révélé des variations considérables d'un cas à l'autre. En ce qui concerne les *insulomes bénins* (nous reviendrons sur le délicat diagnostic de malignité), il est possible de faire ressortir *trois images histologiques fondamentales*:

dans la première, la tumeur est constituée en quelque sorte par un îlot géant dans lequel les cellules, en rapport étroit avec de nombreux capillaires, sont disposées selon un aspect médullaire. Nous avons rencontré cet aspect, illustré par la fig. 1, dans 3 cas (5, 12 et 16).

La seconde image est caractérisée par la présence de rosettes dans lesquelles les cellules, parfois cylindriques, entourent les capillaires (fig. 2) comme dans les cas 2 et 14.

Le plus souvent pourtant, la tumeur est formée par des travées et des rubans composés d'une seule à une dizaine de cellules anastomosés les uns avec les autres et formant des méandres. Souvent l'aspect général ressemble à celui d'un carcinoïde (cas 1, 3, 6 et 10, fig. 3).

Le cas 15 diffère légèrement de ces aspects typiques avec ses cellules cylindriques et ses noyaux allongés en arrangement palissadique (fig. 5).

Dans les cas 7 et 8, nous avons trouvé, non pas une tumeur isolée, mais de nombreux microadénomes en partie encapsulés constitués de cordons de cellules A₁ (fig. 4 et 8): cet aspect différant d'une simple hyperplasie insulaire (îlots plus grands et plus nombreux que dans un pancréas normal) nous a incité à conserver le terme d'hyperplasie adénomateuse.

Le stroma tumoral, tantôt fin et peu abondant, limité à quelques fibres collagènes autour des capillaires, apparaît au contraire dans d'autres cas sous la forme de larges travées fibreuses (cas 2 et 3) ou de masses hyalines homogènes plus ou moins importantes (cas 1, 2, 4 et 9) réagissant comme l'amyloïde avec les colorants spéciaux, rouge Congo et thioflavine. Entre ces masses amorphes, les cellules sont parfois réduites à quelques fins cordons (fig. 6). A l'exception du cas 9 discuté plus loin, ce stroma amyloïde est situé dans des insulomes.

Les deux cas pour lesquels le diagnostic de malignité a été retenu méritent une description histologique particulière:

Cas 10. La tumeur, bien délimitée par une épaisse capsule fibreuse, est composée de travées épithéliales de largeur variée (fig. 3). Les cellules sont très régulières, polygonales, de taille moyenne, pourvues d'une bande mince de cytoplasme légèrement éosinophile et de noyaux relativement gros, ronds, clairs à chromatine finement dispersée et nucléole bien visible. Un examen attentif n'a pas permis de mettre en évidence une seule mitose. Un des ganglions prélevé autour de la tête du pancréas est presque entièrement occupé par le même tissu tumoral.

Cas 11. La tumeur mal délimitée, infiltrante, est constituée par des petites plages cellulaires séparées par des travées fibro-hyalines; quelques îlots tumoraux se retrouvent dans les gaines nerveuses et dans certains vaisseaux. Les cellules

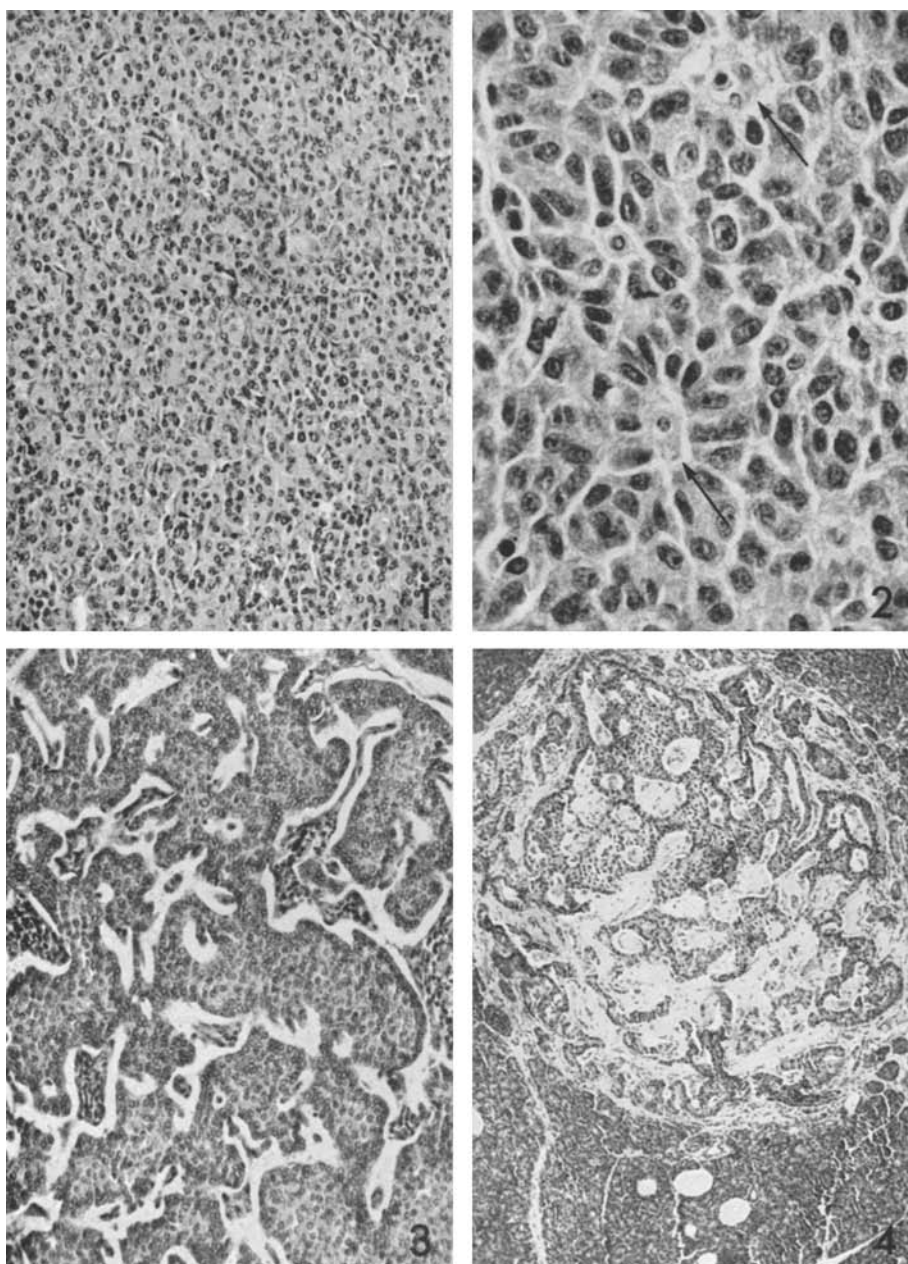


Fig. 1. Aspect médullaire. Multiples insulomes A_1 dans la queue du pancréas (cas 5, HE, $\times 160$)

