

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
Université BLIDA I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie et de Physiologie Cellulaire



Mémoire de fin d'études  
En vue de l'obtention du diplôme de Master

Option : Biosignalisation cellulaire et moléculaire: Génétique du cancer

Thème

## Etude immunohistochimiques des adénomes hypophysaires

*Présenté par :*

**Abderrahmane Leila**

**Bouchekouk Dounia**

*Soutenu publiquement le /06/2016 devant le jury composé de :*

M <sup>me</sup> EDDAIKRA A.	Maitre assistante A	à l'université de Blida	Présidente
M <sup>me</sup> KESKAS S.	Maitre assistante A	à l'université de Blida	Examinatrice
D <sup>f</sup> SUFAN F.	Assistante principale	CHU Mustapha Bacha- Alger	Promotrice
M <sup>me</sup> CHAKHMA A.	Maitre assistante A	à l'Université de Blida	Co-Promotrice

Promotion 2015-2016

## REMERCIEMENTS

Nous remercions tout d'abord ALLAH qui nous a donné le courage, la force et la volonté de finaliser ce travail de recherche.

Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance et notre profond respect pour notre promotrice **Dr SUFAN F** pour nous avoir offert l'opportunité de réaliser ce travail, pour son encadrement et pour ses précieux conseils, ses orientations, son soutien, son aide assurées pendant la rédaction du mémoire.

Nous tenons à exprimer nos remerciements et notre profonde gratitude à notre co-promotrice **M<sup>me</sup> CHAKHMA. A** pour sa disponibilité, ses conseils, ces orientations.

Nos remerciements à **Mme NADJIS** pour ces orientations et ses conseils.

Nos remerciements vont également à l'ensemble de l'équipe de service d'anatomo-pathologie et à toutes les personnes qui la composent.

Nous exprimons nos remerciements à **Mme EDAIKRA** pour avoir accepté de présider le jury.

Nos remerciements s'adressent vivement à **Mme KESKAS** pour avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Enfin, nos remerciements vont à tous ceux qui nous ont aidés de près, à nos enseignants et à nos proches amis

## DEDICACES

*Je dédie ce mémoire à mon Père ABDERRAHMANE RABEH  
Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le  
respect que j'ai toujours eu pour vous.*

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon  
éducation et mon bien être.*

*A ma très chère mère HADJALLAH SORAYA  
Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole  
de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du  
dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour  
moi.*

*A mon mari MOUNIR et toute ma belle-famille.*

*A mes très chères sœurs DJALILA, KHADIDJA, HANENE,  
KARIMA, ZINEB, FERIEL ET MERIEM.*

*A mes aimables neveux : MOHAMED ET YUCEF.*

*A mes chers frères ABDALHAK, ALI, HAMZA et  
MOHAMED.*

*A notre promotrice Dr SUFAN. F et notre co-promotrice Mme  
CHAKHMA. A.*

*Au chef département Mme SAADI.L.*

*A tous mes amis et mes cousines ZAKI, MERIEM, HANENE,  
LEILA, FARAH et SELMA.*

*ABDERRAHMANE LEILA*



## DEDICACES

*Je dédie ce mémoire à mon Père BOUCHEKOUK MAAMAR  
Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le  
respect que j'ai toujours eu pour vous.*

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon  
éducation et mon bien être.*

*A ma très chère mère MAYOUF NACIRA  
Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole  
de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du  
dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour  
moi.*

*Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon  
éducation et ma formation.*

*A ma très chère sœur KHOULOUD.*

*A mes chères frères DHIRAR et MOHAMED*

*A mon fiancé SAID et toute ma belle-famille.*

*A mes grands-pères et mes grands-mères*

*Et ma tante Nabila*

*Mes tantes, mes oncles, et mes oncles maternel*

*A notre promotrice Dr SUFAN. F et notre co-promotrice Mme  
CHAKHMA. A.*

*Au chef département Mme SAADI.L.*

*A tous mes cousines et mes amies et qui m'aime de près ou de  
loin.*

*BOUCHEKOUK DOUNIA*



## Liste Des Figures

Figure	Titre	Page
1	Anatomie de l'hypophyse.	01
2	vascularisation de l'hypophyse	02
3	Coupe du lobe antérieur de l'hypophyse après coloration avec le tétrachrome de Herlant	03
4	coupe du lobe postérieur de l'hypophyse après coloration avec le tétrachrome de Herlant	04
5	La physiologie de l'hypophyse	05
6	Hypothèse de régulation de la sécrétion et de l'expression de l'hormone de croissance au niveau des cellules somatotropes hypophysaires	07
7	Transmission du signal par le PRLR et mécanisme d'action autocrine/paracrine.	08
8	l'action de l'ACTH sur les cellules cortico surrénaliennes	09
9	La signalisation intracellulaire associée à la prolifération et la transformation des cellules de l'hypophyse.	12
10	Transduction du signal par les protéines Gs, en présence ou absence de mutation de la sous-unité $\alpha_s$	Annexe I.
11	Régulation de la fonction suppressive de tumeurs de p53	15
12	Fixation dans formol dilué à 10%	Annexe II.
13	Circulateur automatique (LEICA TP 10 20)	Annexe II.
14	Appareil d'inclusion	Annexe II.
15	Microtomie	Annexe II.
16	Bain Marie	Annexe II.
17	Schéma présentant le principe de la technique d'immunohistochimie.	20
18	Répartition des patients selon le sexe.	23

19	Répartition des adénomes hypophysaire selon l'âge	24
20	Répartition des adénomes hypophysaires selon la taille de la tumeur	25
21	répartition des Adénomes hypophysaires selon la fonctionnalité.	25
22	Adénome hypophysaire à cellules basophile G X 40	26
23	AH à cellules chromophobes G x 40	26
24	AH à cellules chromophobes G x 10	26
25	AH à cellules eosinophiles G X 40	27
26	Réticuline de l'adénome hypophysaire (G X 10)	27
27	Répartition des adénomes hypophysaires selon le profil immuno-hormonal	28
28	Répartition des adénomes hypophysaires selon le profil immuno-hormonal et la taille	29
29	Adénome à GH, marquage IHC intense à la GH (G X 40)	29
30	AH à GH : positivité cytoplasmique et membranaire (G X 40)	29
31	Adénome à PRL : positivité en dot para nucléaire (G X 10)	30
32	Adénome à PRL : positivité en dot para nucléaire (G X40)	30
33	Répartition des cas selon le ki-67 et la fonction des adénomes hypophysaires.	31
34	AH avec un Marquage IHC nucléaire au ki-67 à 1%( G x 40).	31
35	AH avec un Marquage IHC nucléaire au Ki-67 à 3% (G X 40).	31
36	AH avec un marquage IHC nucléaire au Ki-67 de 7% (G X 40)	32
37	AH avec un marquage IHC nucléaire intense au Ki-67 à 10% (G x 40)	32
38	AH avec un marquage IHC nucléaire intense au Ki-67 à 15% (G x 10)	32
39	AH avec une positivité de la protéine P53 (G x 40)	34
40	AH avec une positivité de P53 (G x 40).	34
41	AH avec une positivité de la P53 (G x 40).	35



## Liste Des Tableaux

Tableau	Titre	Page
I.	Principales hormones antéhypophysaires	04
II.	les 4 grades d'adénome hypophysaire selon la taille et l'extension	11
III.	les gènes impliqués dans les adénomes hypophysaires	14
IV.	Matériel non biologique : appareillage	Annexe II.
V.	Matériel non biologique utilisé en immunohistochimie	Annexe II.
VI.	Les clones des anti-Ac (DAKO) utilisé en immunohistochimie	Annexe II.
VII.	Représentation des AC primaires utilisés dans l'étude IHC de l'adénome hypophysaire.	21
VIII.	Résultat de la répartition des Adénomes hypophysaires selon le sexe.	Annexe III.
IX.	Répartition des adénomes hypophysaires selon l'âge	24
X.	Répartition des adénomes hypophysaires selon la taille de la tumeur	Annexe III.
XI.	Répartition des adénomes hypophysaires selon le profil immuno-hormonal	Annexe III.
XII.	Répartition des adénomes hypophysaires selon le ki-67	30
XIII.	Répartition des cas selon la taille et le ki-67	33
XIV.	Répartition des cas selon la p53	33
XV.	Répartition des adénomes hypophysaires selon le ki-67 et la P53	35

# ABREVIATIONS

**Ac** : Anticorps.

**AC** : Adénylate-Cyclase

**ACTH** : hormone corticotrope hypophysaire (adrenocorticotrop hormone)

**ADH** : hormone antidiurétique (antidiuretic hormone)

**Ag** : Antigène

**AH** : Adénome hypophysaire

**AHA** : Adénome hypophysaire atypique

**CK2** : Casein Kinase 2.

**AMPc** : Adénosine MonoPhosphate Cyclique.

**AP** : Ant-hypophyse

**ARNm** : Acide Ribonucléique message

**ATM** : Ataxia Telangiectasia Muted

**ATR** : Ataxia Telangiectasia and Rad3 related

**Ca<sup>++</sup>** : Ion de calcium

**CRF** ou **CRH** : Corticotrophin Releasing Factor (corticotrophin releasing hormone)

**CREB** : CRE.Binding protein

**DA** : Dalton

**DAB** : DiAminoBenzidine tétrahydrochloride

**FSH** : Hormone Folliculostimulante (follicle stimulating hormone)

**GH** : Growth Hormone

**GHRH** : Growth Hormone Releasing Hormone

**GMPc** : Guanosine Monophosphate cycline

**GTP** : Guanosine Triphosphate

**GnRH** : Gonadolibérine (gonadotrophin releasing hormone)

**HE** : Histochimie

**IHC** : Immunohistochemi

**K<sup>+</sup>** : Ion de potassium

**IRM** : Imagerie par Résonance Magnétique

**LH** : Luteinizing Hormone (hormone lutéinisante)

**LHRH** : Luteinising Hormone Releasing Hormone

**MAP** : Mitogen-Activated Protein

**Mdm2** : Mouse double minute 2

**Na<sup>+</sup> /H<sup>+</sup>** : pompe de sodium/hydrogène

**NPV** : Noyaux Para Ventriculaire

**NSO** : Noyaux Supra Optiques

**OMS** : Organisation mondiale pour la santé

**PBS** : Phosphate Buffered Saline

**PDE2** : phosphodiesterase

**PH** : Pentoniel d'Hydrogène

**Pit-1** : Pituitary-specific positive transcription factor.

**PKA** : Protéine Kinase A

**PKC** : Protéine Kinase C.

**PTTG** : Pituitary Tumor Transforming Gene.

**Rb** : Retinoblastome

**STAT** : Signale Transducer and Activator of Transcription.

**STH** : SomatoTrophin Hormone

**STV** : Selle Turcique Vide

**T3** ; Triiodothyronine

**T4** : Tétraiodothyronine

**TRH** : Thyrotropin Releasing Hormone

**TSH** : Thyroid Stimulating Hormone (hormone thyroïdostimulante)



## RESUME

Les adénomes hypophysaires sont des tumeurs bénignes qui peuvent devenir localement agressives et/ou récidives dans un délai variable après la chirurgie. Nous avons approfondi notre étude sur les aspects anatomopathologiques et les marqueurs d'agressivités des adénomes hypophysaires (AH), à travers d'une étude rétrospective et prospective respectivement du 2014 au 2015 et de l'année 2016. Cette étude a été menée sur 18 prélèvements hypophysaires, colligés au laboratoire d'anatomo-pathologie du Centre hospitalo-universitaire Mustapha Bacha (Alger), traités par technique histologique et immunohistochimique.

Notre étude montre que l'âge moyen des patients est de 41,2 ans avec une prédominance masculine de 67%. D'après la taille des adénomes hypophysaires, nous avons enregistré une prédominance des macroadénomes dans 83% des cas par rapport aux microadénomes qui ne représentent que 17%.

L'histochemie nous a permis d'observer les adénomes hypophysaires avec une variation cellulaires de type acidophile, basophile ou chromophobes.

L'immunohistochemie a révélé, d'une part, la présence de différents marqueurs hormonaux en relation avec le type de sécrétion et d'établir ainsi le profil hormonal de chaque adénome hypophysaire.

Et d'autre part d'évaluer les bio marqueurs de prolifération le Ki-67 et la P53, ces derniers permettent de partager les adénomes hypophysaire selon la classification de l'Organisation mondiale de la santé en typiques (Ki-67<3% et P53 négatif) représenté par 2 cas de notre série et 16 cas atypiques (Ki-67  $\geq$  3% et p53 souvent positive). A partir de nos résultats nous avons remarqués que les deux marqueurs sont assez fiable pour évaluer l'agressivité des adénomes hypophysaires et il ya d'autres marqueurs qui permettent de prédire l'agressivité des adénomes hypophysaires.

**Mots clés :** adénome hypophysaire, anatomopathologie, immunohistochemie, ki-67, P53

## ABSTRACT

The current study aims at studying the anatomopathological aspects and the scorers of aggressivity of the pituitary adenomas through a retrospective and a prospective study, respectively from 2014 to 2015, and from 2016. This study was carried out on eighteen (18) pituitary adenomas samples gathered from the laboratory of anatomic-pathology of the University Hospital Centre Mustapha Bacha (Algiers), treated by a histological and immunohistochemical technique.

The study shows that the average age of the patients is between forty one (41,2) years old with a masculine predominance of 67%. According to pituitary adenomas size, we registered a macro adenomas predominance of 83% among the cases in comparison to the micro adenomas which represent only 17%.

The histochemistry allowed us observe the pituitary adenomas with a cellular variety of acidophil, basophil, or chromophobe types.

On the one hand, the immunohistochemistry revealed the presence of different markings related to the type of emission, and thus, establish the hormonal profile of each pituitary adenoma.

On the other hand, it allowed us evaluate the multiplication of the bio scorers of the Ki-67, and the P53. The latters permit the division of the adenomas hypophysaires according to the Health International Organization classification, typical (Ki-67<3% and P53 negative) represented by two (02) cases from our serie, and sixteen (16) atypical cases (Ki-67  $\geq$  3% and p53 often positive). Based on the results, we observed that the two scorers are reliable enough, and not independent to evaluate the aggressivity of the pituitary adenomas, this indicates the existence of other scorers that allow the prediction of the aggressivity of the pituitary adenomas.

**Key Words:** Pituitary adenomas, anatomopathology, immunohistochemistry, Ki-67, P 53.

## المخلص

إن الهدف من عملنا هذا هو دراسة الجوانب التشريحية و العلامات العدوانية لأورام الغدة النخامية من خلال الدراسة المتوقعة على التوالي لعام 2014 حتى عام 2015 بالإضافة الى عام 2016. وقد أجريت هذه الدراسة على (18) حالة من عينات أورام الغدة النخامية التي تم جمعها في مختبر علم الأمراض من مستشفى الجامعي مصطفى باشا (الجزائر العاصمة) المعالجين بالتقنية النسيجية والمناعة النسيجية الكيميائية.

أثبتت دراستنا أن متوسط السن عند المرضى هو 2, 41 سنة مع غلبة الذكور 67%. أما بالنسبة لحجم ورم الغدة النخامية فإن معظم الحالات 83% لهم ورم كبير بالنسبة الى 17% الذين يمثلون ورم غدي صغري.

تسمح التقنية النسيجية برؤية اورام الغدة النخامية مع اشكال خلوية مختلفة من نوع حمض, قعد او كاره للون.

أما المناعة النسيجية الكيميائية فهي تكشف من جهة, على وجود العديد من علامات الهرمونية ذات الصلة مع نوع الافراز مع تحديد الهرمون الخاص لكل ورم خاص بالغدة النخامية. من جهة اخرى تسمح بتقييم المؤشرات الانتشارية P53 و ki-67 الذين يسمحون بفصل أورام الغدة النخامية حسب المنظمة العالمية لصحة الى ورم حميد (  $Ki-67 < 3\%$  و P53 سالبة) الممثلة في حالتين من سلسلتنا و الى ورم عدواني الممثلة في 16 حالة (  $ki-67 \geq 3\%$  و P53 غالبا إيجابية).

إعتبارا من نتائجنا لاحظنا أن P53 و ki-67 معايير غير مستقلة و غير كافية للتنبؤ إذا كان الورم عدواني. مما يوضح أنه يوجد عوامل أخرى تسمح بتنبؤ تطور هذه الاورام.

الكلمات الأساسية : أورام الغدة النخامية, P53, ki-67, المناعة النسيجية الكيميائية, المستوى المرضي.

# *Sommaire*

## **INTRODUCTION**

## **CHAPITRE I : DONNEES BIBIOLOGRAPHIQUE**

<b>I -Rappel sur l'hypophyse.....</b>	<b>Page 01</b>
I-1. Anatomie et Embryologie de l'hypophyse .....	Page01
I-2. Vascularisation.....	Page02
I-3. Organisation histologique .....	Page03
I-4. La physiologie de l'hypophyse.....	Page05
I-4.1. Physiologie de l'axe somatotrope.....	Page06
I-4.2. Physiologie de l'axe Lactotrope.....	Page07
I-4.3. Physiologie de l'axe corticotrope.....	Page08
<b>II- Les adénomes hypophysaires .....</b>	<b>Page09</b>
II -1. Epidémiologie.....	Page10
II-2. Classification des adénomes hypophysaires.....	Page10
II-3. Les signes cliniques .....	Page11
II -4 La pathogenèse des adénomes hypophysaires.....	Page12
II-4.1. Pituitary-tumor transforming gene (PTTG).....	Page13
II-4.2. Oncogène GSP .....	Page13
II-4.3. La cycline E .....	Page13
II-4.4. Protéine Rb.....	Page14
II-4.5. P53.....	Page14
II-4.6. ki-67.....	Page16



## **CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES**

<b>II-1. Matériel non biologique</b> .....	Page17
<b>II-2. Matériel biologique</b> .....	Page17
<b>II-3. Technique histochimique et immunohistochimique</b> .....	Page17
II -3.1. L'histochimie (Hemalin Eosine).....	Page17
II -3.2. Immunohistochimie.....	Page19

## **CHAPITRE III : RÉSULTATS**

<b>I-Paramètres épidémiologiques</b> .....	Page23
I-1. Répartition des adénomes hypophysaires selon Sexe.....	Page23
I-2. Répartition des adénomes hypophysaires selon Age.....	Page23
<b>II -Paramètres anatomopathologiques</b> .....	Page24
II-1 Répartition des adénomes hypophysaires selon la taille.....	Page24
II-2. Répartition des adénomes hypophysaires selon la fonctionnalité.....	Page25
II-3. Répartition des adénomes hypophysaires selon le profil immuno- hormonal.....	Page28
II-4. Répartition des adénomes hypophysaires selon la taille et le profil immuno-hormonal.....	Page28
<b>III-Biomarqueurs d'agressivité</b> .....	Page30
III-1. Répartition des adénomes hypophysaires selon Le ki-67 .....	Page30
III-2. Répartition des adénomes hypophysaires selon le ki-67 et la fonctionnalité....	Page31
III-3. Répartition des adénomes hypophysaires selon le ki-67 et la taille de la tumeur..	Page33
III-4. Répartition des adénomes hypophysaires selon la protéine P53.....	Page33
III-5. Répartition des adénomes hypophysaires selon la protéine P53 et le ki-67 .....	page35
<b>IV-DISCUSSION</b> .....	page36

## **Conclusion**

## **Références bibliographiques**

## **Annexes**

## INTRODUCTION

Les adénomes hypophysaires (AH) sont des tumeurs considérées majoritairement comme bénignes, qui se développent au dépend des cellules endocrines de l'adénohypophyse. (**Habachi, 2012**). Ils sont les plus fréquents par rapport à l'hypophyse et constituent 10 à 20 % des tumeurs intracrâniennes (**Riviere, 2015**).

Ces tumeurs peuvent être classées en micro ou macroadénome et être de présentation sporadique ou familiale. Bien que leurs caractérisations clinique, radiologique, biologique et anatomopathologique soient actuellement établies, néanmoins et malgré leur aspect histologique bénin leur évolution est variable et incertain pouvant être émaillé de récurrence multiple et/ou de l'apparition d'une résistance aux traitements médicamenteux nécessitant ainsi une thérapie plus agressive.

Depuis une dizaine d'années des études tente d'identifier les bio marqueurs fiables qui permettent de déterminer le degré d'agressivité des adénomes et de prédire leurs potentiel de récurrence et de résistance afin d'améliorer les chances de guérison.

La reconnaissance de la pathogénie des tumeurs hypophysaires restent obscurs même si l'on a mis en évidence un grand nombre d'anomalie génétiques allant des mutations dans les voies de la signalisation intracellulaire, en passant par l'expression de différents facteurs de croissance pour aboutir aux déséquilibres des régulateurs du cycle cellulaires. L'inactivation du gène suppresseur de tumeur (P53, PTTG et Rb) et la surexpression des oncogène (Gsp) sont aussi impliqués dans la pathogenèse des adénomes hypophysaires (**Echchikhi, 2012**).

De ce fait, différents marqueurs de prolifération sont systématiquement analysés dans l'étude histologique des tumeurs hypophysaires : notamment le Ki-67 qui est considéré comme un marqueur de prolifération tumorale (**Trouillas et al., 2000 ; Wierinckx et al., 2007**). Et la mutation de la protéine p53 (antiproliférative).

Ces deux bio-marqueurs sont reconnu par la classification de l'OMS comme critère d'agressivité départageant ainsi les adénomes hypophysaires en adénomes hypophysaires typique et atypiques bien qu'il existe dans la littérature de nombreuses études qui ont montré quelques controverses.

Notre travail consiste à :

- ✓ Étudier les aspects anatomopathologiques (taille, profil hormonal) et immunohistochimiques (ki67, P53) des adénomes hypophysaires à travers une étude rétrospective et prospective d'une durée de deux ans de 2014 jusqu'à 2016.
- ✓ Évaluer le taux de l'index de prolifération ki67 et la positivité de la P53 au niveau des adénomes hypophysaires.
- ✓ Classer les adénomes hypophysaires en typiques et atypiques.
- ✓ Corréler le Ki67 à certains paramètres cliniques (la taille et la fonction) et avec l'expression de la P53.
- ✓ Corréler l'expression de la protéine p53 au ki-67 afin de vérifier son interaction constante ou non en cas d'un taux élevé de ki-67.

***CHAPITRE I : DONNEES  
BIBLIOGRAPHIQUES***

## I. L'HYPOPHYSE

### I-1. Anatomie et Embryologie

L'hypophyse est reliée à l'hypothalamus par la tige pituitaire (**Rivière, 2015**). Elle est située à la base du crane dans une cavité osseuse (la selle turcique) à l'intérieur du corps sphénoïde, sous le troisième ventricule (**Drareni et al., 2011**). Elle est recouverte par le diaphragme sellaire, situé juste au-dessous du chiasma optique (**Léger et al., 2010**). Chez l'adulte, elle est de petite taille et pèse environ 0,5 g, légèrement allongée et mesurant en moyenne  $10 \times 13 \times 6$  mm

D'aspect externe, elle est en forme ovoïde, et présente deux lobes différents par leur embryologie, leur anatomie et leur organisation microscopique (**Nguyen et bourouina, 2008**).

L'adénohypophyse dérive de la poche de Rathke, structure ectodermique de la cavité buccale, Elle occupe trois quarts ( $\frac{3}{4}$ ) de la loge hypophysaire, qui est subdivisée en trois lobes : un lobe antérieur (pars distalis), un lobe intermédiaire (pars intermedia), et un lobe tubérale ou infundibulotubéral (pars tuberalis).

La neurohypophyse est d'origine neuro-ectodermique et dérive du diencephale. Elle est subdivisée également en trois régions qui sont de haut en bas : l'éminence médiane, la tige infundibulaire, le lobe postérieur ou pars nervosa ou posthypophyse (**Beauvy, 2015**).

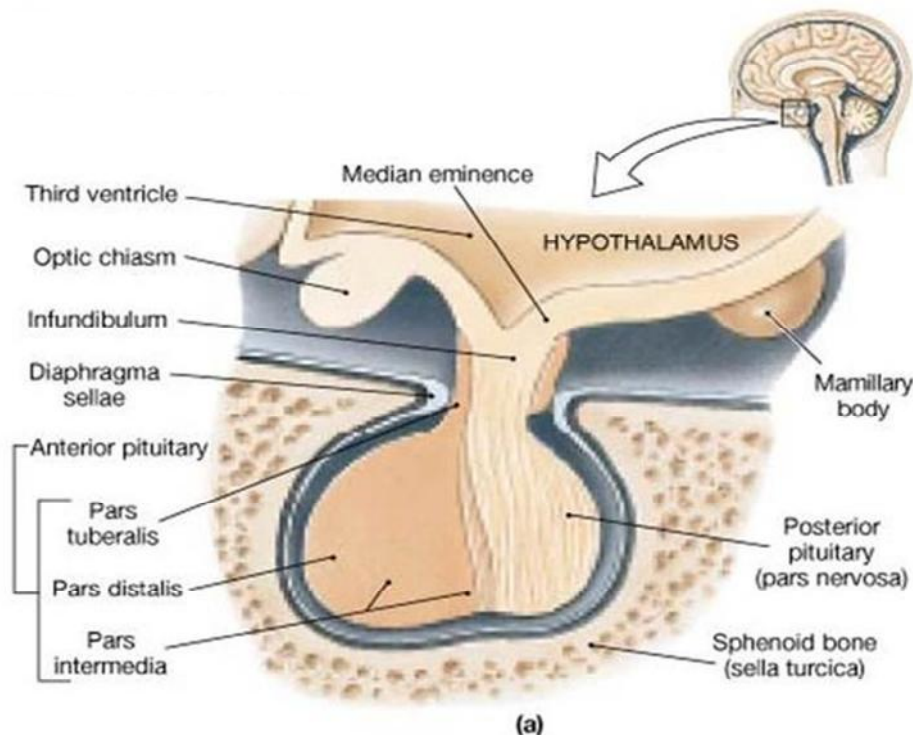


Figure01 : Anatomie de l'hypophyse (Anonyme 2004)

## I-2.Vascularisation

La vascularisation de l'hypophyse s'effectue via deux artères :

- La neurohypophyse est irriguée par l'artère hypophysaire inférieure.
- L'adénohypophyse, elle est vascularisée par l'artère hypophysaire supérieure au niveau de l'éminence médiane et la partie proximale de la tige pituitaire grâce au système porte hypothalamo-hypophysaire, constitué de petites artéioles et capillaires.

C'est par ce système de communication que les neurones hypothalamiques libèrent leur contenu dans l'adénohypophyse (Léger et al., 2004).

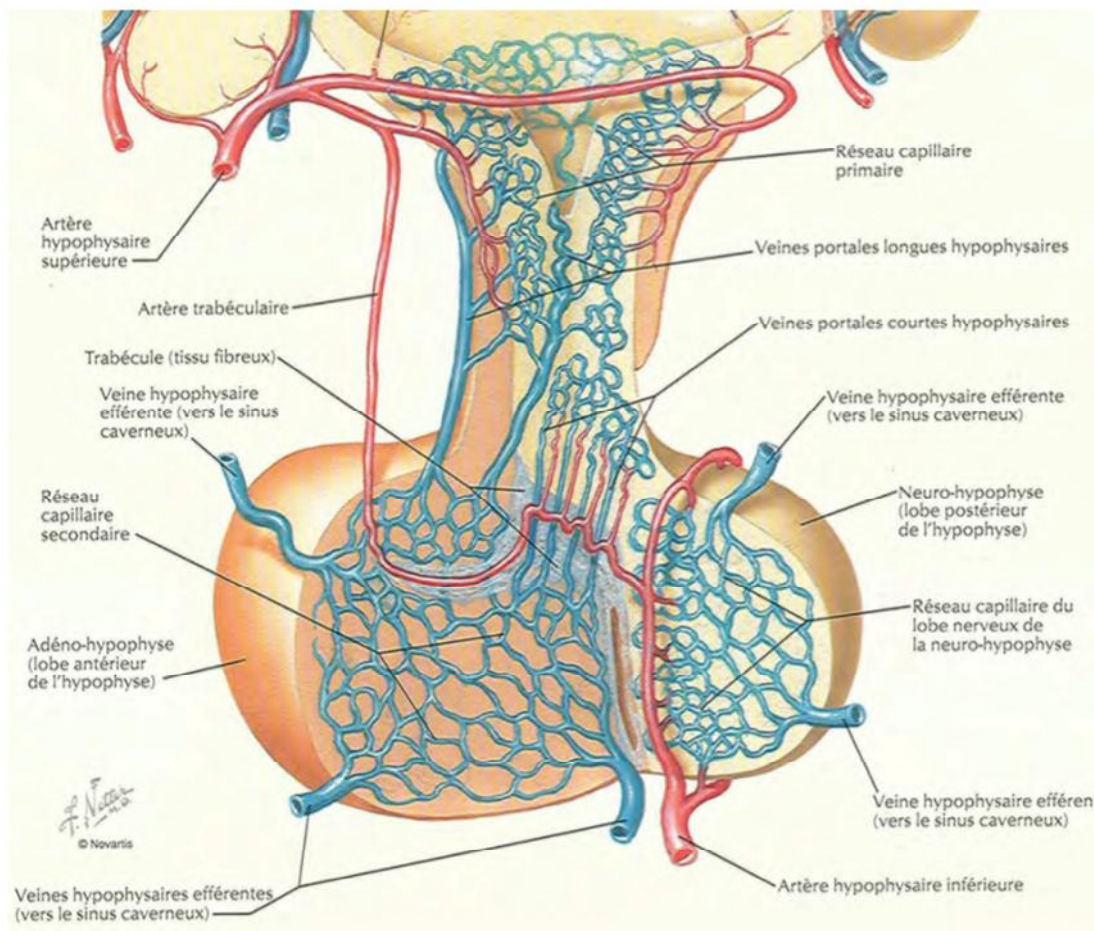
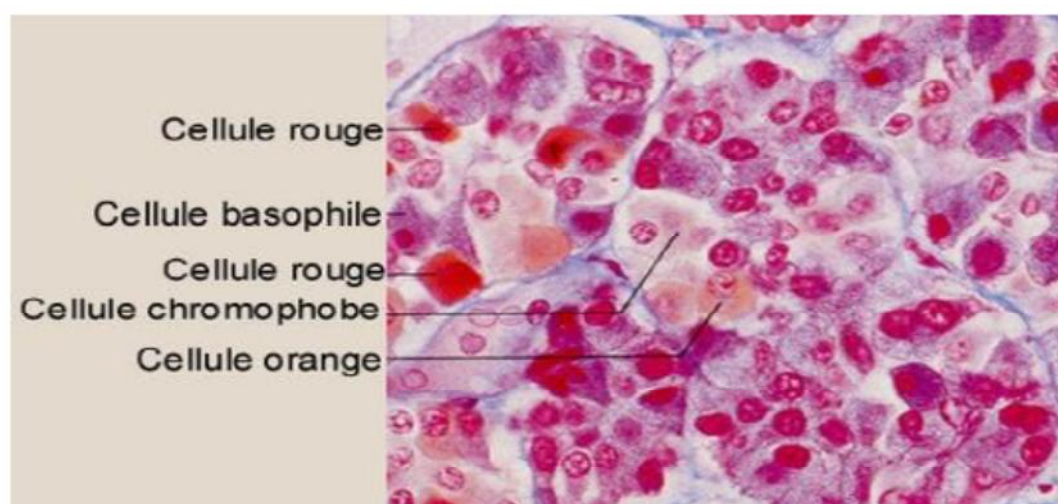


Figure 02 : Vascularisation de l'hypophyse (Rivière, 2015).

### I-3. Organisation Histologique

#### I-3.1. Adénohypophyse :

Le lobe antérieur est la partie la plus développée de l'hypophyse (70 % de l'hypophyse). Il est entouré d'une fine capsule conjonctive qui envoie de fines travées à l'intérieur du parenchyme. Celui-ci est formé d'épais cordons cellulaires anastomosés (Echchikhi, 2012).



**Figure 03 : Coupe histologique au niveau du lobe antérieur de l'hypophyse après coloration avec le tétrachrome de Herlant ( Habchi, 2011).**

L'identification des types cellulaires de l'antéhypophyse a évalué de nouvelles techniques.

-La coloration usuelle telle qu'à l'hématoxyline-éosine permet de distinguer trois types de cellules selon les caractéristiques physico-chimiques.

-En effet, l'immunohistochimie permet d'identifier un type cellulaire déterminé grâce à l'utilisation d'un anticorps dirigé contre l'hormone d'intérêt. Cette méthode a permis de préciser la densité et la localisation de chaque variété de cellules endocrines et de démontrer la capacité de l'élaboration de deux hormones par une même cellule endocrine (présenté dans le tableau I).



Tableau I: Principales hormones antéhypophysaires (Moussard et al., 2005).

Cellules antéhypophysaires identifier par HE	Cellules antéhypophysaires Identifiées par IHC	Hormones Antéhypophysaires sécrétés
Acidophiles	Lactotropes.	Prolactine
	Somatotropes.	GH
Basophiles	Corticotropes	ACTH
	Thyréotropes.	TSH
	Folliculotropes.	FSH
	Lutéotropes.	LH

### I-3.2. Post-hypophyse :

Le lobe postérieur est un tissu nerveux richement vascularisé, soutenu par des pituicytes où cheminent les axones provenant des noyaux hypothalamiques du système magnocellulaire (NSO et NPV) (Trouillas *et al.*, 2007).

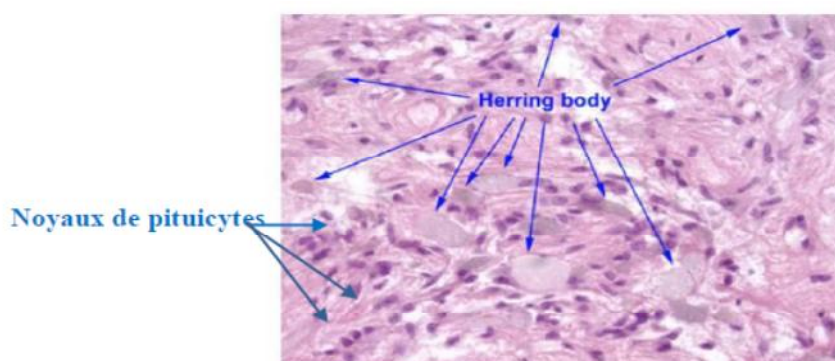


Figure 04 : coupe du lobe postérieur de l'hypophyse après coloration avec le tétrachrome de Herlant (Habchi, 2011).