Fig. 2. Aspect en rosettes (flèches). Insulome suspect (cas 14, HE, $\times 400$)

Fig. 3. Aspect carcinoïdien. Insulome malin A_2 (cas 10, HE, $\times 160$)

Fig. 4. Hyperplasie adénomateuse (cas 8, HE, $\times 40$)

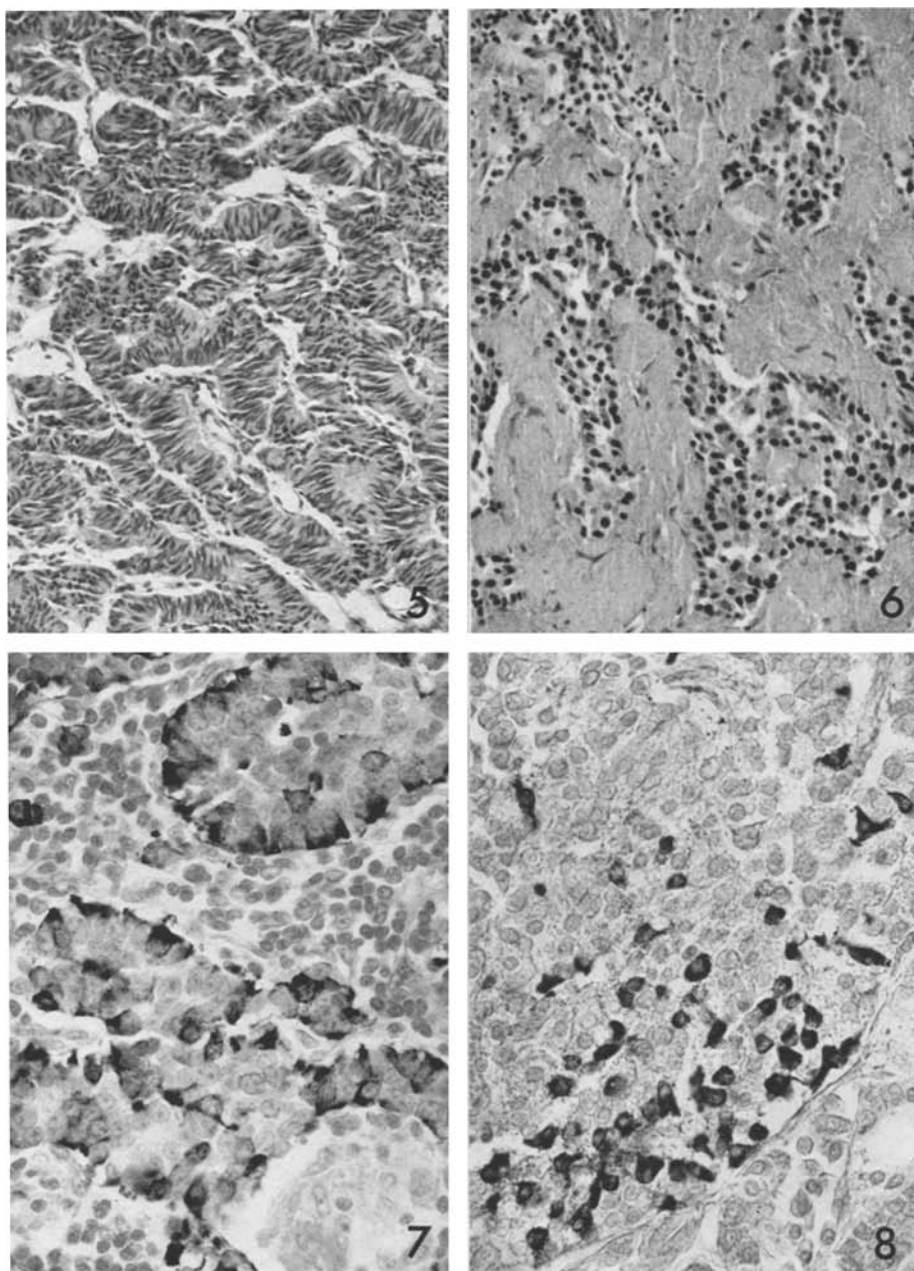


Fig. 5. Insulome. Noter la disposition en palissades (cas 15, HE, $\times 70$)

Fig. 6. Insulome B à stroma amyloïde (cas 4, rouge Congo, $\times 200$)

Fig. 7. Granules argyrophiles dans le cytoplasme d'un grand nombre de cellules tumorales. Insulome malin A₂ (cas 10, Grimelius, $\times 400$)

Fig. 8. Mise en évidence des cellules à production de gastrine. Hyperplasie adénomateuse dans le cadre d'une polyadénomatose (cas 7, Davenport-Hellerström, $\times 250$)

Tableau 2

	Aspect histo- logique	Colorations				Diagnostic histologique
		Runge	bleu de Victoria	Grimelius	Heller- ström	
1.	T	r	b	—	—	insulome B à stroma amyloïde
2.	T+R	v	b	—	—	insolome B à stroma amyloïde
3.	T+M	v	b	—	—	insolome B
4.	T	v	Ø	—	—	insulome B à stroma amyloïde
5.	M	o	r	—	+	multiples insolomes A ₁
6.	T	o	r	—	+	insulome A ₁
7.	T	o	r	—	+	hyperplasie adénomateuse (polyadénomateuse endocrinienne)
8.	T	o	r	—	+	hyperplasie adénomateuse
9.	T	o	r	—	+	insulome A ₁ à stroma amyloïde
10.	T	o	r	+	—	insulome malin A ₂
11.	T+M	o	r	+	—	insulome malin A ₂
12.	M	Ø	b	+	—	insulome A ₂
13.	T	v	Ø	—	—	insulome suspect
14.	R	o	r	—	—	insulome suspect
15.	T	o	Ø	—	—	insulome
16.	M+R	o	r	—	—	insulome a cellules B et A ₁

T = trabéculaire; R = en rosettes; M = médullaire; r = rouge; v = violet; o = orange; b = bleu; Ø = coloration pas faite.

ovulaires présentent un certain polymorphisme nucléaire et quelques mitoses. A l'autopsie, les métastases hépatiques ont un aspect histologique identique.

Deux autres cas sont fortement suspects de malignité.

Cas 13. Les cellules tumorales groupées en grandes plages richement capillarisées sont cubiques ou cylindriques avec peu de cytoplasme et des noyaux relativement grands, riches en chromatine, polymorphes, souvent en mitose.

Cas 14. A côté d'un certain polymorphisme cellulaire et nucléaire avec des cellules atypiques parfois plurinucléées, c'est la présence de bourgeons tumoraux dans une veine péripancréatique qui, dans ce cas, a orienté le pathologue vers le diagnostic de malignité.

2. Colorations spéciales

Les résultats des colorations destinées à préciser le diagnostic sont groupés dans le tableau 2. D'une manière générale, lorsque la fixation avait été correcte (fixation au Bouin, fragments tumoraux de petite taille, temps écoulé entre le prélèvement et la fixation ne dépassant pas 6 heures), les résultats sont satis-

faisants. La coloration de Gomori-Runge permet de distinguer clairement les cellules B, à cytoplasme bleu-violacé, des cellules A₁ et A₂ oranges. Dans le cas 1, la coloration rouge obtenue dans une tumeur accompagnée de syndrome hypoglycémique doit être attribuée à une fixation inadéquate en formol. Les colorations de Davenport-Hellerström et de Grimelius ont été nettement plus difficiles à réaliser et à interpréter: souvent plusieurs tentatives ont été nécessaires avant d'obtenir des résultats positifs. Dans tous les cas, seul un petit nombre de cellules tumorales, souvent situées en bordure, contiennent des dépôts d'argent (fig. 7 et 8).

3. Microscopie électronique

Ilot de Langerhans dans un pancréas humain normal. Les fig. 9—11 montrent l'aspect des 3 types cellulaires d'un îlot normal (Greider *et al.*, 1970):

Cellule A₁ avec de nombreux granules de sécrétion remplissant presque entièrement le cytoplasme, assez pâles, de taille et de forme régulières.

Cellule A₂ avec des granules globulaires, contenant une zone dense excentrique séparée de la membrane cellulaire par un halo plus clair.

Cellule B présentant des granules souvent accumulés à un pôle, de taille variable, entourés d'une membrane, polyédriques et en partie d'aspect cristallin.

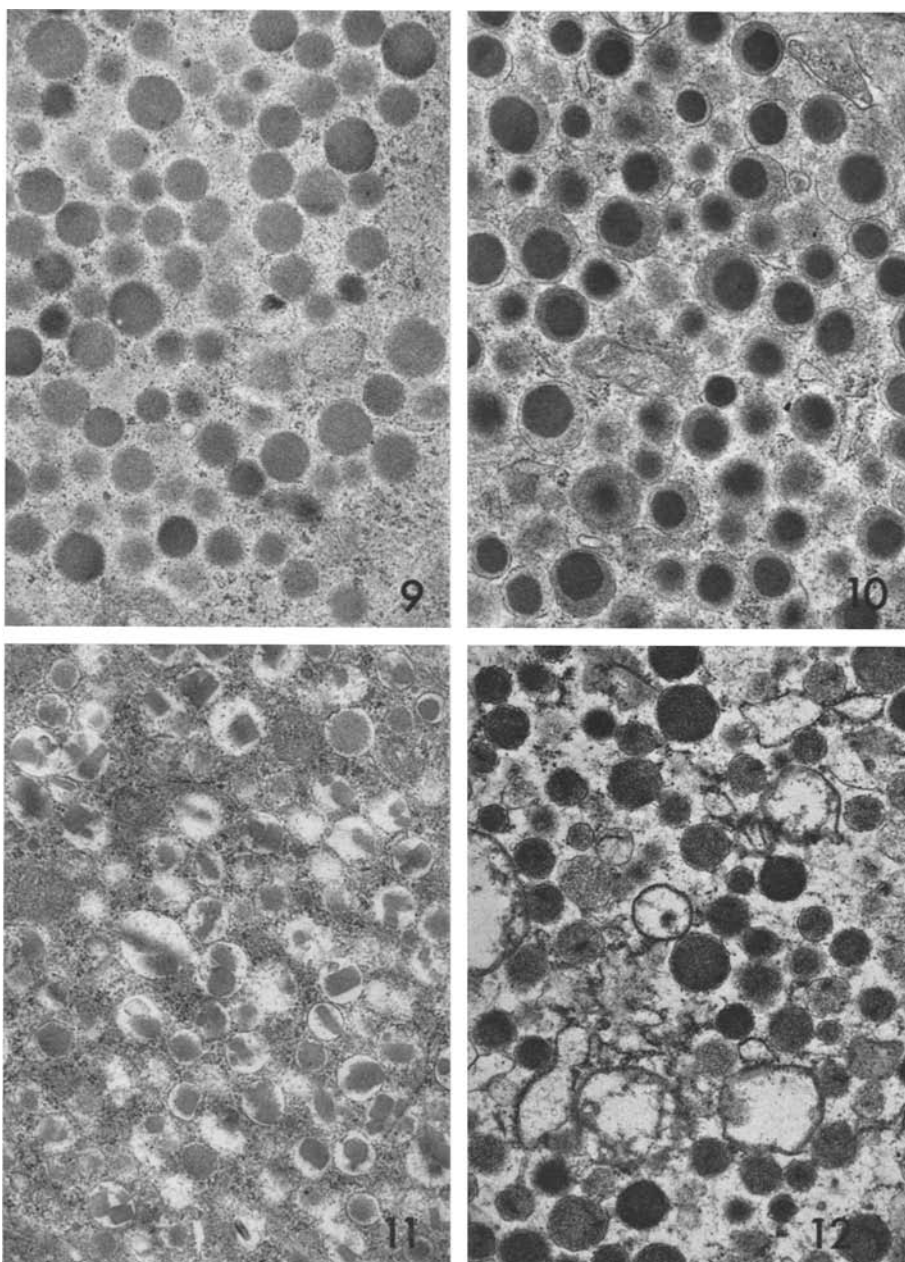
Cas 11 (Insulome A₂). Les granules de sécrétion des cellules tumorales sont des formations sphériques assez régulières d'un diamètre variant entre 0,2 et 0,3 μ : le plus souvent foncés comme ceux des cellules A₂, ils n'ont toutefois pas de centre plus dense entouré d'un halo clair caractéristique (fig. 12). Les mitochondries, gonflées et de structure mal conservée, témoignent d'une certaine autolyse et d'une conservation médiocre. Les granules présentent à la fois des critères des cellules A₁ et A₂ de sorte qu'il est difficile de les classer de façon définitive. L'image nous paraît pourtant plus proche des granules A₂.

Cas 16 (Insulome à cellules B et A₁). Si, dans la grande majorité des cellules, on ne trouve aucun granule mais seulement des vacuoles de taille parfois considérable, quelques cellules montrent pourtant des granules B caractéristiques (fig. 13) contenant des formations cristallines et souvent groupés à un pôle. D'autres cellules (fig. 14 et 15) contiennent des granules de type A, de taille normale ainsi que des granules d'un diamètre trois à dix fois plus grand, à contenu dense; ces grands granules présentent souvent en bordure quelques fines lamelles concentriques; quelqu'uns contiennent des zones à lamelles parallèles ou des vacuoles à l'emporte pièce, d'autres des figures myéliniques. Ces images peuvent être interprétées comme le résultat d'une activité lysosomale («granulolyse», «crinophagie»). Les conditions techniques n'ont toutefois pas permis de rechercher la présence d'hydrolases acides.