La posthypophyse permet le stockage de l'hormone anti-diurétique (ADH) et de l'ocytocine, sécrétée par l'hypothalamus (Habchi, 2011).

#### I-4. Physiologie de l'hypophyse

Le complexe hypothalamo-hypophysaire représente le chef d'orchestre du système endocrinien sur le plan physiologique (Moussard *et al.*, 2005).

L'hypophyse est régulée par des neurohormones émises par l'hypothalamus, et produit des hormones qui stimulent les autres glandes endocrines de l'organisme : thyroïde, surrénales, glandes mammaires, ovaires et testicules (Habchi, 2011; Rivière, 2015).

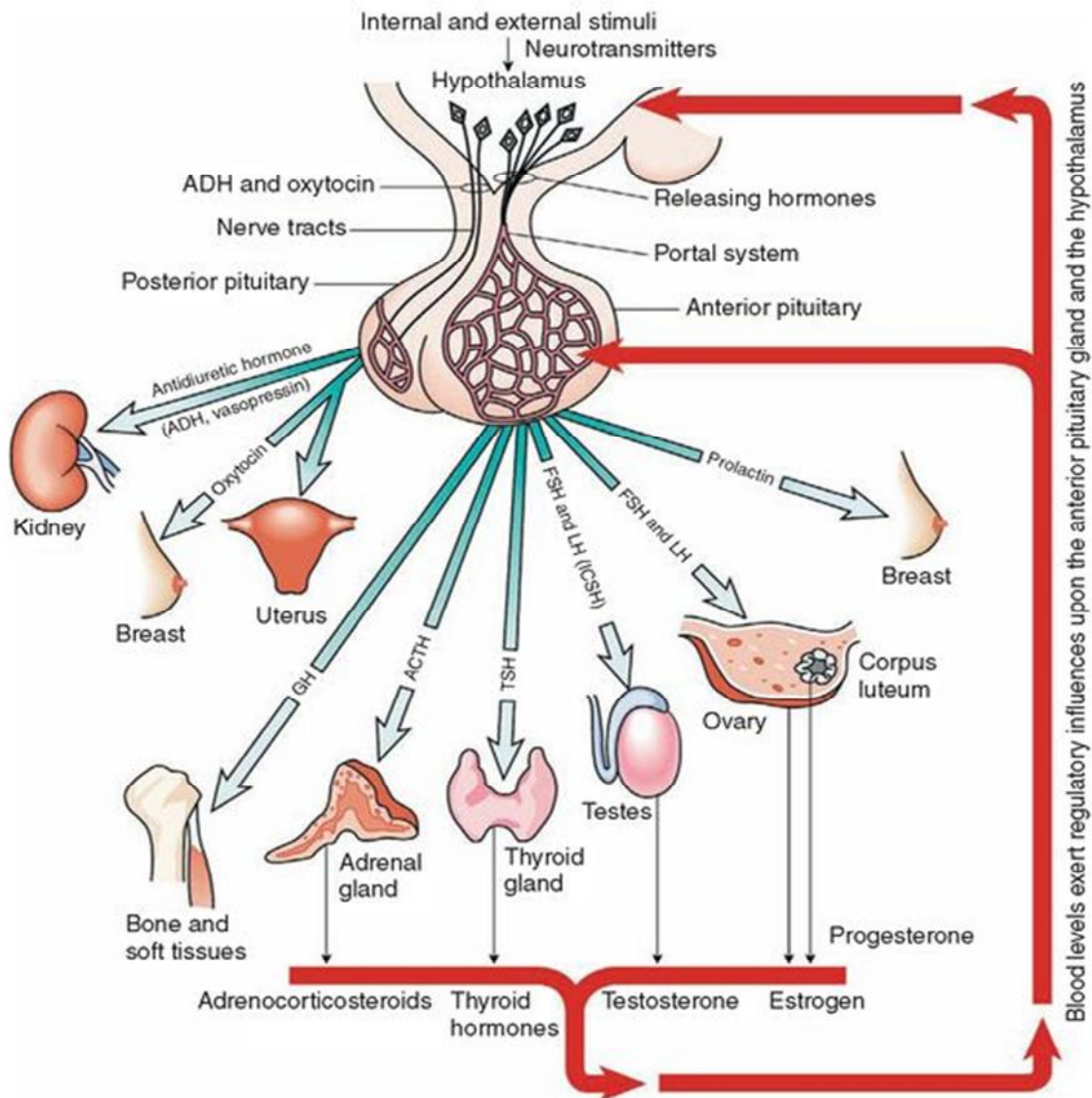


Figure 05 : La physiologie de l'hypophyse (Léger *et al.*, 2010)

### **I-4.1. Physiologie de l'axe somatotrope**

L'hormone de croissance (GH), également appelée somatotrophine ou l'hormone de croissance humaine. C'est un peptide sécrété par les cellules somatotropes de l'hypophyse. Son récepteur membranaire appartient à la famille des récepteurs des cytokines.

La régulation du taux de GH est contrôlée par les actions inhibitrices de la somatostatine (SRIF) et activatrice de la growth-hormone-releasing hormone (GHRH).

1-Après la fixation des ligands sur leurs récepteurs respectifs (SST et GHRH-R), plusieurs voies signalétiques différentes vont être sollicitées pour réguler l'exocytose de la GH.

2-Activation ou inhibition de l'adénylate-cyclase (AC), de canaux  $Ca^{++}$  et  $K^+$ , de protéines phosphatases, de l'échangeur  $Na^+/H^+$  de l'exocytose des granules de sécrétions par la calcineurine.

-Activation de l'expression de la GH par la GHRH : (3) La phosphorylation du facteur de transcription CREB par la protéine kinase A (PKA) active la formation des ARNm du facteur de transcription Pit-1. (4) Pit-1 stimule alors la transcription de la GH. (5) Pit-1 peut aussi induire la formation des récepteurs GHRH-R.

-Inhibition de l'expression de la GH par le SRIF : (3) La liaison de SRIF à ses récepteurs conduit à l'internalisation du complexe ligand-récepteur.(4) Le mécanisme d'inhibition de l'expression de la GH n'est pas connu : (4a) Un facteur de transcription (X) encore inconnu pourrait bloquer la synthèse de la GH.(4b) L'interaction du SRIF avec l'auto-antigène Ku pourrait aussi abolir la transcription de la GH.(5) Inhibition possible de la synthèse des récepteurs GHRH par la somatostatine.(6) stimulation de la transcription des récepteurs SST( Sarret, 2000).

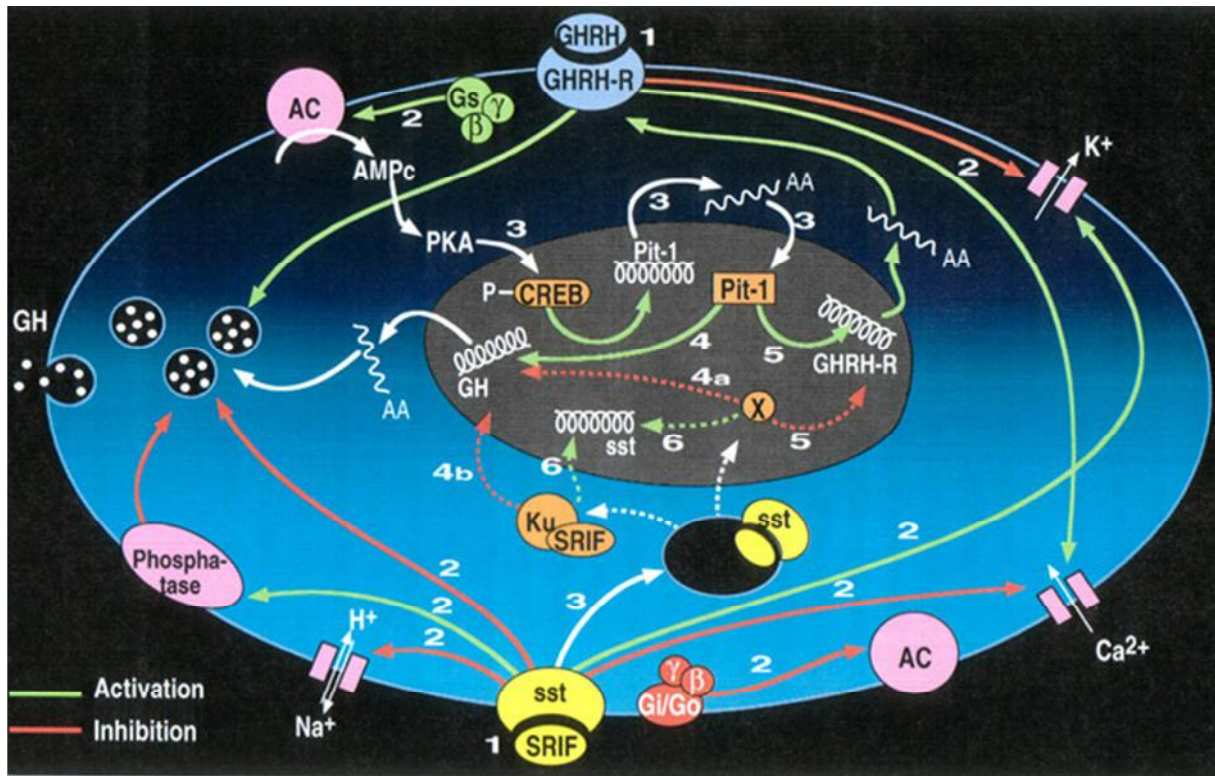
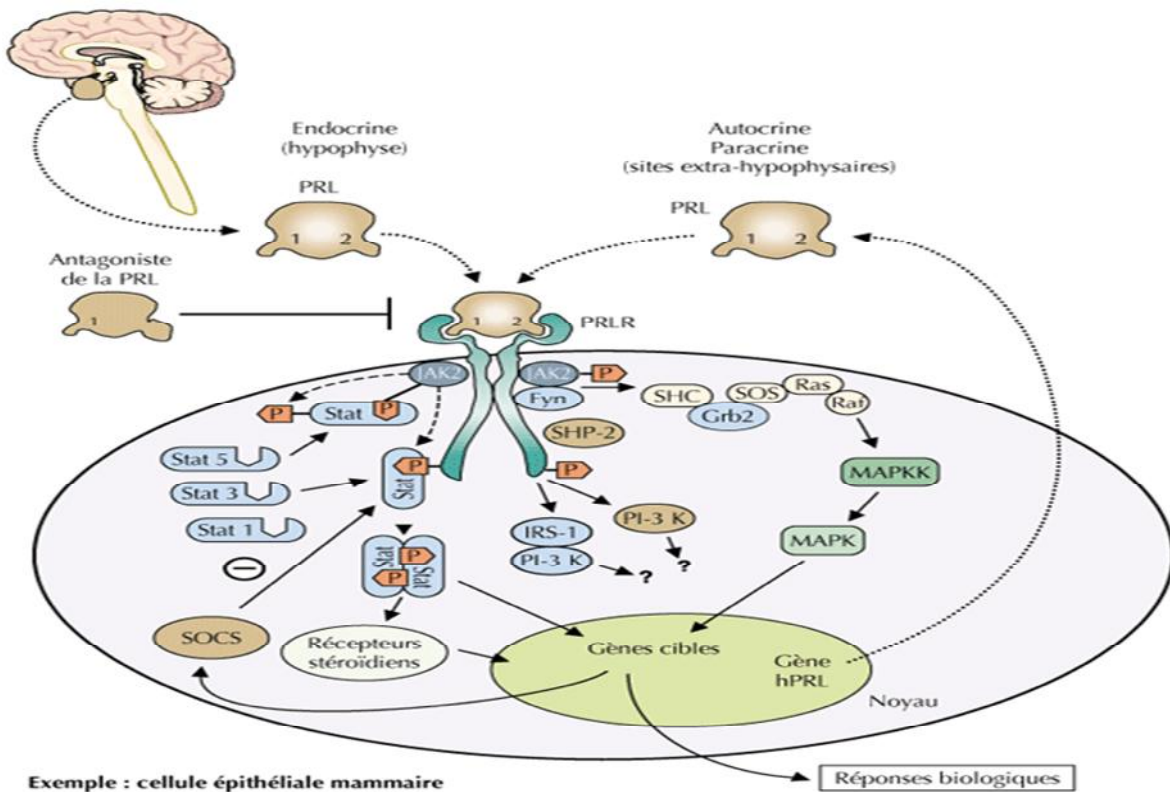


Figure 06 : Hypothèse de régulation de la sécrétion et de l'expression de l'hormone de croissance au niveau des cellules somatotropes hypophysaires (Sarret, 2000).

#### I-4.2. Physiologie de l'axe Lactotrope

La prolactine (PRL) c'est une protéine synthétisée et libérée par les cellules Lactotropes suite à une stimulation hypothalamique par la TRH. Cette dernière empreinte tout comme la GHRH la voie de l'AMPc .la production de PRL est cependant inhibée par le PIF et la dopamine, qui semblent agir de la même manière que la somatostatine (Saidane, 2014).



**Figure 07 : Transmission du signal par le PRLR et mécanisme d'action autocrine/paracrine. (Goffin et al., 2000)**

Le PRLR homodimérisé par la PRL transmet le signal hormonal dans la cellule par plusieurs voies.

-Dans la voie JAK/Stat : les Stats sont phosphorylés par JAK2.les Stats activés forment des dimères qui migrent dans le noyau ou ils activent des gènes cibles.

-Dans les voies des MAP kinase, de la PI-3 kinase ou protéine kinase C (PKC).

Enfin, des connexions entre la voies JAK/Stat et les récepteurs stéroïdiens dans certains tissus exprimant la PRL et son récepteur.

-l'activation de ces voies peut se faire selon un mécanisme endocrine (sécrétion hypophysaire) ou autocrine/paracrine (synthèse locale) (Bole-Feysot et al, 1998 ; Goffin et al., 2000).

### I-4.3. Physiologie de l'axe Corticotrope

L'ACTH (hormone corticotrope hypophysaire ou adrénocorticotrophine) est une hormone peptidique sécrétée par les cellules corticotropes de l'antéhypophyse. Leur sécrétion est stimulée par la CRH hypothalamique (Gauchoy, 2007).

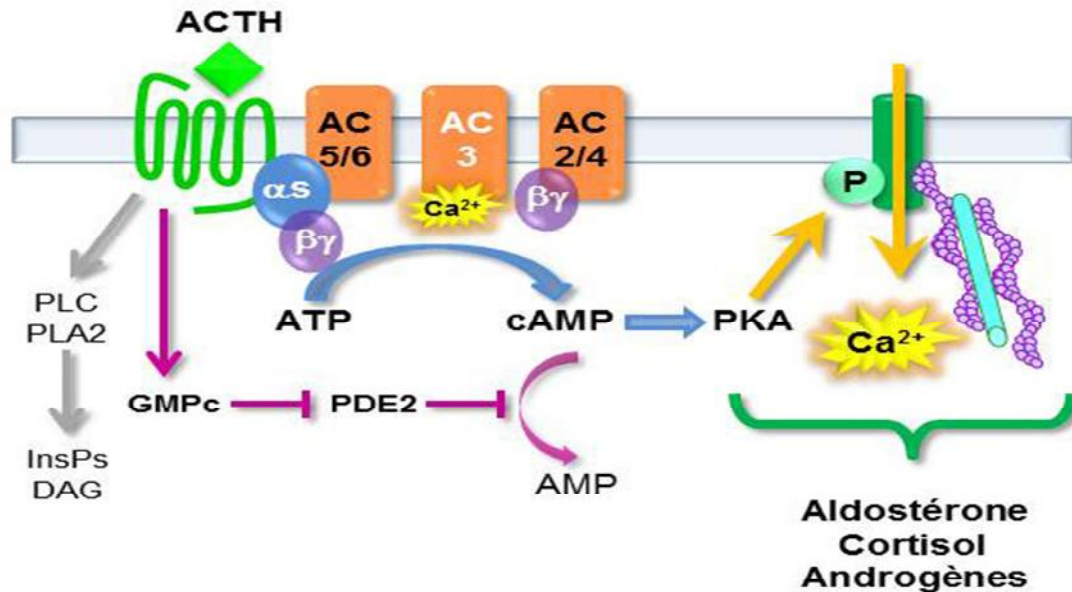


Figure 08 : l'action de l'ACTH sur les cellules cortico surrénaliennes (Gallo-Payet, 2013)

L'ACTH induit une production d'AMPc *via* la protéine Gs et l'activation séquentielle de plusieurs adénylate cyclase, celles insensibles au Ca<sup>2+</sup> (AC5/6), sensibles au Ca<sup>2+</sup> (AC1/3) et celles activées par les sous-unités βγ des protéines G. L'AMPc généré active la protéine kinase A qui phosphoryle les canaux calciques de type L et permet un influx de Ca<sup>2+</sup>. Parallèlement, la production de GMPc entraîne une inhibition de l'activité de la phosphodiéstérase PDE2. Ces actions combinées expliquent l'accumulation importante d'AMPc. D'autres voies sont mobilisées, comme les voies des phospholipases A2 et C (Gallo-Payet, 2013).