Discussion

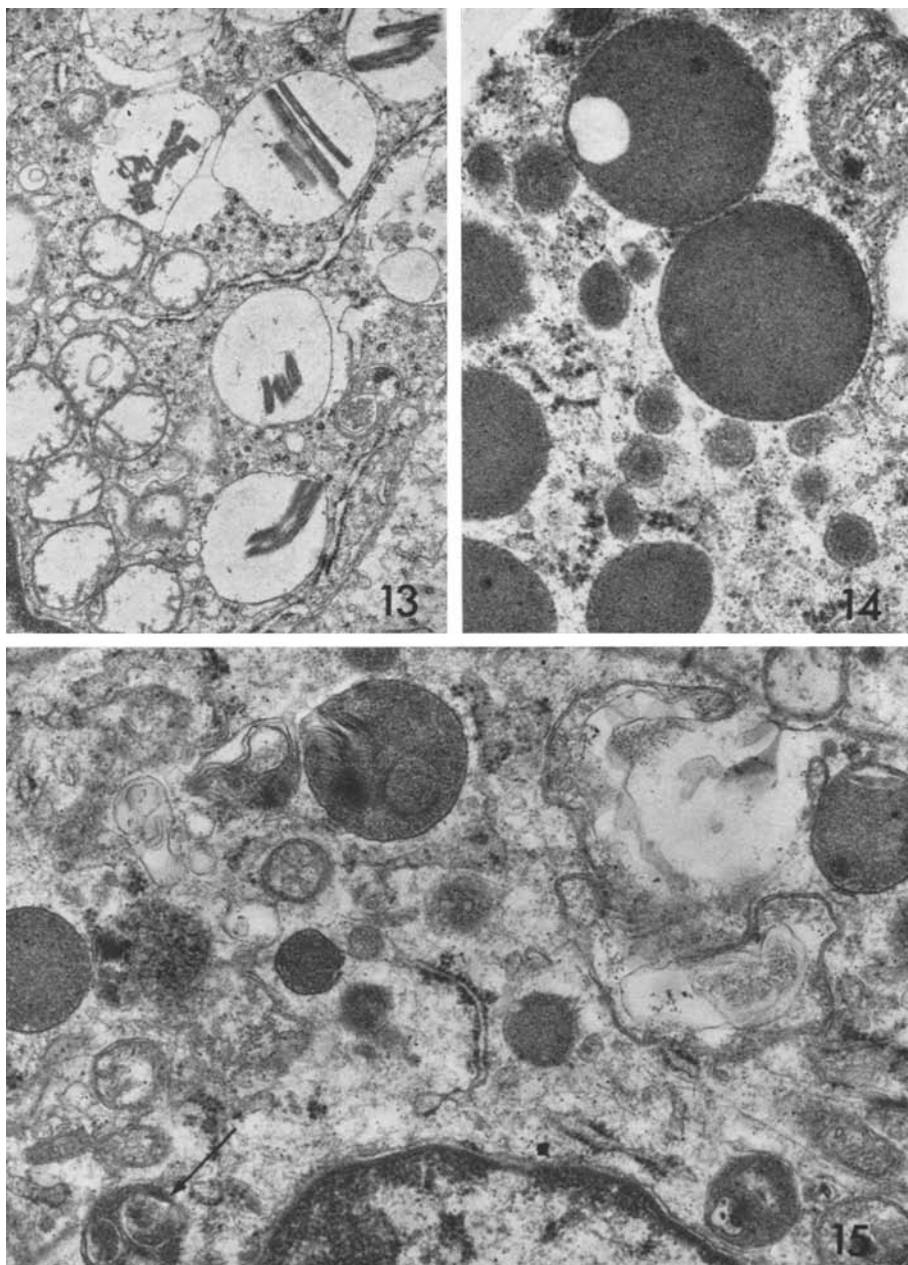
1. Critères de malignité

Le premier point de diagnostic, celui de savoir si une tumeur langerhansienne est bénigne ou maligne, est souvent difficile à trancher. Selon certains auteurs (Frank, 1959; Sieracki *et al.*, 1960) ni le polymorphisme, ni la délimitation capsulaire, ni les mitoses ne permettent de poser un diagnostic de certitude. Notre cas 10 (fig. 3) est un exemple très démonstratif des difficultés rencontrées des



Figs. 9—11. Pancréas humain normal ($\times 17500$). Granules de sécrétion de type A_1 (fig. 9), de type A_2 (fig. 10) et granules de type B avec cristaux (fig. 11)

Fig. 12. Métastase hépatique d'un insulome malin A_2 (glucagonome); noter la ressemblance des granules de sécrétion avec les granules de type A_2 (cas 11, $\times 17500$)



Figs. 13—15. Insulome à cellules B et A₁ (cas 16). Granules de sécrétion B avec cristaux caractéristiques (fig. 13, $\times 14000$). Granules de type A₁ (fig. 14, $\times 35000$ et 15, $\times 27000$). Noter la différence de taille des granules (fig. 14) et les images d'activité lysosomale (flèche, fig. 15)

cellules régulières sans mitose, une capsule ininterrompue et sans invasion pourraient suggérer un diagnostic de bénignité qui est infirmé par la présence de métastases ganglionnaires péripancréatiques. A l'inverse, une tumeur mal délimitée, apparemment infiltrante avec des cellules de taille et de forme irrégulières, des atypies et des mitoses (cas 15), primitivement classée comme carcinome, n'est peut-être pas maligne et le patient se porte bien sans métastase ni récédive 2 ans après l'intervention.

De ces remarques, il ressort que l'attitude la plus prudente et la plus raisonnable consiste à adopter trois catégories. insulomes malins en présence prouvée de métastases, insulomes histologiquement douteux chaque fois que l'aspect cellulaire, le caractère infiltrant, voire la présence de bourgeons tumoraux dans une veine sont suspects et, finalement, insulomes bénins

Si l'activité hormonale n'est pas quant à elle un critère de malignité, elle peut être par contre un élément important pour détecter des métastases ou une récédive. Le diagnostic fonctionnel a donc un intérêt pratique et la recherche d'une substance active s'impose en clinique comme dans les biopsies.