## II. LES ADENOMES HYPOPHYSAIRES

Les tumeurs hypophysaires sont des tumeurs majoritairement bénignes, intracrâniennes développées aux dépens de l'antéhypophyse (Merouane, 2015) leur initiation se produit grâce à l'activation d'un oncogène ou à l'inactivation d'un gène suppresseur de tumeur. Ils sont pour la plupart à croissance lente s'étalant sur plusieurs années, cependant des formes atypiques à croissance rapide peuvent être observées (Wemeau et al., 2014).

Ces tumeurs sont classées comme invasives dans 45 à 55% des cas du fait de l'infiltration du sinus sphénoïdal, des sinus caverneux, de la dure-mère, de l'os et/ou des tissus avoisinants (Meji et al., 2000 ; Beauvy, 2015).

-les adénomes hypophysaires sont les tumeurs les plus fréquentes après les méningiomes et constituent 10 à 20 % des tumeurs intracrâniennes (Ezzat et al., 2004).

## II.1. Epidémiologie

Les adénomes représentent 10% des tumeurs intracrâniennes, mais seulement 0,02 à 0,05% sont symptomatiques. La prévalence est de 1/1064 personnes, mais les autopsies révèlent qu'ils seraient en fait beaucoup plus fréquents : 14% de la population. Leur découverte se fait habituellement entre 35 et 65 ans. Avant l'âge de 20 ans, les adénomes sont rares (85% de prolactinomes et 10% de corticotropes) (Rivières, 2015).

## II.2. Classification des adénomes

### II.2.1. Classification fonctionnelle (biologique)

Les adénomes se distinguent en fonction de leurs caractères sécrétants: fonctionnel et non fonctionnel

### II.2.2. Adénomes sécrétant

On distingue les adénomes sécrétant et dans ce cas ce sont les symptômes liés à la sécrétion excessive d'une hormone hypophysaire qui révèlent souvent la présence de l'adénome (Habchi, 2011)

- Adénome a prolactine
- Adénome somatotrope
- Adénome corticotrope
- Adénome gonadotrope
- Adénome thyroïdienne
- Adénome mixte

### II.2.3. Adénomes non sécrétants

Sont des adénomes dont l'expression clinique dépend principalement du volume tumoral. Ils sont constitués de cellules chromophobes (Habchi, 2011)

### II.2.4. Classification de l'OMS

Selon la WHO (World Health Organization), ces tumeurs sont classées en 3 types :

- Les adénomes typiques.
- les adénomes atypiques (exprimant fortement la p53, et un KI-67  $\geq 3\%$ ) (Delellis et al., 2004 ; Eimer, 2013).
- Les carcinomes (avec des métastases cérébro-spinales ou systémiques) (Eimer, 2013).

Cette classification n'a pas de valeur pronostique, car ne s'accompagnant pas de corrélations anatomo-cliniques (Jouanneau et al., 2015).

### II.2.5. Classification radiologique

Le degré d'extension peut être évalué à l'aide des critères modifiés d'Hardy, présentés dans le tableau. Les 4 grades d'adénome hypophysaire selon la taille et l'extension.

**Tableau II** : les 4 grades d'adénome hypophysaire selon la taille et l'extension (Rivière, 2015).

Grade	Critères
1	Microadénome
2	Macroadénome avec ou sans extension supra-sellaire
3	Invasion locale avec destruction osseuse et invasion du sinus sphénoïde ou caverneux
4	Extension au système nerveux ou extra-crânienne

### II-3. Signes cliniques

Les signes cliniques d'un syndrome de masse hypophysaire peuvent être regroupés en syndrome tumoral, syndromes endocriniens, avec parfois un syndrome d'apoplexie hypophysaire.

#### II-3.1. Syndrome tumoral

Ce syndrome est lié à l'envahissement ou à la compression des structures avoisinantes par un macroadénome (plus rarement, un Microadénome).

Il associe de façon variable des céphalées, des troubles visuels, un syndrome d'hypertension intracrânienne et un risque de méningite en cas de brèche durale (Rhinoliquorrhée) (Rivière, 2015).

#### II-3.2. Syndromes endocriniens

On distingue les symptômes d'hypersécrétion hormonale, en fonction du type d'adénome, et les symptômes d'insuffisance hormonale, par développement de la lésion aux dépens des autres contingents cellulaires et par hyperprolactinémie de déconnection. (Rivière, 2015).



### II-3.3. Syndrome d'apoplexie hypophysaire

Il survient chez 10% des macroadénomes, généralement chez l'homme ou bien chez la femme en post-partum avec état de choc ou hypovolémie (syndrome de Sheehan). La tumeur présente une nécrose hémorragique ou ischémique soudaine, à l'origine de symptômes (Rivière, 2015).

### II.4. Pathogénèse des adénomes hypophysaires

Bien que l'on reconnaisse qu'il existe des avancées dans la reconnaissance de la pathogénie des tumeurs hypophysaires, de nombreux points restent obscures même si l'on a mis en évidence un grand nombre d'anomalies génétiques allant des mutations dans les voies de la signalisation intracellulaire, en passant par l'expression de différents facteurs de croissance pour aboutir au déséquilibres des régulateurs du cycle cellulaires. L'inactivation du gène suppresseur de tumeur et la surexpression des oncogène sont aussi impliqués dans la pathogénèse des AH (Echchikhi, 2012).

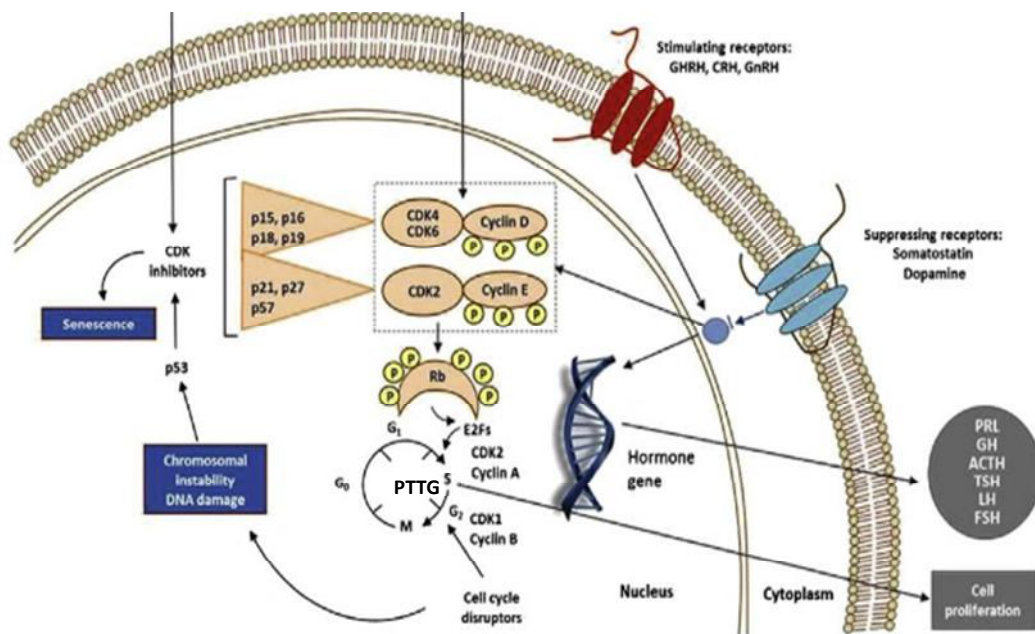


Figure 09 : La signalisation intracellulaire associée à la prolifération et la transformation des cellules de l'hypophyse. (Melmed, 2009).

#### **II-4.1. Pituitary-tumor transforming gene (PTTG)**

L'expression de PTTG (Pituitary Tumor Transforming Gene) est augmentée dans les adénomes non fonctionnels, les adénomes somatotropes et les prolactinomes. Dans les deux derniers types tumoraux, le niveau d'expression de PTTG semble corrélé au caractère agressif de ces tumeurs. La surexpression du gène PTTG semble être une des causes d'aneuploïdie tumorale. En effet, la protéine codée par ce gène a des homologues avec la sécurine, qui régule la séparation des chromatides sœurs dans la mitose. **(Acunzo et al., 2009)**

#### **II-4.2. Oncogène GSP**

Un seul oncogène a été trouvé avec une fréquence significative dans les adénomes hypophysaires humains et uniquement dans les adénomes somatotropes : l'oncogène GSP présent dans 40% d'entre eux. Le proto-oncogène code pour la sous-unité  $\alpha_s$  des protéines G hétérotrimériques, couplée aux récepteur du GHRH et activant la voie de l'AMP cyclique (AMPC). **L'oncogène GSP**, est secondaire à une mutation activatrice de la sous-unité  $\alpha_s$  des protéines G, est la seule anomalie génétique présente de façon importante dans les AH sporadiques **(Annexe I) (Jérôme, 2001)**.

#### **II -4.3. La cycline E**

La cycline E intervient dans la progression du cycle cellulaire elle est surexprimée dans les adénomes corticotropes, **(Ian et al., 2000; Brooke et Beverly, 2008)**.

Ce tableau présente quelques gènes impliqués dans la tumorigenèse des AH.

**Tableau III** : les gènes impliqués dans les adénomes hypophysaires.

Gène	protéine	Fonction	Rôle dans la pathogenèse des adénomes hypophysaires
CDKN2A	P16	Cyclin- dependent kinase inhibitoire	Une perte de fonction associée à une hyper méthylation du gène ( <b>Simpson et al., 1999</b> ). Elle permet l'inactivation de pRb ce qui favorise un avantage à la progression tumorale ( <b>Ian et al., 2008</b> ).
CDKN1B	P27	CDK inhibitoire	Une diminution de l'expression de p27 a été trouvée dans certains adénomes en particulier de phénotype corticotropes ( <b>Ben-Shlomo et Fleseriu, 2015</b> ).
CCND1	Cycline D	Oncogène	Surexprimé dans les adénomes hypophysaires agressifs fonctionnels et dans les non fonctionnels ( <b>Brooke et Beverly., 2008</b> ).

#### II-4.4. Protéine Rb

La protéine Rb à un mécanisme de suppression tumorale. Quand elle est active, elle bloque le cycle cellulaire en phase G1 via la séquestration du facteur de transcription E2F.

La protéine Rb est phosphorylé (inactivé) par le complexe cycline/Cdk ce qui permet le relâchement du complexe E2F/DP et par la suite la transition à la phase S du cycle cellulaire.

La pRb est exprimé dans la plupart des adénomes hypophysaires non fonctionnels, et environ 25% des adénomes à GH montrent l'hyper méthylation de la région promotrice des gènes *Rb*, avec la perte d'expression associée (**Simpson et al., 2000**).

#### II-4.5. P53

P53 est une protéine suppresseur de tumeur codé par le TP53 gène. Il joue un rôle important dans la prolifération cellulaire, l'apoptose et la stabilité du génome. L'expression de p53 a été liée au comportement agressif dans les adénomes hypophysaires. (Thapar et al., 1996) a démontré que les adénomes hypophysaires typiques et atypiques et les carcinomes révélé l'expression de p53 0 %, 15,2 % et 100 % des cas, respectivement.

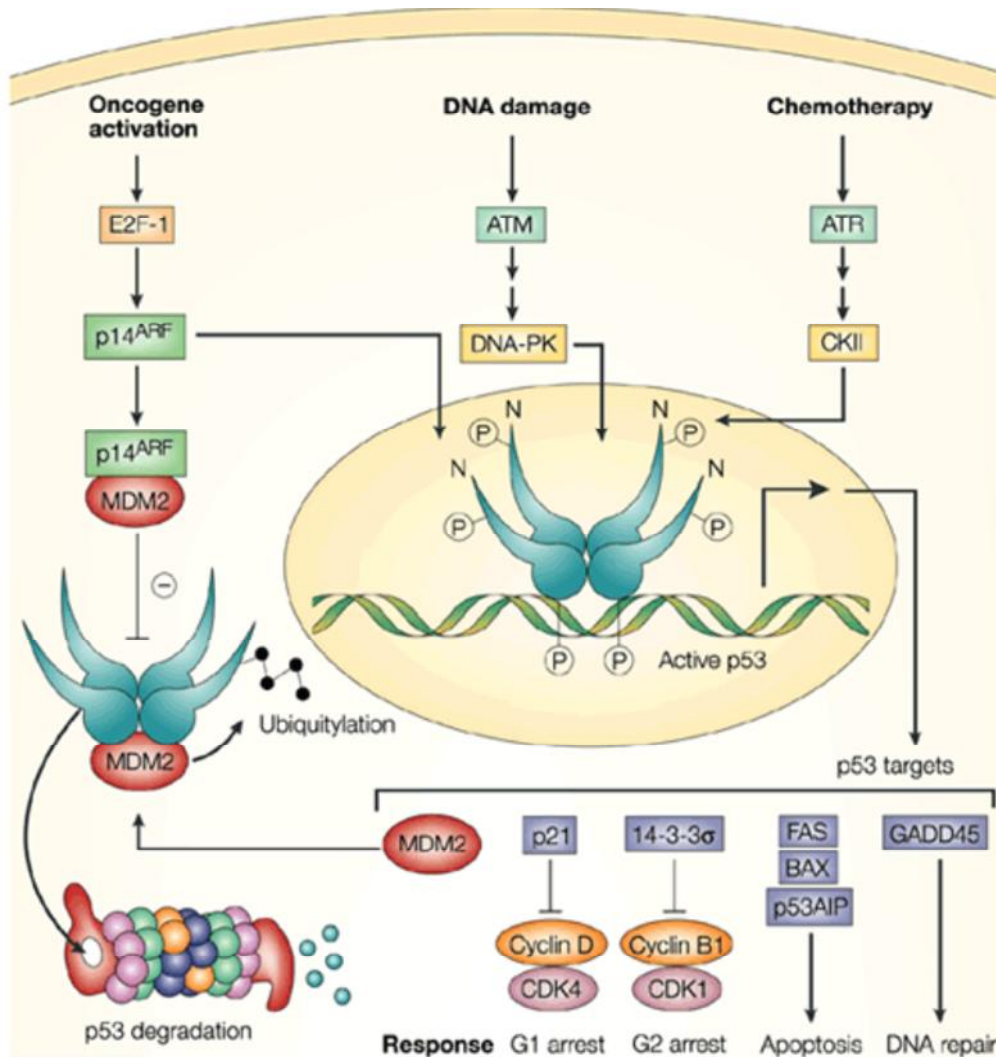


Figure 11: Régulation de la fonction suppressive de tumeurs de p53 (Herbet,2008).

Dans les cellules normales, la transcription de *mdm2*, dépendante de p53, permet la dégradation de p53 par la voie ubiquitine-protéasome. En conditions de stress, lors de l'activation d'un oncogène par exemple, p14ARF est activé et séquestre mdm2. Lorsque l'ADN est altéré, ou en cas de chimiothérapie, des kinases telles que ATM et ATR sont activées. Elles phosphorylent, via DNA-PK (DNA-dépendant Protein Kinase) et CK2 (Casein Kinase 2) respectivement, la région N-Terminale de p53 afin d'empêcher la liaison de mdm2, mais également la région C Terminale afin d'augmenter la spécificité de reconnaissance à l'ADN. Ces événements induisent la stabilisation et

l'activité de p53, et, par conséquent, la transcription des gènes cibles impliqués dans l'arrêt du cycle cellulaire, l'apoptose ou la réparation de l'ADN, en fonction du type cellulaire et/ou du stress (Bullock et Fersht, 2001).

#### II-4.6. ki-67

Le ki-67 est une protéine nucléaire présente durant toutes les phases actives du cycle cellulaire (G1, S, G2, M). Elle joue un rôle important dans l'organisation de la chromatine dans la mise en place du fuseau mitotique (Scholzen et al., 2000 ; Booth et al., 2014).

En raison de sa localisation, lorsqu'une cellule entre en division, le marquage du ki-67 apparaît au niveau nucléaire. Un indice de prolifération est ensuite évalué en fonction de l'intensité du marquage ; s'il est égale ou supérieur à 3% il peut indiquer une éventuelle forme agressive (DeLellis et al., 2004).

L'Ac anti p53 est souvent utilisé en corrélation avec le ki67. Lorsque ce dernier est égale ou supérieur à 3% et un marquage nucléaire intense à la p53 met en évidence le caractère agressif de la tumeur (DeLellis et al. 2004).

## ***CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES***

Dans le but de réaliser une étude sur l'adénome hypophysaire, nous avons réalisé un travail au niveau du service d'anatomie Pathologique du CHU Mustapha Bacha, Alger centre, sur une période de 06 mois.

Ce travail consiste en une étude rétrospective s'étendant sur 2 ans (2014 et 2015), et une étude prospective s'étendant sur 6 mois.

## **II. Matériel**

### **II-1. Matériel non biologique**

L'ensemble du matériel utilisé a été consigné en (AnnexeII.01-02)

### **II-2. Matériel biologique**

La population de notre étude est constituée de 35 prélèvements hypophysaires, provenant de différents services du CHU Mustapha, CPMC et Sidi Ghilèsse. Les prélèvements consistent en une exérèse partielle, totale ou biopsie au niveau de l'hypophyse.

L'étude histologique et immunohistochimique a été portée sur 18 adénomes, ces adénomes nous ont permis d'identifier le type hormonal et d'étudier les indices de prolifération des adénomes hypophysaires.