2. Détermination du type cellulaire d'origine

La classification précise se base sur les données apportées sur les trois plans clinique, biochimique et morphologique. Dans le diagnostic des tumeurs non fonctionnelles, la morphologie occupe une place prépondérante. Les *moyens morphologiques* qui permettent de préciser le diagnostic d'insulome sont (a) l'histologie et l'histochimie, (b) l'immunohistofluorescence et (c) la microscopie électronique.

a) Dans le *premier groupe* on dispose d'un certain nombre de colorations dont la spécificité est assez grande et qui permettent de s'orienter vers un type cellulaire (voir méthodes). Des méthodes histochimiques spécifiques (monoamines, tryptophane dans les glucagonocytes etc) viennent compléter ces colorations (Levine et Glenner, 1958). Il faut cependant souligner l'importance d'une fixation appropriée en Bouin du matériel.

b) *L'immunohistofluorescence* est aussi sensible et spécifique que le dosage biochimique et permet de localiser des quantités minimales de substances actives telles que l'insuline, la gastrine et le glucagon (Iturriza *et al.*, 1970; Lomsky *et al.*, 1969a, b).

c) *En microscopie électronique*, de nombreux travaux (Björkman *et al.*, 1966; Greider et Elliott, 1964; Greider *et al.*, 1970; Like, 1967) ont apporté des descriptions des granules de sécrétion des cellules langerhansiennes (fig. 9—11). Si Like (1967) se contente de distinguer entre cellules A et B et admet que les cellules D (A_1 de notre nomenclature) ne sont que des cellules A modifiées, Greider, (1970) lui, estime que les différences morphologiques sont suffisamment nettes pour qu'on puisse admettre qu'elles correspondent à 3 types cellulaires distincts. Dans le tissu tumoral, la difficulté de distinction entre granules A_1 et A_2 est encore plus grande et nous avons dû nous contenter de dégager une ressemblance avec un type de granule plutôt qu'un autre.

L'ensemble de ces différents moyens permet pourtant de poser un diagnostic précis de type cellulaire dans au moins 3/4 des cas; les cas 11 et 16 illustrent bien

la précision du diagnostic apportée par la morphologie. Dans le cas 11, ni la clinique avec une légère hyperglycémie, ni la biochimie avec une glucagonémie normale après resection de la tumeur principale n'auraient permis de poser le diagnostic de glucagonome; l'histochimie (coloration de Grimelius) par contre mettait en évidence la présence de cellules A₂ dans la tumeur en l'absence de cellules contenant de la sérotonine. Par la suite, la présence de cellules de type A pouvait être confirmée au microscope électronique et du glucagon était démontré par dosage biochimique dans une métastase hépatique.

Dans le cas 16, l'histochimie soignée ne donnait aucun signe de la présence de cellules hormonalement actives. Par contre, l'examen ultrastructural montrait l'image de cellules endocrines contenant un nombre considérable de granules, mais ceux-ci étaient en grande partie le siège d'une activité lysosomale. Les colorations spécifiques et les dosages ne pouvaient vraisemblablement plus mettre en évidence leur présence car on estime que les réactions chimiques des méthodes histologiques dites spécifiques se font avec la membrane qui englobe les granules (Grimelius, 1969). De plus, sous l'action des lysosomes, les substances hormonales semblent être inactivées avant qu'elles puissent avoir un effet spécifique. Une activité lysosomale semblable a d'ailleurs été démontrée expérimentalement par Orci *et al.* en 1970. L'ultrastructure nous permet ainsi de classer ce cas d'une façon précise.

Si le diagnostic morphologique et fonctionnel a permis de préciser le type cellulaire dans un nombre considérable de tumeurs muettes sur le plan clinique, il n'en subsiste pas moins des cas douteux ou franchement négatifs sur plusieurs plans. Il faut donc se borner à un diagnostic plus réservé si les examens n'ont pas été complets ni réalisés dans les conditions les meilleures, si la clinique et la localisation de la tumeur, surtout au voisinage du duodénum, laissent plusieurs possibilités ouvertes, ou, si l'aspect histologique sort du cadre habituel des insulomes.

Dans notre série de 16 cas, 13 bénéficient d'un diagnostic de type cellulaire précis alors que dans les 3 derniers les conditions techniques n'ont pas permis de mettre en évidence les granules caractéristiques; il est possible qu'avec une fixation adéquate par les colorations spéciales et la microscopie électronique, ces 3 cas auraient pu, eux aussi, entrer dans une catégorie cellulaire.

La répartition de nos cas selon ces critères est visible sur le tableau 3.

3. Types d'insulomes observés

Insulome B. De nombreux cas fonctionnels avec syndrome hypoglycémique ont été rapportés dans la littérature. Levin (1968) en mentionne environ 900. Scholz *et al.* (1960), dans une série de 95 cas observent la répartition suivante: 78% sont des adénomes bénins, 12% sont à classer comme «douteux» et 10% sont des tumeurs malignes.

Insulome A₁. Depuis la première description par Zollinger et Ellison en 1955 d'un syndrome associant une hypersécrétion gastrique, des ulcérations gastro-intestinales de localisation souvent atypique et d'évolution fulminante et une tumeur insulaire du pancréas, de nombreux cas ont été rapportés (Ellison et Wilson, 1964), 1/3 environ accompagnés de diarrhées et d'hypokaliémie. Plus

Tableau 3

		Comportement biologique		
		Bénins	Douteux	Malins
Type cellulaire bien défini	avec symptomatologie clinique endocrinienne	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ^a , 8 ^b	—	—
	sans symptomatologie clinique endocrinienne	9, 12, 16	—	10, 11
Type cellulaire non défini	sans symptomatologie clinique endocrinienne	15	13, 14	—

^a Hyperplasie adénomateuse dans le cadre d'une polyadénomatose endocrinienne.

^b Hyperplasie adénomateuse.

tard l'identité de la substance responsable du syndrome avec la gastrine a pu être démontrée (Gregory, 1967; Lomsky *et al.*, 1969b) et la présence de cette dernière dans les cellules A₁ (ou D) du pancréas a été mise en évidence par Lomsky *et al.* en 1969.

La proportion de tumeurs malignes est nettement plus importante dans les «gastrinomes» que dans les «insulinomes» puisqu'elle s'élève à 60% environ (Ellison et Wilson, 1964) le reste étant représenté par les tumeurs bénignes (30%) et les hyperplasies (10%). Notre matériel comprend 5 cas de syndrome Zollinger-Ellison, dont une hyperplasie adénomateuse et 4 adénomes bénins. Parmi ceux-ci, le cas 9 représente, à notre connaissance, le seul cas d'insulome A₁ contenant un stroma amyloïde (Steiner, 1969).

Insulome A₂. L'existence de cette entité nouvelle, le «glucagonome» ne peut pas être mise en doute depuis que le terme a été introduit par Unger *et al.* en 1966 et que l'on a mis en évidence la connection étroite de l'apparition de cette tumeur avec un diabète insulino-résistant. Bien auparavant déjà, des cas mentionnés dans la littérature et inclus simplement dans les tumeurs des cellules A, avec ou sans diabète doivent peut-être être classés dans le groupe des glucagonomes probables (Gössner et Korting, 1960; Hess, 1946). La teneur en glucagon a été mesurée pour la première fois par McGavran *et al.* en 1963 dans une tumeur pancréatique et trouvée élevée à 14 µg/g.

Lomsky *et al.* en 1969 ont pu mettre en évidence, par une technique d'immunofluorescence spécifique, la présence de glucagon dans 9 cas d'adénomes pancréatiques, ce qui porterait à 14 le nombre de cas certains de glucagonomes (10 bénins et 4 malins).

Les trois cas classés comme insulome A₂ dans notre série méritent un commentaire particulier. En fait, dans les cas 10 et 12 seule l'histologie était positive, tandis que la clinique ne permettait pas de poser ce diagnostic et que les examens biochimiques ne pouvaient être réalisés; c'est le diagnostic de glucagonome probable qu'il faut donc retenir. L'argument supplémentaire apporté par le microscope électronique et le dosage biochimique permet par contre d'être plus affirmatif dans le cas 11.

4. Relations entre insulomes et carcinoïdes

En examinant l'aspect histologique de notre série d'insulomes, nous avons été frappés à plusieurs reprises par la ressemblance qui existait entre ces tumeurs et les carcinoïdes, notamment dans les cas 1 et 10: mêmes cellules uniformes, polygonales, de 10 à 15 μ de diamètre avec des noyaux en position centrale, petits, ronds, moyennement riches en chromatine: même arrangement des cellules en îlots et travées solides séparées par des septa conjonctifs avec, dans certains cas, une disposition glanduliforme. A cette ressemblance purement morphologique s'ajoutent certaines autres analogies: difficulté de distinguer entre tumeur bénigne et maligne en l'absence de métastases, évolution lente et grande ressemblance des granules de sécrétion des cellules A et des cellules carcinoïdiennes argyrophiles au microscope électronique.

De cette analogie on peut tirer l'hypothèse suivante: certains insulomes et certains carcinoïdes pourraient avoir un point de départ commun. Cette hypothèse est étayée par de nombreuses observations tirées de la littérature et qui constituent une série d'arguments que l'on peut grouper de la façon suivante pour plus de clarté: arguments histologiques, cliniques et embryologiques.

a) *Histologie.* nous l'avons dit, la ressemblance morphologique est frappante; Weichert *et al.* en 1967 rapportent 6 cas de syndrome de Zollinger-Ellison causés par des tumeurs du duodénum pouvant être classées soit comme insulomes soit comme carcinoïdes. Thompson *et al.* en 1968 insistent sur le fait que la différenciation entre les tumeurs des îlots de Langerhans et les carcinoïdes du duodénum n'est pas possible sur la base de critères histologiques.

b) *Clinique.* la confusion possible entre ces deux entités est illustrée par le fait que l'on trouve dans la littérature un nombre non négligeable de «carcinoïdes» essentiellement duodénaux (Gerber *et al.*, 1960; Goodman, 1964; Guida *et al.*, 1966; Horseley et Golden, 1957, Weichert *et al.*, 1967) mais également bronchique (Shames *et al.*, 1968) ou hépatiques (Aronson *et al.*, 1970) associés à des symptômes habituellement rencontrés dans les insulomes, tels des ulcères gastriques et duodénaux, une hypersécrétion gastrique ou un hyperinsulinisme. Réciproquement, des cas d'insulomes avec production de sérotonine ou de ses dérivés (Gulledge *et al.*, 1967; Moertel *et al.*, 1965; Sirars *et al.*, 1970) ont été publiés. Finalement, les cas d'association chez un même patient de tumeurs langerhansienues et de carcinoïdes parfois multiples, suggérant la possibilité d'une sorte de «carcinoïdomatose» (Dirschmid, 1969. Feyrter, 1962) sont encore plus fréquents de même que les cas de plusieurs substances actives dont la sérotonine et ses dérivés, la gastrine, l'insuline et le glucagon, mises en évidence dans une même tumeur pancréatique (Dollinger *et al.*, 1967; Gepts *et al.*, 1962; Gloor *et al.*, 1964; Heitz *et al.*, 1971; Murray-Lyon *et al.*, 1968; Shieber, 1963; Wegman *et al.*, 1964).

c) *Embryologie.* Feyrter (1968) admet que le pont de départ des insulomes sont les éléments non seulement des îlots de Langerhans, mais encore de ce que cet auteur appelle le système endocrinien des cellules claires que l'on trouve dans les canaux pancréatiques et disséminés dans le parenchyme exocrine. Ces cellules développent des tumeurs solides plexiformes de type carcinoïde et peuvent être argyrophiles ou argyrophobes, toutes caractéristiques que possèdent, au même titre, certaines cellules du tube digestif. Or, on sait que le pancréas se forme à partir d'éléments de l'intestin antérieur qui donnent les bourgeons

cellulaires des deux ébauches primitives, et il serait plausible d'admettre que les carcinoïdes typiques de l'intestin antérieur (Williams et Sandler, 1963), les carcinoïdes bronchiques et certains insulomes dérivent tous de la même cellule souche. Sous cet aspect, le cas 9 (tumeur à cellules argyrophiles et stroma amyloïde) entrerait encore dans ce groupe élargi de Feyrter.

Cette hypothèse d'un point de départ commun des cellules endocrines du tube digestif et du pancréas, qui permet probablement d'expliquer le mieux la présence de tumeurs avec production multiple d'hormones, est reprise plus récemment par Weichert en 1970 qui parle de cellules neuroendocrines. Celles-ci migreraient à partir du tractus digestif primitif en direction de leur destination définitive pour y former non seulement les îlots de Langerhans, mais encore l'hypophyse antérieure, les parathyroïdes, le corps ultimo-branchial et le thymus. Il se dessine ainsi une entité plus vaste que celle de Feyrter, groupant un certain nombre de cellules à caractéristiques communes; elles peuvent notamment toutes décarboxyler les précurseurs des amines et stocker aussi bien ces précurseurs que les amines elles-mêmes, d'où leur nom de cellules APUD pour «*amine and precursor uptake and decarboxylase*» (Pearse, 1968).

Cette théorie unitaire constitue également, en quelque sorte, un excellent point de départ pour la discussion des polyadénomatoses endocrinienne (que nous ne faisons que mentionner ici sans entrer dans les détails) dont nous avons un exemple dans notre série, le cas 7, qui présente, en plus des adénomes langerhansiens multiples, un adénome chromophile de l'hypophyse antérieure et une hyperplasie avec adénome de la corticosurrénale. Sous cet angle, et si cette hypothèse est correcte, la polyadénomatose endocrinienne multiple pourrait être interprétée comme une dysplasie du neuroectoderme, et par conséquent, la présence d'un insulome — actif ou inactif — devrait toujours attirer l'attention du clinicien sur la possibilité d'une autre affection glandulaire.