**Les 17cas étaient éliminé à cause de l'épuisement des blocs et le manque d'anticorps (Ac).**

## **III-Méthodes:**

### **III-1. Technique Histochimique et Immunohistochimique**

#### **III-1.1. L'histochimie (Hemalin Eosine)**

Elle se fait en plusieurs étapes :

**III-1.1. 1. Fixation :** a pour but la conservation des structures et le durcissement des pièces. Elle doit se faire immédiatement après le prélèvement, par immersion du matériel dans un grand volume de liquide fixateur. Le fixateur utilisé est le formol dilué à 10% (Annexe II.03). La durée de la fixation varie selon le volume des prélèvements (de 4h à 8h pour les pièces de l'hypophyse).

**III-1.1.2. Circulation:** son pour but est de remplacer l'eau présente dans les tissus par une matrice suffisamment stable pour maintenir les structures cellulaires. (AnnexeII.04)

#### **III-1.1.3. La déshydratation:**

Les prélèvements hypophysaires sont placés dans trois bains successifs d'éthanol de degrés croissants : 70°, 95° et 100° pendant 30 minutes chacun. Cette graduation dans les concentrations assure une déshydratation douce préservant les cellules de la distortion.

#### **III-1.1.4. L'éclaircissement:**

Ils sont introduits dans trois bains de xylène successifs pendant 2h chacun pour remplacer l'éthanol présent dans les tissus par le xylène.

#### **III-1.1.5. L'imprégnation :**

Les prélèvements sont placés successivement dans trois bains de paraffine en fusion (entre 60° et 70°C), les deux premiers durent 2h chacun et le dernier dure le reste de la nuit pour prendre une consistance solide.

#### **III-1.1.6. Inclusion (enrobage):**

Permet la réalisation de coupes fines et régulières. Les fragments sont placés au centre de petits moules métalliques contenant de la paraffine fondue par chauffage et devenue liquide, qui infiltre alors toute la pièce. Après refroidissement, on se trouve en présence d'un bloc de paraffine, dur, à l'intérieur duquel la pièce prélevée est incluse. (Annexe II.5)

#### **III-1.1.7. Microtomie:**

Les coupes du bloc de paraffine sont faites avec un microtome permettant d'éliminer l'excès de paraffine par dégrossissement et de réaliser une série de coupes d'environ 3 µm d'épaisseur sous forme de ruban (Annexe II.6).

#### **III-1.1.8. Etalement:**

Les rubans obtenus sont d'abord placés dans un bain d'étalement à 37°C, puis une lame étiquetée est plongée perpendiculairement au fragment pour faciliter son adhésion.

#### **III-1.1.9. Préparation à la coloration:**

- Déparaffinage : Etuve pendant 24h, puis dans un bain de xylène pendant 20 minutes.
- Réhydratation par des solutions alcooliques de plus en plus diluées. Quand elle est achevée, les coupes sont colorées.

#### **III-1.1.10. Coloration Hématoxyline Eosine (HE):**



Les lames sont d'abord plongées dans un bac à Hématoxyline de Harris (2 à 3 minutes), rincées dans un bain d'eau d robinet, ensuite plongées une à deux fois dans l'eau acidifiée (5ml d'acide chlorhydrique concentré dans 1L d'eau distillée), puis rincées à l'eau du robinet pendant 2 minutes. Elles sont ensuite plongées dans un bac d'eau ammoniacuée (2 ml d'ammoniaque dans 1L d'eau distillée), puis rincées à l'eau du robinet. Enfin les lames sont séchées à la plaque chauffante.

#### **III-1.1.11.Montage:**

Le montage est l'opération qui consiste à fixer, à l'aide d'une substance appropriée (Eukitt) résine synthétique, une lamelle couvre objet sur la lame contenant l'échantillon hypophysaire. Cette opération confère une protection contre les bris mécaniques et les dégradations chimiques de la coloration.

#### **III-1.1.12. Lecture:**

Elle est effectuée au microscope optique, aux grossissements (X10, X40, X100).

-Résultats de la coloration :

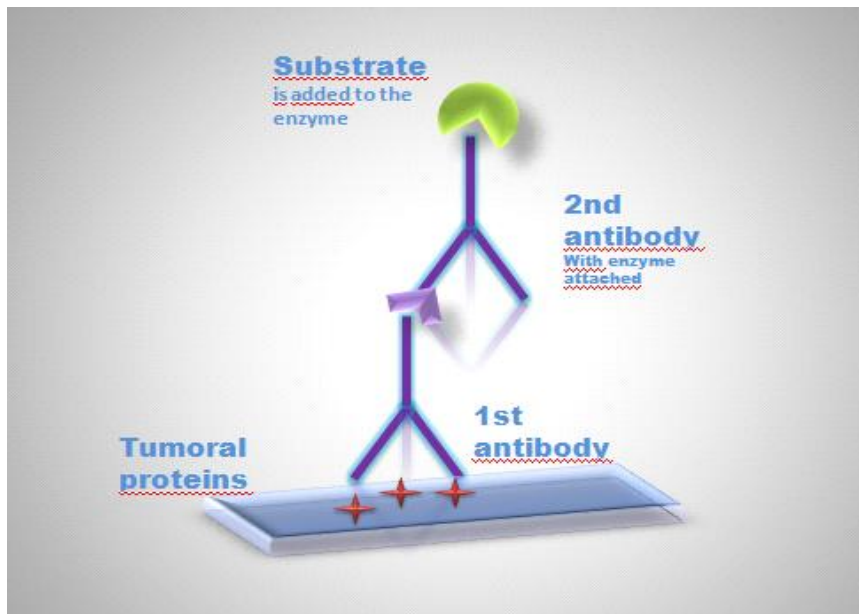
- Noyau (bleu foncé).
- Cytoplasme et tissu conjonctif (nuances de roses).

### **III-1.2. Immunohistochimie**

Elle permet la révélation de protéines spécifiques et leur localisation cellulaire dans une coupe de tissu préalablement fixée et incluse en paraffine. Nous utilisons une technique d'immunohistochimie indirecte permettant une amplification de l'intensité du signal obtenu après le marquage d'une réaction antigène-anticorps.

#### **III-1.2. 1. Principe :**

La méthode consiste à mettre en évidence un antigène grâce à la fixation d'un anticorps primaire, puis celle d'un anticorps secondaire couplé à un polymère inerte qui porte des enzymes. Ce complexe est ensuite mis en évidence avec un révélateur dont l'hydrolyse produit un précipité de couleur marron. Les structures ayant fixé l'anticorps primaire sont donc facilement repérables avec cette coloration. Une contre-coloration à l'hématoxyline est effectuée, teintant les noyaux et les cytoplasmes en bleu. Toutes les structures apparaissent et le repérage microscopique des zones intéressantes est facilité (Figure 17) (Anonyme, 2000).



**Figure 17** : Schéma présentant le principe de la technique d'immunohistochimie.

### III-1.2. 2. Protocole :

**a. Préparation des tissus** (fixation, circulation, enrobage et microtomie) est identique à celle de la coloration usuelle. Cependant l'étalement des fragments doit se faire sur des lames silanisées afin d'améliorer l'adhérence des tissus sur ces dernières et de réduire le risque de décollement des fragments.

**b. Incubation** : les lames sont incubées dans l'étuve à 54°C pendant 24 heures afin d'avoir une bonne adhésion des coupes sur les lames (Annexe II.07).

**c. Déparaffinage** : passage par 4 bains de xylène (5 minutes chacun)

**d. Réhydratation** : passage par 3 bains d'alcool à 100%,95% et 70%, (5 minutes chacun)

Rinçage à l'eau du robinet puis à l'eau distillée pendant 5 minutes.

**e. Démasquage Antigénique** : Cette étape vise à briser les ponts créés par le formol lors de la fixation afin de rendre les sites antigéniques accessibles, en immergeant les lames dans la solution aqueuse à Ph à 6 ou 9 (selon le type d'anti corps spécifique utilisée) à 95°C pendant 40 à 60 minutes.

- Rinçage à l'eau du robinet puis à l'eau distillé pendant (5 minutes).

- Les coupes tissulaires sont délimitées par un gel hydrophobe (Dako pen) pour empêcher les anticorps de diffuser sur toute la surface de la lame.
- Les coupes tissulaires sont mises à incuber pendant 10 min dans 200 µl de peroxyde d'hydrogène.
- Rinçage à l'eau distillée puis au PBS pendant 5 minutes.

**f. Application de L'anticorps Primaire :** Les anticorps primaires dilués (Tableau IV), sont testé sur la totalité des lames pendant 40 minutes pour les marqueurs de prolifération et une nuit pour les marqueurs hormonaux dans une chambre humide à température inférieure à

25 °C. Les détails des AC sont consignés en (Annexe II.08)

- Elimination de l'anticorps primaire, puis rinçage dans trois bains successifs de PBS (5 minutes pour chaque bain).

**Tableau VII :** les différents AC primaires utilisés dans l'étude IHC de l'adénome hypophysaire.

	type d'AC	Dilution
	Anti-TSH	1/50
	Anti-ACTH	1/50
Les marqueurs	Anti-GH	1/400
Hormonaux	Anti-PRL	1/200
	Anti-FSH	1/50
	Anti-LH	1/50
les marqueurs de	Anti-ki67	1/100
prolifération	Anti-P53	1/25

- **Application de L'anticorps Secondaire :**
  - Ajouter l'AC secondaire commun pour toutes les lames et laisser agir pendant 10 minutes.

- Rinçage au PBS pendant 5 minutes.

**j. Révélation :** Le DAB dilué dans 1goutte de DAB chromogène/ 1ml de DAB buffer qui est appliqué sur les lames, dès que la coloration marron apparaisse, la réaction est arrêtée par un rinçage à l'eau distillée pendant 5 minutes.

**K .Contre Coloration à L'hématoxyline :**

- Coloration des lames avec l'hématoxyline de Mayer pendant 5 minutes, puis élimination du colorant.
- Rinçage à l'eau du robinet (5minutes), puis passage dans l'alcool pour aider les lames à sécher.
- Montage : les coupes sont montées entre lame et lamelle par l'eukitt.
- Observation au microscope optique (X10, X40, X100).

**I. Lecture :**

L'intensité de la coloration brune est évaluée comme indicateur de l'expression de la protéine p53 et ki-67.

## ***CHAPITRE III : RESULTATS***

L'étude histologique et immunohistochimique a porté sur 18 cas d'AH colligés au service d'anatomie pathologie du CHU Mustapha Alger centre.

## I- PARAMETRES EPIDEMIOLOGIQUES

### I-1. Sexe (Annexe III.01)

La population étudiée est de 18 patients qui se répartit entre 12 hommes et 06 femmes, ou l'homme est le plus touché par cette maladie avec un sexe ratio M/F est de 2 (Figure 18).

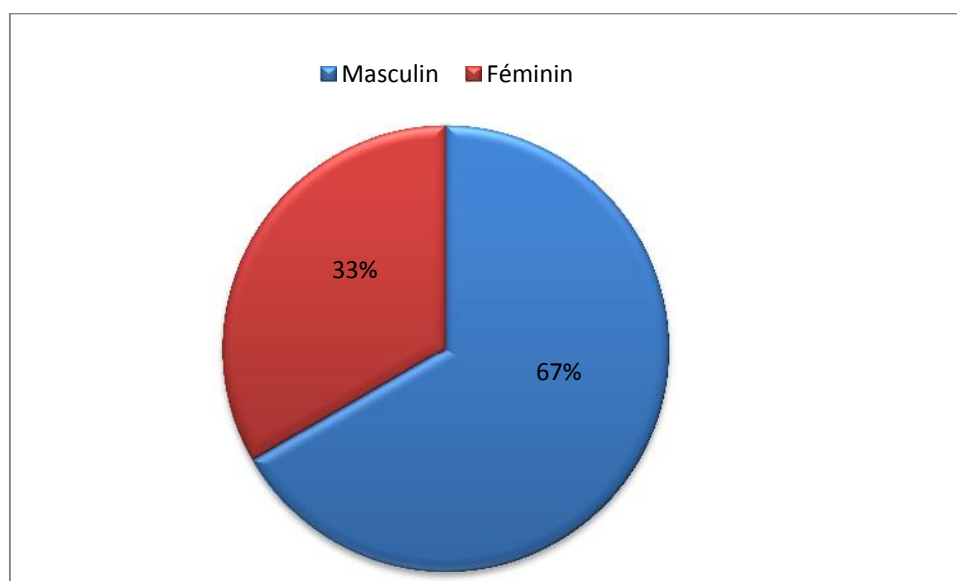


Figure 18 : Répartition des patients selon le sexe.

### I-2. Age :

L'âge des patients de notre série varie entre 10 et 76 ans, avec un âge moyen de 41,2 ans et un âge médian de 42,5 ans. La tranche d'âge comprise entre 30 et 60 ans était la plus touchée, soit 72 % des cas (Tableau IX).

Tableau IX : Répartition des adénomes hypophysaires selon l'âge

Classe d'âge (ans)	Nombre de cas	%
0_30	3	17%
30_60	13	72%
60_90	2	11%
Total	18	100%

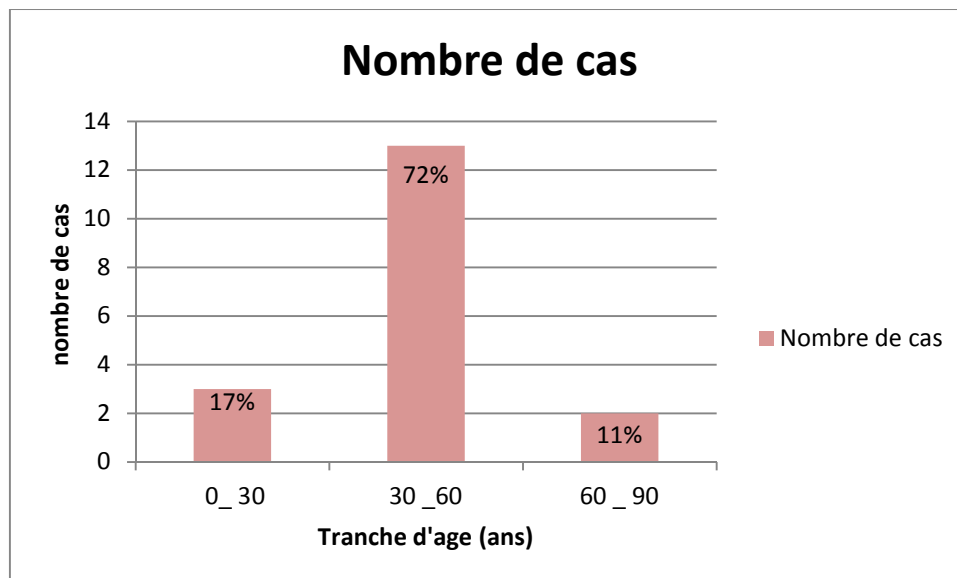


Figure 19 : Répartition des adénomes hypophysaires selon l'âge

## II- PARAMETRES CLINIQUES :

### II-1 Répartition selon la Taille : (Annexe III.02)

Notre série comprend 03 microadénomes dont le diamètre est inférieur à 10 mm, soit 17% des cas. Les macroadénomes de diamètre compris entre 10 et 40 mm, sont du nombre de 15 avec une fréquence de 83% (Figure 20)

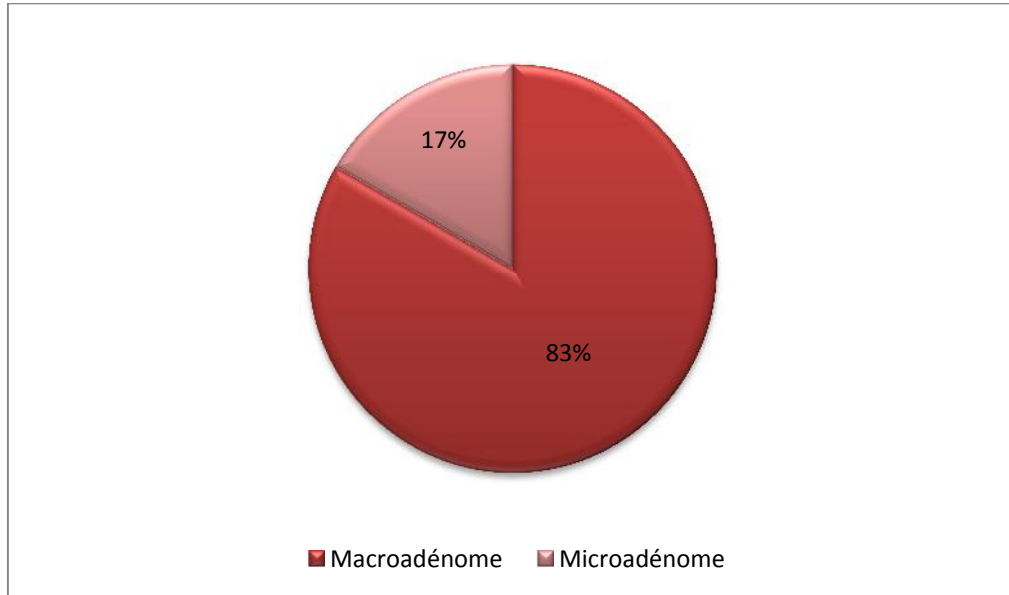


Figure 20 : Répartition des adénomes hypophysaires selon la taille de la tumeur

## II-2. Répartition des adénomes hypophysaires selon la fonctionnalité :

Dans notre série les adénomes non sécrétant représentent 17% des adénomes hypophysaires, alors que les adénomes sécrétant sont les plus fréquents dans notre étude et qui présente 83% des cas (Figure 21).