Conclusions

En présence d'une tumeur du pancréas, le pathologue devrait toujours essayer de poser un diagnostic histologique précis. Dans un certain nombre de cas, la symptomatologie clinique oriente ce diagnostic vers un type de cellule langerhansienne qui ne demande qu'à être confirmé surtout si des dosages sérologiques hormonaux ont déjà été effectués. Mais dans d'autres cas, la tumeur du pancréas peut être muette sur le plan hormonal ce qui n'exclut pas pour autant un point de départ insulaire; sur le plan pratique, les mesures indispensables à la réalisation des examens complémentaires sont: fixation de petits fragments tumoraux en Bouin pour l'histochimie, congélation d'autres fragments pour le dosage biochimique de substances actives et finalement préparation de prélèvements pour la microscopie électronique. Le diagnostic précis d'un insulome, rendu souvent possible par ces examens complémentaires, est souhaitable pour la détection des récidives ou l'association éventuelle avec une polyendocrinopathie.

Nous tenons à remercier ici les personnes suivantes: le Dr L. Heding qui a dosé le glucagon dans une tumeur; le Dr Ph. Heitz de la collaboration et du matériel qu'il nous a apportés; le Dr M. Campiche de ses conseils et de son enseignement; finalement, Mlles M.-M. Bertholet et N. Weber ainsi MM P. Perret et M. Aebischer de leur précieuse aide technique.

Bibliographie

- Aronsen, K. F., Boquist, L., Falkmer, S., Hägerstrand, I., Steiner, H., Studnitz, W. von: Carcinoid syndrome and hyperinsulinism. *Acta path. microbiol. scand.* **78A**, 265—276 (1970).
- Björkman, N., Hellerström, C., Hellman, B., Petersson, B.: The cell types in the endocrine pancreas of the human fetus. *Z. Zellforsch.* **72**, 425—445 (1966).
- Bougha, P.: Tumeurs endocrines du pancréas (sécrétrices et apparemment inertes). *Praxis* **23**, 853—863 (1970).
- Dirschmid, K.: Zur Frage einer generalisierten Blastomatose (Carcinoidomatose) des „helle Zellen“-Systems. *Beitr. path. Anat.* **139**, 187—198 (1969).
- Dollinger, M. R., Ratner, L. H., Shamoian, C. A., Blackburn, B. D.: Carcinoid syndrome associated with pancreatic tumors. *Arch. intern. Med.* **120**, 575—580 (1967).
- Ellison, E. H., Wilson, S. D.: The Zollinger-Ellison syndrome: re-appraisal and evaluation of 260 registred cases. *Ann. Surg.* **160**, 512—530 (1964).
- Feyrter, F.: Über die zahlenmäßige Häufigkeit pathischer Organbefunde beim benignen enteralen Karzinoid. *Med. Welt* **1**, 912—918 (1962).
- Feyrter, F.: Die peripheren endokrinen (parakrinen) Drüsen. De: *Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie*, Kaufmann, E., *Ergänzungsband 1*, 1. Hälfte, S. 653—700. Berlin: Walter de Gruyter & Co. 1968.
- Frank, V. K.: Tumors of the pancreas. *Armed Forces of pathology*, section VII, fascicles 27 and 28 (1959).
- Gepts, W., Desneux, J. J., Henrohn, E.: Tumeurs insulaires à cellules argento-réductrices (carcinoides). *Acta gastro-ent. belg.* **23**, 162—169 (1960).
- Gerber, B. C., Aberdeen, S. D., Shields, T. W.: Simultaneous duodenal carcinoid and non-beta cell tumors of the pancreas. *Arch. Surg.* **81**, 379—388 (1960).
- Gloor, F., Pletscher, A., Hardmeier, Th.: Metastasierendes Inselzelladenom des Pankreas mit 5-Hydroxytryptamin- und Insulinproduktion. *Schweiz. med. Wschr.* **94**, 1476—1480 (1964).
- Goodman, J. M.: Duodenal submucosal islet-cell adenoma and chronic gastroduodenitis. *Amer. J. Surg.* **108**, 726—729 (1964).
- Gössner, W., Korting, G. W.: Metastasierendes Inselzellkarzinom vom A-Zelltyp bei einem Fall von Pemphigus foliaceus mit Diabetes renalis. *Dtsch. med. Wschr.* **65**, 434—437 (1960).
- Gregory, R. A.: Nature of the gastric secretagogue in Zollinger-Ellison tumors. *Lancet* **1967 II**, 543—544.
- Greider, M. H., Bencosme, S. A., Lechago, J.: The human pancreatic islet cells and their tumors. I. The normal pancreatic islets. *Lab. Invest.*, **22**, 344—354 (1970).
- Greider, M. H., Elliott, D. W.: Electron microscopy of human pancreatic tumors of islet cell origin. *Amer. J. Path.* **44**, 663—678 (1964).
- Grimelius, L.: A silver nitrate stain for alpha-2 cells in human pancreatic islets. *Acta Soc. Med. upsalien.* **73**, 243—270 (1968a).
- Grimelius, L.: The argyrophil reaction in islets cells of adult human pancreas studied with a new silver nitrate procedure. *Acta Soc. Med. upsalien.* **73**, 271—294 (1968b).
- Grimelius, L.: An electron microscopic study of silver stained adult human pancreatic islets with reference to a new silver nitrate procedure. *Acta Soc. Med. upsalien* **74**, 28—48 (1969).
- Guida, P. M., Todd, J. E., Roore, S. W., Beat, J. M.: Zollinger-Ellison syndrome with interesting variants. Report of twelve cases including one of carcinoid of the duodenum. *Amer. J. Surg.* **112**, 807—817 (1966).
- Gulledge, A. D., Kavanaugh, G. J., Priestley, J. T.: Cutaneous flushing as a primary manifestation of functioning insulinoma: report of a case. *Mayo Clin. Proc.* **42**, 547—550 (1967).
- Hamperl, H.: Was sind argentaffine Zellen? *Virchows Arch. path.* **286**, 811—833 (1932).
- Heding, L. G.: The production of glucagon antibodies in rabbit. *Horm. metab. Res.* **1**, 87—88 (1969).
- Heitz, Ph., Steiner, H., Halter, F., Egli, F., Kapp, J. P.: Multihormonal-amyloid-producing tumor of the islets of Langerhans in a twelve year old boy. *Virchows Arch. Abt. A* **353**, 312—324 (1971).