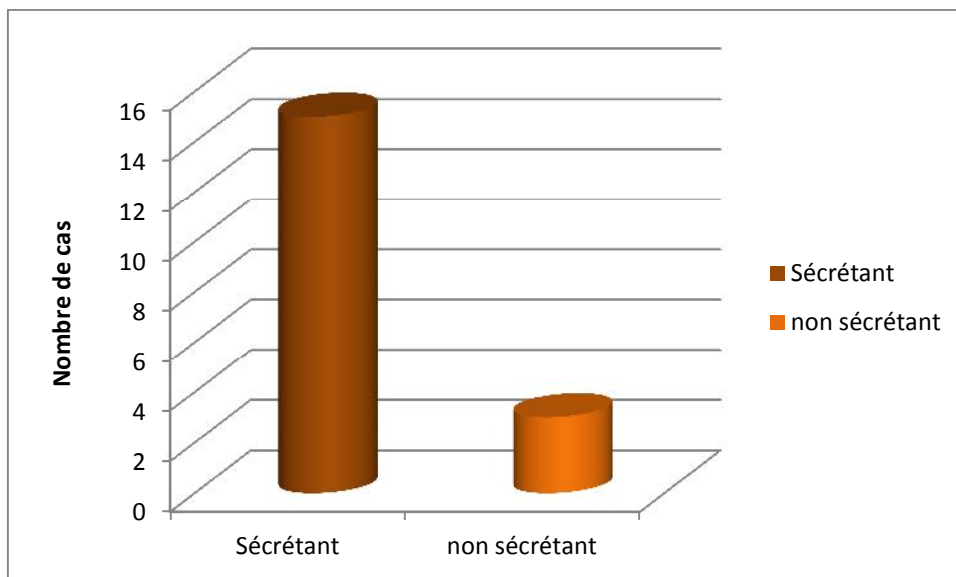




Figure 21: répartition des Adénomes hypophysaires selon la fonctionnalité.

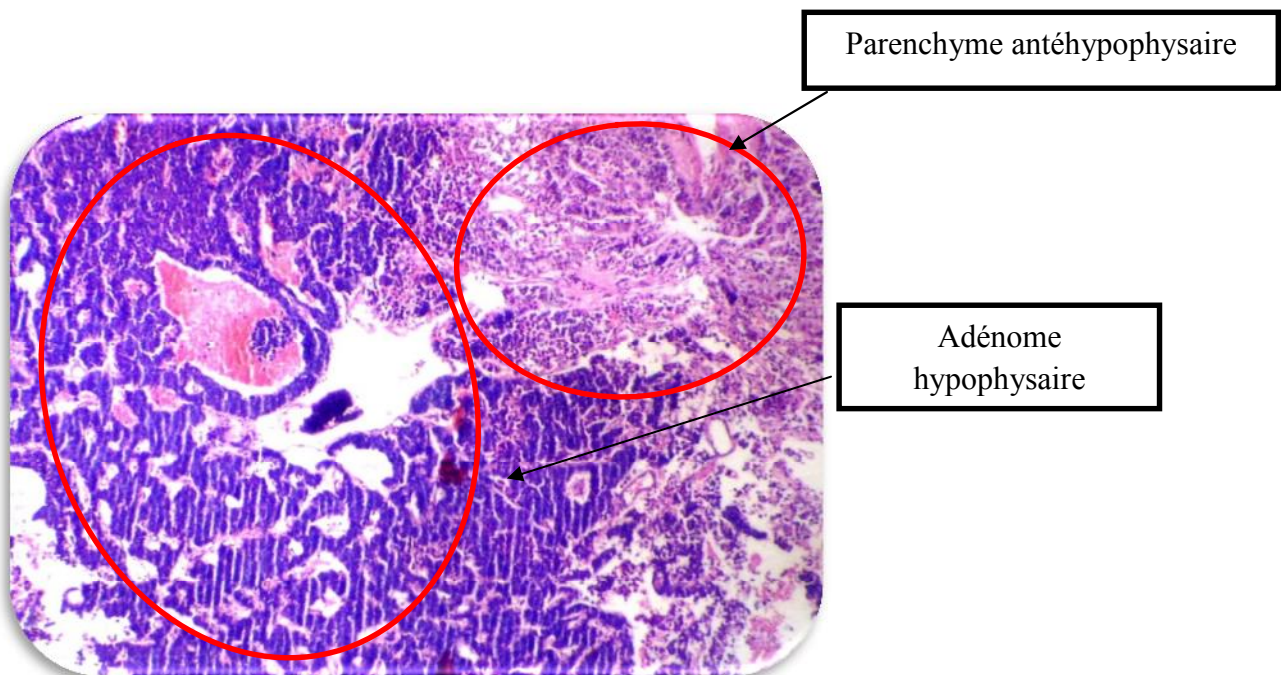


Figure 22: Adénome hypophysaire à cellules basophile : travées et cordons cellulaires basophiles G X 40

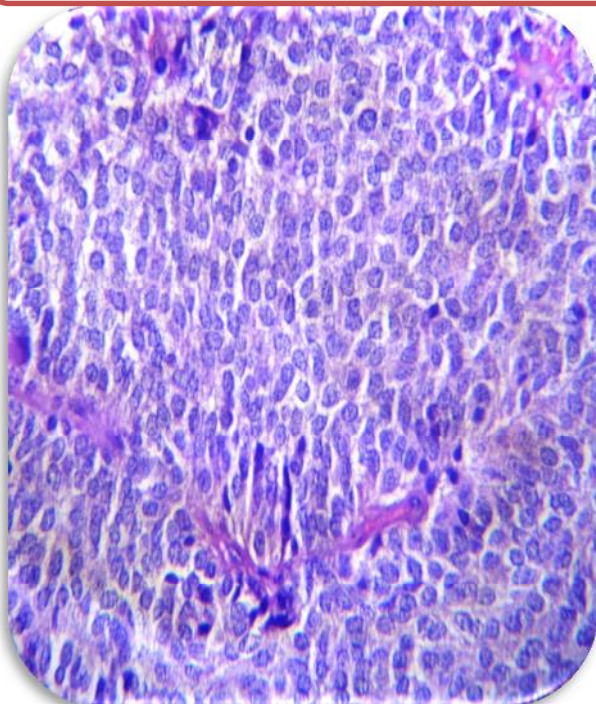


Figure 23: AH à cellules chromophobes ;  
Cellules à cytoplasme claire peu coloré G  
x 40

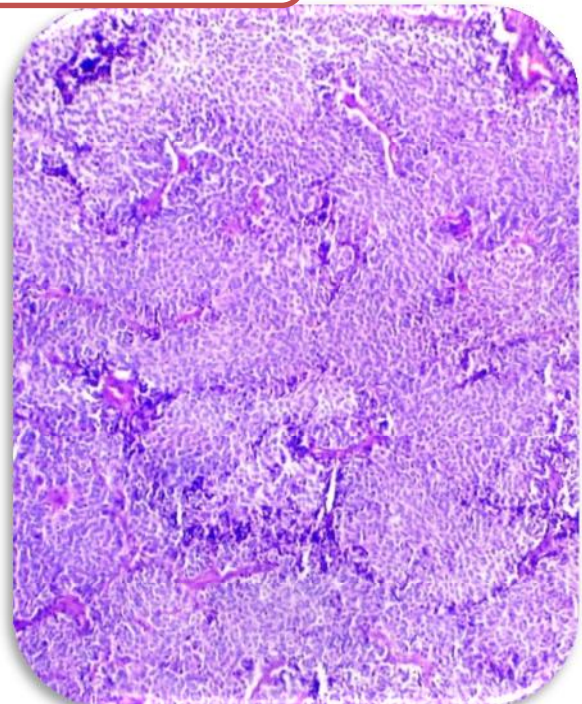
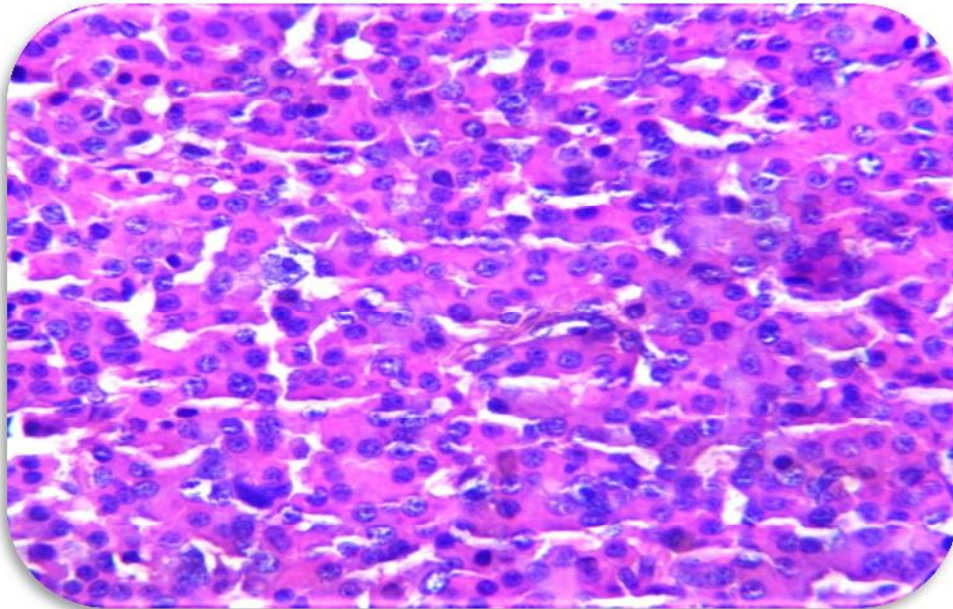
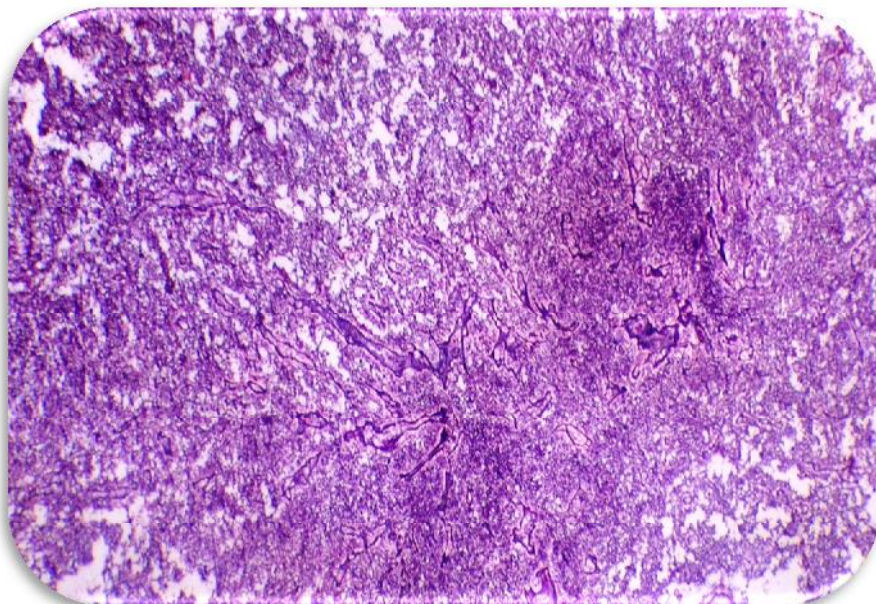


Figure 24: AH à cellules chromophobes ;  
Nappes diffuses de cellules tumorales G x  
10



**Figure 25 : AH à cellules éosinophiles ;  
Cellules globuleuses à cytoplasme éosinophile  
abondant et noyau périphérique G X 40**



**Figure 26 : Réticuline de l'adénome hypophysaire (G X 10) ;  
Disparition de la trame reticulinique aspect diffus de la  
prolifération**

### II-3. Répartition des adénomes hypophysaires selon le profil immuno-hormonal

(Annexe III.03)

Dans notre série, 50% des cas présentaient un adénome hypophysaire, 22% présentaient un adénome hypophysaire somatotrope, 17% présentaient un AH non fonctionnel, et 11% des cas présentaient un adénome hypophysaire corticotrope (Figure 27).

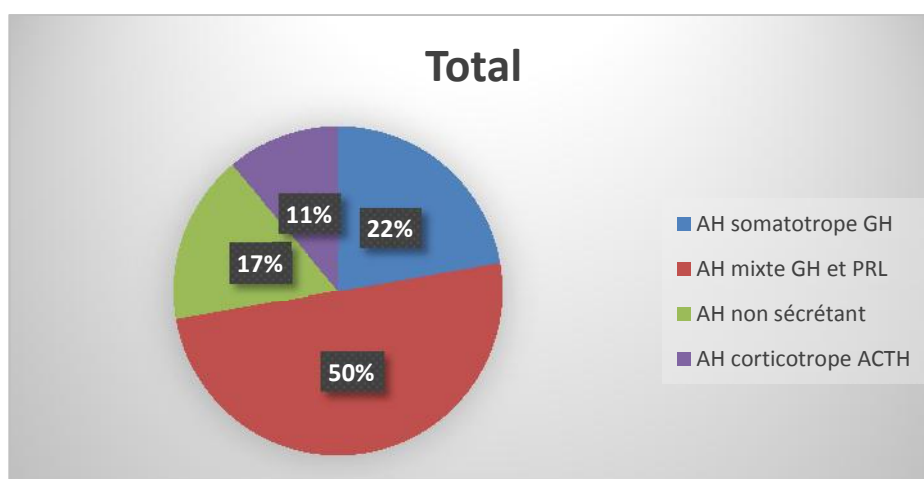


Figure 27 : Répartition des adénomes hypophysaires selon le profil immuno-hormonal

### II-4. Répartition des Adénomes Hypophysaires selon la Taille et le Profile Immuno-hormonal

Dans notre série on note une prédominance des adénomes hypophysaires mixtes (50% des cas), dont 39% sont des macroadénomes et 11% des microadénomes. Les adénomes hypophysaires somatotropes présentent (22% de la série et tous sont des macro-adénomes), suivis des AH non sécrétant (17% des cas) sont des macros puis les AH corticotrope (11% des cas) représentés par un 1<sup>er</sup> cas macro et un 2<sup>eme</sup> cas Micro-adénome (Figure28).

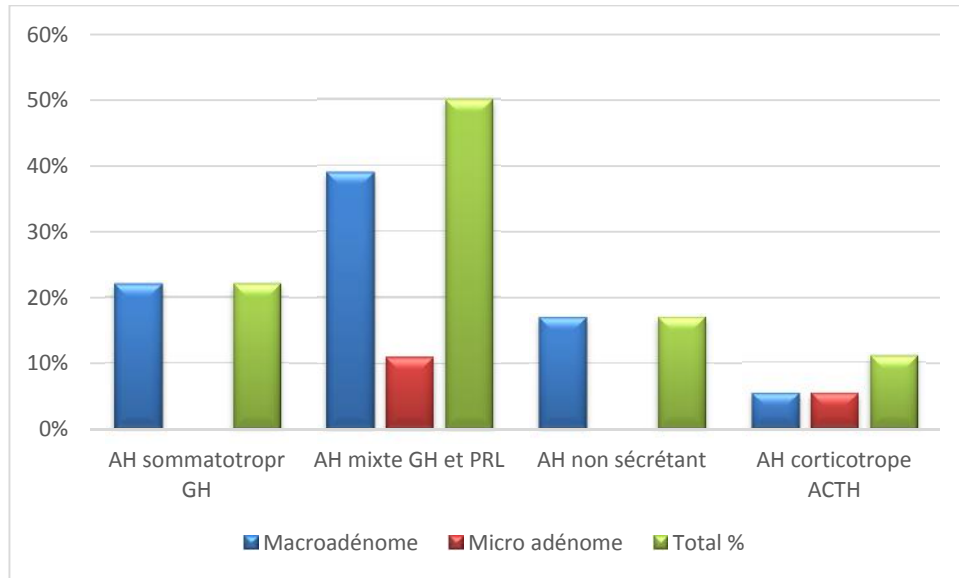


Figure 28 : Répartition des adénomes hypophysaires selon le profil immuno-hormonal et la taille

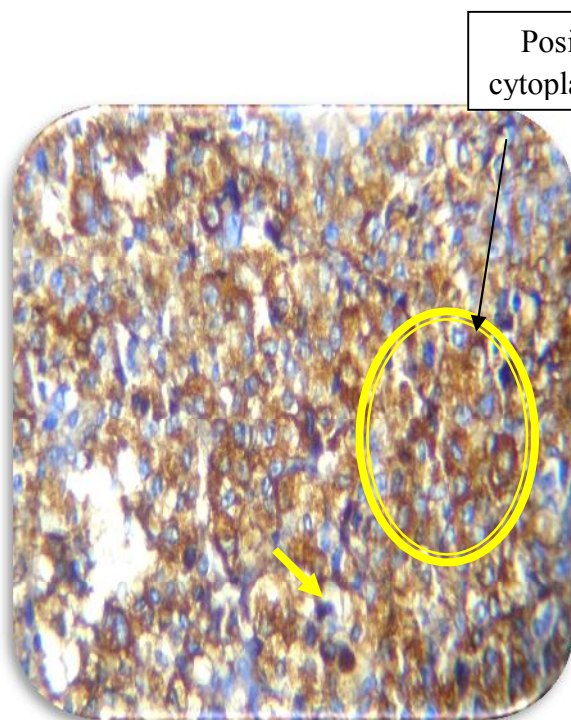


Figure 29 : Adénome à GH, marquage IHC intense à la GH (G X 40)

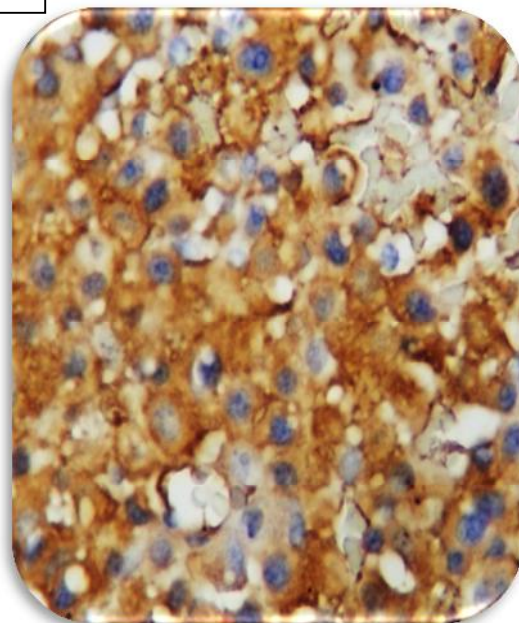
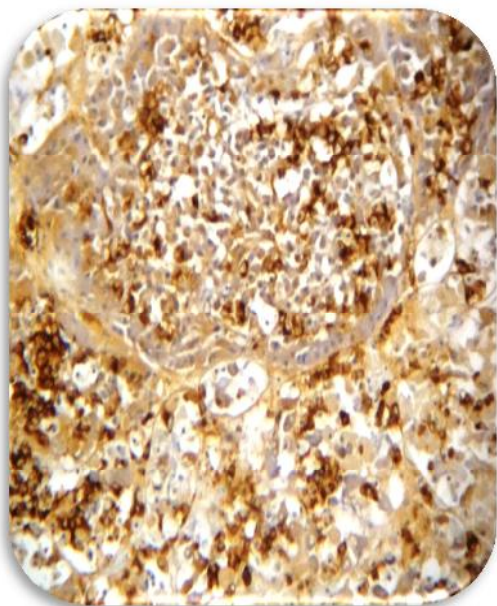
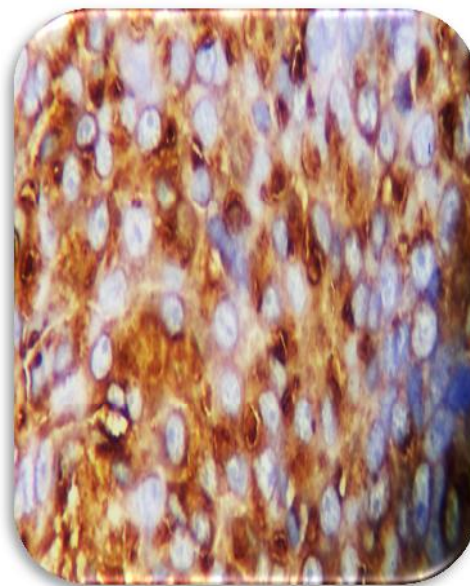


Figure 30 : AH à GH : positivité cytoplasmique et membranaire (G X40)



**Figure 31: Adénome à PRL : positivité en dot para nucléaire (G X 10)**



**Figure 32 : Adénome à PRL : positivité en dot para nucléaire (G X40)**

## II-5. Répartition des Adénomes Hypophysaires selon Le ki-67

Nous avons réalisé un compte de cellules marquées sur 100 cellules tumorales, examinées au fort grossissement dans les zones les plus marquées. Ensuite, ce rapport ou index de prolifération a été exprimé en pourcentage. Par la suite, nos résultats (ki-67) ont été classés en trois groupes : entre 0 et 3%, 3 et 9% et entre 9 et 15%.

Deux adénomes hypophysaires typiques présentent moins de 3% de cellules immun marquées (11%) et 16 cas d'AH atypiques : 10 cas entre 3 et 9% (56%) et 6 cas entre 9 et 15% (33%) (Tableau XII).

**Tableau XII : Répartition des adénomes hypophysaires selon le ki-67**

ki67	Nombre de cas	%
ki-67 [0%-3% [	2	11%
ki-67 [3%-9% [	10	56%
ki-67 [9%-15%]	6	33%
TOTALE	18	100%

## II-6. Répartition des Adénomes Hypophysaires selon le ki-67 et la Fonctionnalité :

Dans notre série les adénomes hypophysaires sécrétant (15 cas) dont le ki-67 est évalué : dans 2 cas entre [0%-3% [, 9 cas entre [3%-9% [et 4 cas entre [9%-15%].

Les adénomes hypophysaires non sécrétant présentent (3cas) dont le ki-67 est évalué : dans 1 cas entre [3%-9% [et 2 cas entre [9%-15%] (Figure 33).

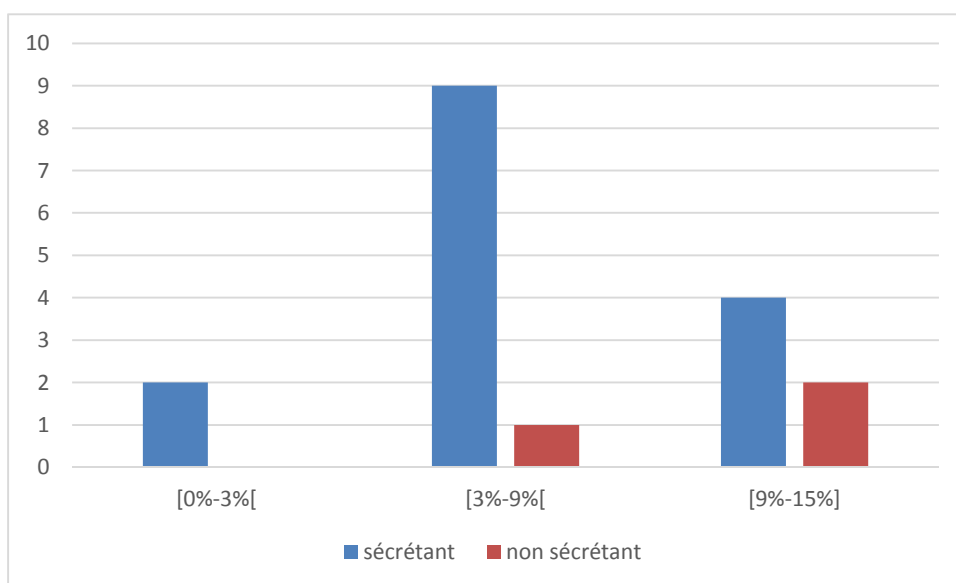


Figure 33 : Répartition des cas selon le ki-67 et la fonction des adénomes hypophysaires.

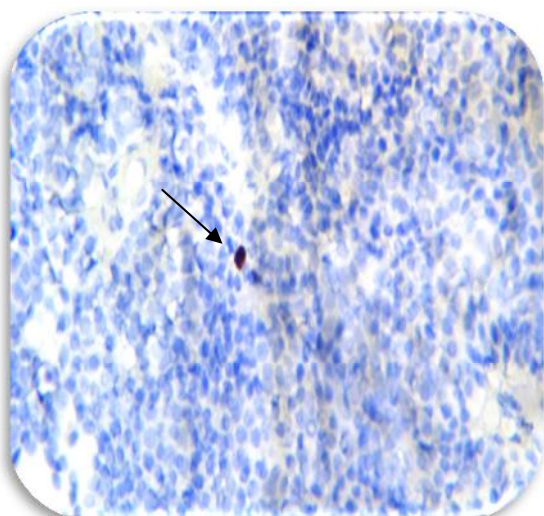


Figure 34: AH avec un Marquage IHC nucléaire au ki-67 à 1%( G x 40).

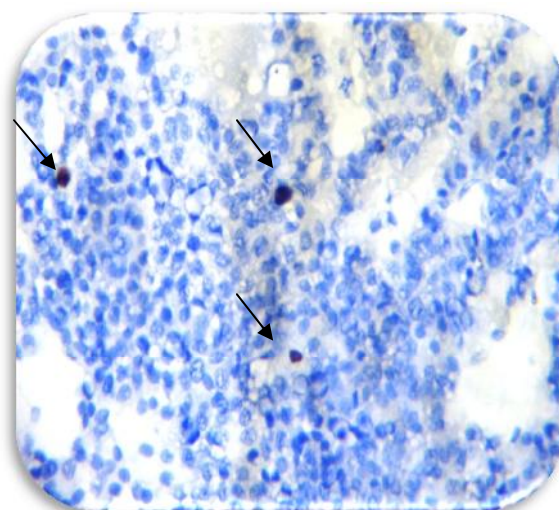
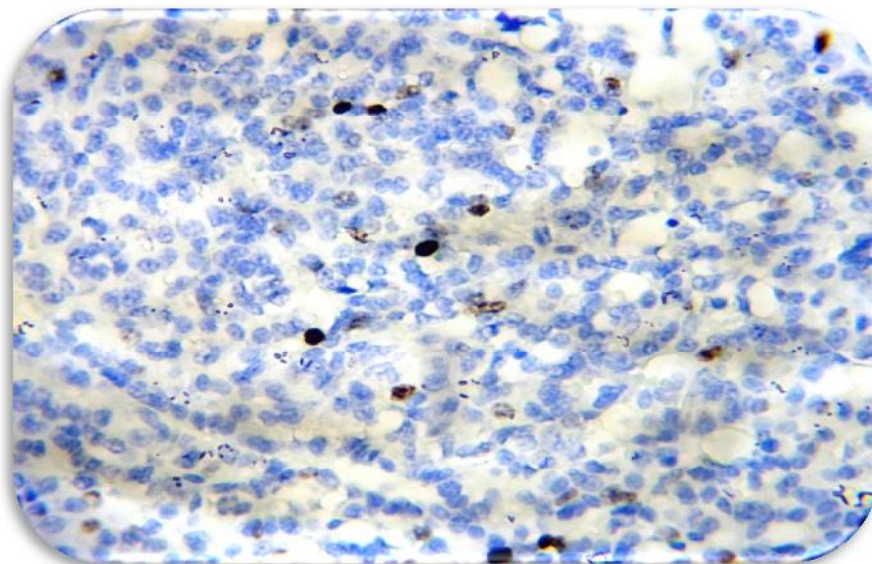
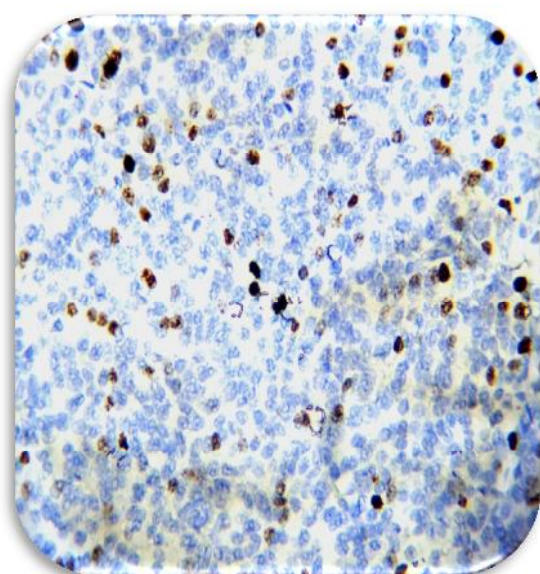


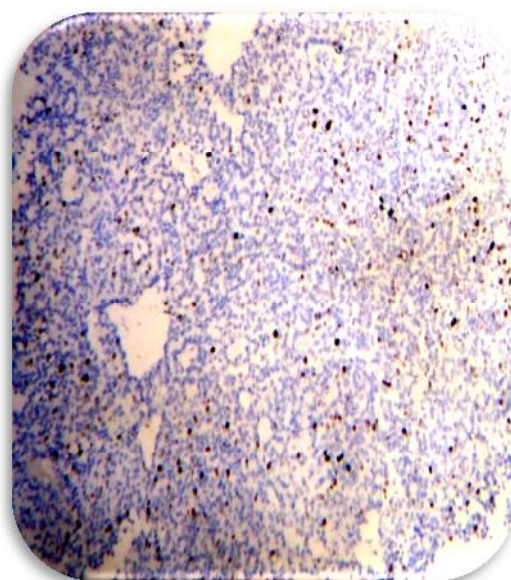
Figure 35 : AH avec un Marquage IHC nucléaire au Ki-67 à 3% (G X 40).



**Figure 36 : AH avec un marquage IHC nucléaire au Ki-67 de 7% (G X 40)**



**Figure 37 : AH avec un marquage IHC nucléaire intense au Ki-67 à 10% (G x 40)**



**Figure 38: AH avec un marquage IHC nucléaire intense au Ki-67 à 15% (G x 10)**

## II-7. Répartition des Adénomes Hypophysaires selon le ki-67 et la Taille de la Tumeur :

Dans notre population les macroadénomes hypophysaires (15 cas) dont 13 cas présentent un taux élevé de ki-67 [3 à 15%] et 2 cas le ki-67 est estimé entre [0%- 3% [.

3 cas de microadénome hypophysaire présentent un ki-67 entre 3 et 15% (Tableau XIII).

**Tableau XIII : Répartition des cas selon la taille et le ki-67**

ki67	macro-adénome	micro-adénome
[0%-3% [	2	0
[3%-9% [	8	2
[9%-15%]	5	1

## II-8. Répartition des Adénomes Hypophysaires selon la Protéine P53 :

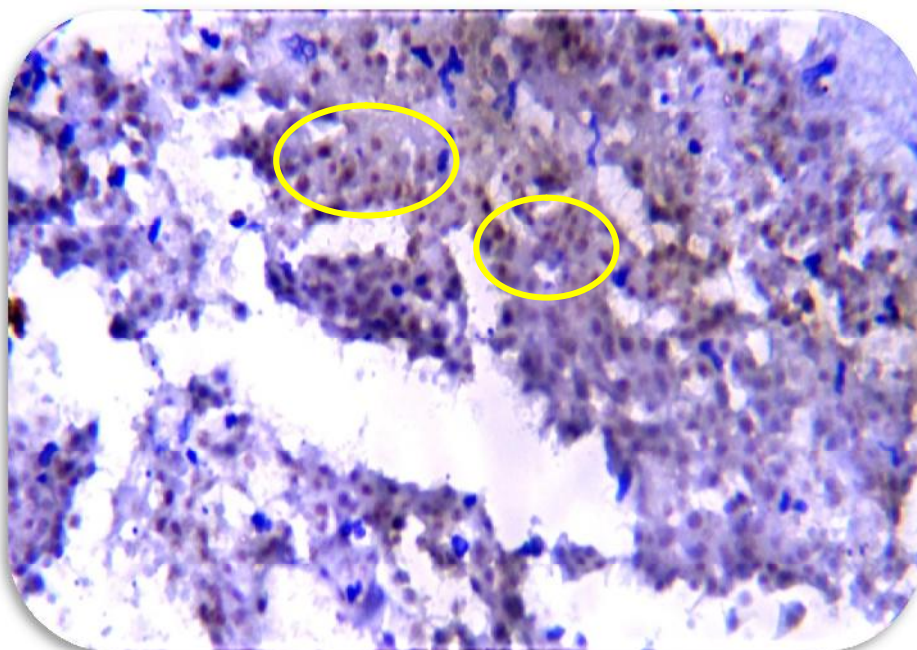
Nous avons réalisé un compte des cellules marquées sur 100 cellules tumorales examinées au fort grossissement, dans les zones les plus marquées et classées soit positive ( focale ou diffus) soit négative.

Dans notre série l'expression de la protéine P53 a été notée dans 10 cas soit 56% et elle n'a pas été exprimée dans 8 cas soit 44% (Tableau XIV).