- Hellerström, C., Hellman, B.: Some aspects of silver impregnation of the islets of Langerhans in the rat. *Acta endocr. (Kbh.)* **35**, 518—532 (1960).
- Hess, W.: Über ein endokrin inaktives Karzinom der Langerhansschen Inseln. Schweiz. med. Wschr. **75**, 802—804 (1946).
- Horseley, G. W., Golden, B. N.: Carcinoid tumors of the duodenum. *Int. Abstr. Surg.* **105**, 417—424 (1957).
- Iturriza, F. C., Zieher, L. M., Mainetti, J. M.: A fluorescent reaction for monoamines in aninsulinoma. *J. clin. Endocr.* **31**, 580—581 (1970).
- Ivic, M.: Neue selektive Färbungsmethode der A- und B-Zellen der Langerhansschen Inseln. *Anat. Anz.* **107**, 347—350 (1959).
- Levin, M. E.: Endocrine syndrome associated with pancreatic alpha cell tumors. *Med. Clin. N. Amer.* **52**, 295—312 (1968).
- Levine, H. J., Glenner, G. G.: Observations on tryptophan staining of the pancreatic alpha cells. *J. nat. Cancer Inst.* **20**, 63—69 (1958).
- Like, A. A.: The ultrastructure of the secretory cells of the islets of Langerhans in man. *Lab. Invest.* **16**, 937—951 (1967).
- Lomsky, R., Langr, F., Vortel, V.: Demonstration of glucagon in islet cell adenomas of the pancreas by immunofluorescent technic. *Amer. J. clin. Path.* **51**, 245—250 (1969a).
- Lomsky, R., Langr, F., Vortel, V.: Immunohistochemical demonstration of gastrin in mammalian islets of Langerhans. *Nature (Lond.)* **223**, 618—619 (1969b).
- McGavran, M. H., Unger, R. H., Recant, L., Polk, H. C., Kilo Ch., Levein, E.: A glucagon-secreting alpha-cell carcinoma of the pancreas. *New Engl. J. Med.* **274**, 1408—1413 (1966).
- Moertel, Ch. G., Beahrs, O. H., Woolner, L. B., Tyce, G. M.: "Malignant carcinoid syndrome" associated with noncarcinoid tumors. *New Engl. J. Med.* **273**, 244—248 (1965).
- Müller, I., Runge, W., Ferner, H.: Cytologie und Gefäßverhältnisse des Inselorgans bei der Ente. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **62**, 165—186 (1956).
- Murray-Lyon, I. M., Eddleston, A. L. W. T., Williams, R., Brown, M., Hogbin, B. M., Bennet, A., Edwards, J. C., Taylor, K. W.: Treatment of multiple-hormone-producing malignant-islet-cell tumour with streptozotocin. *Lancet* **1968 II**, 895—898.
- Orci, L., Stauffacher, W., Dublin, W. E., Renold, A. E., Rouiller, Ch.: Ultrastructural changes in A-cells exposed to diabetic hyperglycaemia. Observations made on pancreas of chinese hamsters. *Diabetologia* **6**, 199—206 (1970).
- Pearse, A. G. E.: Common cytochemical and ultrastructural characteristics of cells producing polypeptide hormones (the APUD series) and their relevance to the thyroid and ultimobranchial G cells and calcitonin. *Proc. roy. Soc. Med.* **170**, 71—80 (1968).
- Scholz, D. A., Remine, W. H., Priestley, J. T.: Hyperinsulinism: Review of 95 cases of functioning pancreatic islet cell tumors. *Mayo Clin. Proc.* **35**, 545—550 (1960).
- Shames, J. M., Dhurandhar, N. R., Blackard, W. G.: Insulin-secreting bronchial carcinoid tumor with widespread metastases. *Amer. J. Med.* **44**, 632—637 (1968).
- Shieber, W.: Insulin-producing Zollinger-Ellison tumor. *Surgery*, **54**, 448—450 (1963).
- Sieracki, J., Marshall, R. B., Usaf, C., Horn, R. C.: Tumors of the pancreatic islets. *Cancer (Philad.)* **13**, 347—357 (1960).
- Sirars, W., Brunt, P. W., Walker, R. J., Small, W. P., Falkoner, C. W. A., Thomson, C. G.: Two cases of "pancreatic cholera" with features of peptide-secreting adenomatosis of the pancreas. *Gut* **11**, 197—205 (1970).
- Steiner, A. L., Goodman, A. D., Powers, S. R.: Study of a kindred with pheochromocytoma, medullary thyroid carcinoma, hyperparathyroidism and Cushing's disease: multiple endocrine neoplasia, type 2. *Medicine (Baltimore)* **47**, 371—409 (1968).
- Steiner, H.: Endokrin aktive Tumoren mit Amyloidstroma. *Virchows Arch. Abt. A* **348**, 170—180 (1969).
- Tardini, A., Anversa, P., Bordi, C.: Ultrastructure of multiple pancreatic tumors in a case of Zollinger-Ellison syndrome. *Amer. J. clin. Path.* **52**, 25—36 (1969).
- Thompson, J. C., Himose, F. M., Lemmi, C. A. E., Davidson, W. D.: Zollinger-Ellison syndrome in a patient with multiple carcinoid-islet cell tumors of the duodenum. *Amer. J. Surg.* **115**, 177—184 (1968).

- Unger, R. H., Recant, L., McGavran, M.: "Glucagonoma" a new clinical entity. *Clin. Res.* **14**, 102 (1966).
- Wegmann, T., Zollinger, H. U., Markoff, N. G.: Zollinger-Ellison-Syndrom mit terminaler letaler Hypoglykämie. *Dtsch. med. Wschr.* **89**, 2223—2228 (1964).
- Weichert, R. F.: The neutral ectodermal origin of the peptide-secreting endocrine glands. A unifying concept for the etiology of multiple endocrine adenomatosis and the inappropriate secretion of peptide hormones by nonendocrine tumors. *Amer. J. Med.* **49**, 232—241 (1970).
- Weichert, R., Reed, R., Creech, O., Jr.: Carcinoid-islet cell tumors of the duodenum. *Ann. Surg.* **165**, 660—669 (1967).
- Wilder, R. M., Allan, F. N., Power, M. H., Robertson, H. E.: Carcinoma of the islands of the pancreas, hyperinsulinism and hypoglycemia. *J. Amer. med. Ass.* **89**, 348—355 (1927).
- Williams, E. D., Sandler, M.: The classification of carcinoid tumors. *Lancet* **1963 I**, 238—239.
- Zollinger, R. M., Ellison, E. H.: Primary peptic ulceration of jejunum associated with islet cell tumors of pancreas. *Ann. Surg.* **142**, 709—728 (1955).

Dr. A. Bretholz
Sandfelsenstr. 3
CH-8703 Erlenbach/Schweiz