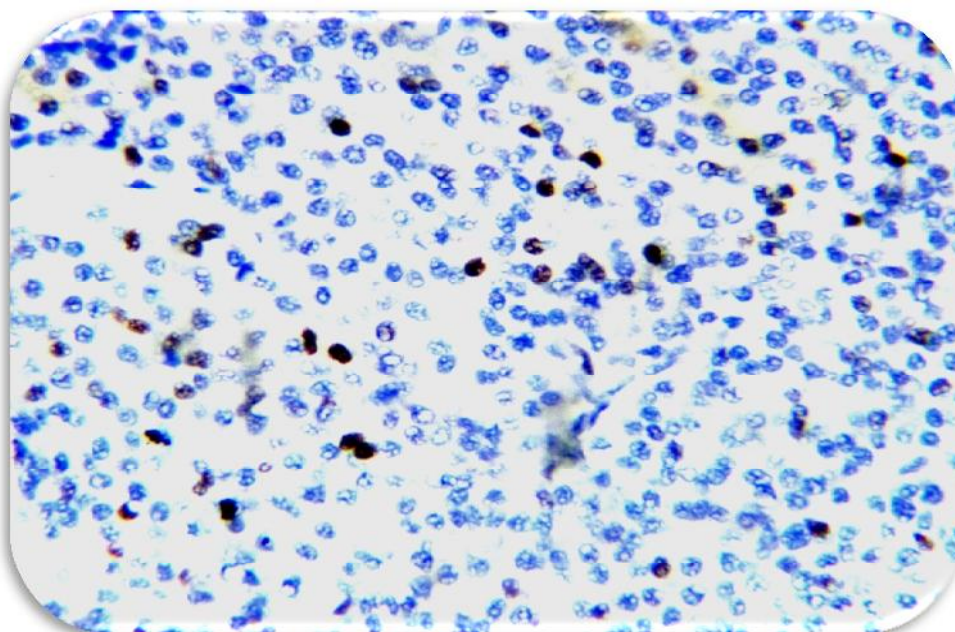
**Tableau XIV : Répartition des cas selon la p53**

P53	Nombre de cas	%
positive diffus	7	39%
positive focale	3	17%
Négative	8	44%
TOTALE	18	100%

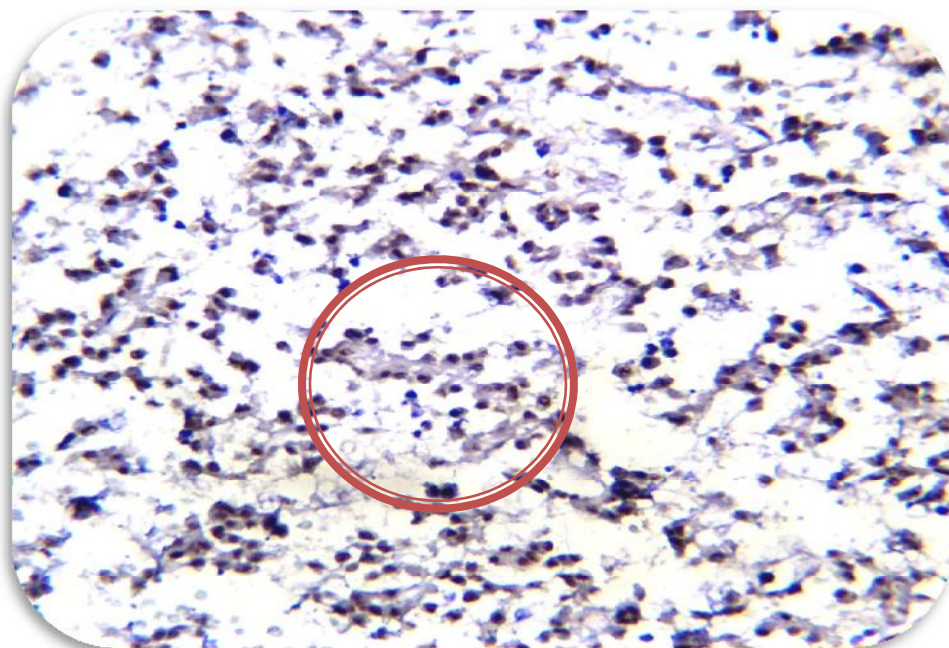




**Figure 39 : AH avec une positivité de la protéine P53 (G x 40)**



**Figure 40: AH avec une positivité de P53 (G x 40).**



**Figure 41 : AH avec une positivité de la P53 (G x 40).**

### **II-9.Répartition des Adénomes Hypophysaires selon la Protéine P53 et le ki-67 :**

Dans notre série les adénomes hypophysaires typiques (2 cas) présentent un Ki-67 inférieur à 3% et une négativité de la protéine p53.

Dans 10 cas d'adénome hypophysaire atypique ; 6 cas présentent une positivité de la protéine p53 (3 cas avec positivité diffuse et 3 avec positivité focal) et un ki-67 entre [3%- 9%, et 4 cas présentent la négativité de la protéine p53 dans 3 cas avec un ki-67 égale à 3% et 1 cas avec un ki-67 égale à 7%.

Dans 6 cas d'AH atypique, 4 cas présentent une positivité diffuse de la p53 et un ki-67 entre 9 et 15% et 2cas présentent une négativité de la protéine p53 avec une ki-67 égale à 10%.

**Tableau XV : Répartition des adénomes hypophysaires selon le ki-67 et la P53**

<b>ki-67</b>	<b>P53 positivité diffus</b>	<b>P53 positivité focal</b>	<b>P53 négative</b>	<b>Total</b>
[0%-3% [	0	0	2	2
[3%-9% [	3	3	4	10
[9%-15% [	4	0	2	6
Total	7	3	8	18

## ***CHAPITRE IV : DISCUSSIONS***

Dans ce travail, nous étudions à travers une analyse rétrospective et prospective de 18 patients atteints d'adénome hypophysaire colligés dans le service de Pathologie du CHU Mustapha.

- **Selon Sexe :**

Notre série comprend 12 cas (67%) de sexe masculin et 06 cas (33%) de sexe féminin ; il y a presque autant d'hommes que femmes. Dans la littérature ces données varient en fonction des séries : au Mexique selon **Ortiz-Plata et al.,(2003)**, l'incidence de l'adénome hypophysaire est plus élevée chez l'homme que chez la femme à cause de la révélation tardive. Contrairement à la Belgique où une nette prédominance féminine est observée (**Daly et al., 2006**) ; (**Beladaci et Bouloum, 2015**).

- **Selon L'âge :**

Dans notre série l'âge est entre 10 et 76 ans avec une moyenne de 41,2 ans et un pic de fréquence entre 30 et 60 ans (72% des cas), ceci avoisine les résultats de l'étude de **Beladaci et Bouloum** en Algérie sur 17 cas d'AH présentant une moyenne d'âge de 43,5 ans et un pic de fréquence entre 30 et 60 ans (**Beladaci et Bouloum, 2015**).

Au Mali (de Janvier 1995 à Décembre 2003) sur une série de 19 cas des AH (12-61 ans), Nguenan a trouvé une moyenne d'âge de 36,2 ans et un pic de fréquence entre 30-60 ans (**Nguyenan, 2004**).

- **Selon Taille :**

Les macroadénomes représentent la majeure partie avec 83% des cas (dont 11 hommes et 4 femmes) par rapport aux microadénomes qui ne représentent que 17%.

Nos résultats sont en accord avec les travaux de (**Osamura et al., 2008**) et (**Beladaci et Bouloum, 2015**) qui ont rapporté que les macroadénomes sont majoritaires et sont généralement découverts chez l'homme au stade de macroadénomes parce que la symptomatologie est plus fruste que chez la femme.

- **Selon la Fonction :**

Dans notre série, nous avons noté une prédominance des adénomes sécrétants (fonctionnels), 15 cas (83%) par rapport aux non fonctionnels 3 cas (17%) parce que les adénomes sécrétants provoquent un syndrome clinique particulier en fonction du type de l'hypersécrétion hormonale mais les non sécrétants sont révéler par un syndrome tumoral ou de façon fortuite.

Notre résultat est en accord avec les données de la littérature (**Philippe 2009**) et avec l'étude de **Rekik et al** en Tunisie à propos de 131 cas d'AH ou ils ont trouvé aussi une prédominance d'AH sécrétants dans 82,5% par rapport non sécrétant dans 17,5% (**Rekik et al., 2006**).

- **Selon le Type Hormonal :**

Dans notre série on note une prédominance des adénomes hypophysaires Mixtes à cellules à GH et prolactine (50% des cas) car ils représentent le sous-type d'adénome opéré le plus fréquent. Les adénomes hypophysaires somatotropes présentent (22% des cas), suivis des AH non sécrétants (17%), puis les AH corticotropes (11% des cas).

Par contre, d'après les données immunohistochimiques de la série de 410 patients (**Trouillas et al., 2013**) on constate qu'elle est composée de (28,29% )d'AH de PRL, (27,07%) de GH, (25,6%) de FSH et LH et (19,04%) des tumeurs ACTH.

Dans une étude de 68 cas d'adénome hypophysaire (**Adrian et al., 2006**) ont noté que les prolactinomes étaient les tumeurs les plus fréquentes trouvées (66,2%), suivies par les tumeurs non sécrétants (14,7 %), somatotropes (13,2%), cette discordance de la répartition est liée au nombre limité de la série.

Pour les AH corticotropes nous avons noté (11% des cas). Selon (**Meteo O et Asa SL, 2012**) les adénomes corticotropes ne comptent que 10 à 15% de l'ensemble des adénomes hypophysaires.

- **Selon le Type Hormonal et la Taille :**

Dans notre série, nous avons noté que 50% des cas sont des adénomes hypophysaires mixtes à cellules sécrétants GH et Prolactine (39% sont des macroadénomes et 11% sont des microadénomes).

Les macroadénomes sont les plus fréquents parce que les symptômes endocriniens sont masqués, donc la révélation de l'adénome est tardive.

Selon l'étude de **CHANSON et ses collaborateurs (2007)** les macroadénomes sont dans la plupart des cas des tumeurs mixtes à cellules sécrétantes (GH et Prolactine).

L'étude de Osamura et al (2008) indiquent qu'à l'exception des ACTH, les adénomes hypophysaires mixtes (à sécrétion GH et PRL), à GH et non sécrétants sont des macroadénomes.

Contrairement, l'étude de **SCHEITHAUER et collaborateurs (2005)** indique qu'il n'existe pas de corrélation étroite et constante entre l'importance des signes endocriniens et la taille de l'adénome.

- **Selon le Ki-67**

Dans notre étude on a noté que la majorité des adénomes hypophysaires sont atypiques (16 cas) avec un ki-67  $\geq 3\%$  dont 10 cas (56%) le ki67 est entre [3, 9% [et 6 cas (33%) entre [9, 15% [. Ils sont typiques dans 2 cas (ki-67 < 3%).

Ce qui suggère que l'activité proliférative tumorale est totalement plus élevée chez les AH atypiques que les AH typiques (**Pizarro et al., 2004**).

Ces résultats rejoignent les données de la littérature (**OMS, 2004**) et les études de **Thapar (1996)** et **Maysam (2014)** ou ils ont établi une valeur de ki-67 supérieure ou égale à 3% pour distinguer les adénomes hypophysaires typiques des atypiques (**Maysam et al., 2014**) (**Thapar et al., 1996**).

Selon l'étude de **Roger et al (2008)**, l'Immunohistochimie de Ki-67 a révélé que les AH typiques ont un Indice de prolifération faible par rapport aux AH atypiques (**Roger et al., 2008**).

Dans une étude Allemande sur 308 cas, la valeur identifiée pour l'indice de prolifération (ki-67  $\geq 4\%$ ) a été légèrement supérieure à la valeur suggérée par l'OMS pour distinguer les adénomes typiques et atypiques. A titre d'exemple, la cohorte de patients PITUI-CARE, regroupant des patients atteints de carcinome hypophysaire incluait 4/24 patients avec une tumeur hautement agressive et cependant un Ki-67 inférieure à 3% (**Cormack, 2013**).

Ceci indique que la valeur prédictive du Ki-67 est insuffisante et/ou prise par défaut dans les cas d'AH agressive (**Cuny et al., 2013**).

Néanmoins ce taux de croissance est une caractéristique très importante dans l'analyse des comportements cliniques, donnant ainsi aux cliniciens des indices essentiels sur les tumeurs agressives qui sont difficiles à traiter (**Miermeister et al, 2015**).

- **Selon le ki-67 et la Taille de la Tumeur :**

Les macroadénomes de notre série (15 cas) sont en majorité des adénomes hypophysaires atypiques (13 cas)  $ki-67 \geq 3\%$ . ceci indique qu'une croissance importante des cellules tumorales entraîne l'atteinte de dimensions supra centimétriques et un pouvoir d'envahissement des structures de voisinage ; l'étude de (**Hadzhiyanev et al., 2014**) sur 93 patients a trouvé une corrélation positive entre le ki-67 et la taille de la tumeur.

Néanmoins 2 cas de macroadénomes sont typiques avec un  $ki-67 < 3\%$  ce qui suggère qu'il n'y'a pas toujours une corrélation entre la taille de la tumeur et le ki-67 et que d'autres facteurs de croissance interviennent également dans la croissance tumorale ceci rejoint l'étude de (**Delgrange et al., 1997**) ou il a trouvé une corrélation négative entre l'expression de Ki- 67 et la taille de la tumeur dans les différents types d' adénomes hypophysaires.

- **Selon le Ki-67 et la Fonctionnalité :**

Dans notre série les adénomes hypophysaires sécrétants sont en majorité atypiques avec un  $ki-67 \geq 3\%$ , et les adénomes hypophysaires non sécrétants présentent 1 cas exprimant un ki-67 à 4% et 2 cas à 10% ce qui signifie que le ki-67 est légèrement plus élevé chez les adénomes sécrétants par rapport au non sécrétants. Ceci se rapproche des données des séries publiées dans la littérature comme l'étude de (**Chacko et al., 2010**) en Inde sur 159 patients ou le ki-67 a été élevé dans les adénomes hypophysaires sécrétants par rapport au non sécrétants (**chacko et al., 2010**). Concernant **Thapar et al, (1996)** la plupart des AH sécrétants présentent un ki-67 plus élevé que les AH non sécrétants (**Thapar et al., 1996**).

- **selon P53 :**

Dans notre série les AHA la protéine p53 est exprimée dans 10 cas (56%), elle est négative dans 6 cas (33%) ceci avoisine les résultats de l'étude de **Mete et al, (2012)** ou la protéine p53 est détectée dans les adénomes hypophysaires atypiques avec un comportement agressif (**Mete et al., 2012**) et l'étude de **Gandour-Edwards et al**, ou il n'a pas détecté la présence de la protéine p53 dans 10 patients ayant des adénomes hypophysaires atypiques (**Gandour et al, 1995**), ce qui indique que, dans les adénomes hypophysaires atypiques il y'a d'autres facteurs qui ont une activité proliférative et qui déterminent le comportement agressif comme le Rb, PTTG et P21 (**Miermeister et al., 2015**).



- **Selon le ki-67 et la p53 :**

Dans notre série les 2 cas d'adénomes hypophysaires typiques (ki-67 < 3%) présentent une p53 négative, Ces résultat rejoignent les données de la littérature **(OMS, 2004)**.

**On ce qui concerne les AHA**, la protéine p53 est positive dans 10 cas, parmi lesquels l'expression de 07 cas est faible et de 3 cas est intense.

Selon l'étude de **Del Basso Del Caro et al.** sur 50 cas en Allemagne ou ils ont considéré qu'une forte immunopositivité de p53 et un Ki- 67 élevé pouvait prédire un risque accru de récurrence de la tumeur **(Del Basso Del Caro et al., 2016)**.

Dans les 6 cas restant d'AH atypique la p53 n'a pas été exprimé, donc on constate que les adénomes atypiques n'expriment pas toujours la p53, ces données contradictoires ont été relevées dans plusieurs études.

Selon l'étude de **Miermeister et al**, ou ils suggèrent que malgré un résultats négative de la protéine p53 cela ne supprime pas la possibilité d'une croissance agressive de la tumeur **(Miermeister et al., 2015)**.

L'expression hétérogène de la P53 dans les adénomes atypiques avec un KI67 élevé suggèrent que la p53 n'est pas un facteur pronostique indépendant pour déterminer le comportement agressif des tumeurs hypophysaires **(Metz et al., 2012)**.

## Conclusion

Les adénomes hypophysaires sont des tumeurs bénignes de l'hypophyse dotées d'un pouvoir de prolifération variable d'un adénome à l'autre.

Notre étude de 18 cas d'adénomes hypophysaires a montré des résultats similaires à la plupart des études rapportées dans la littérature.

L'étude immunohistochimique permet de déterminer en premier le profil hormonal et donc le type hormonal d'un adénome et d'évaluer via des marqueurs de prolifération (ki-67 et la P53) le degré d'agressivité des adénomes et de prédire leurs potentiel de récurrence et de résistance aux traitements afin d'améliorer les chances de guérison.

L'étude du marqueur de prolifération Ki67 dans notre série, a montré que 89% des adénomes hypophysaires avaient un indice de prolifération supérieur ou égale à 3 % ; il est beaucoup plus élevé dans les adénomes hypophysaires atypiques.

Le but d'utiliser la protéine P53 est de vérifier si elle est détectée dans tous les cas présentant un  $ki-67 \geq 3\%$  (adénomes hypophysaires atypiques),

Pour cela le marquage immunohistochimique dans notre étude a donné des résultats controversés ou le ki-67 est supérieur ou égale à 3% et la p53 est négative (dans 33% des cas), ce qui suggère que la protéine p53 n'est pas un facteur indépendant pour déterminer le comportement agressif des tumeurs hypophysaires et que selon la littérature ils existent d'autres facteurs qui permettent de prédire le comportement agressif comme la PTTG, Pit-1 et P21.

## REFERENCE BEBLIOGRAPHIQUE

---

- **Acunzo J., Saveanu A. Gérard C. Enjalbert A. Barlier A. 2009.** Mechanisms of pituitary tumorigenesis. *Medical Press*, 38, 1. 76-83.
- **Adrian F. Daly., Martine R., Christelle A., Anastasia D., Maria A., Tichomirowa., et Albert B. 2006.** High Prevalence of Pituitary Adenomas: A Cross Sectional Study in the Province of Liege, Belgium. *Clinical Endocrinology and Metabolism*. 91, 12. 4769–4775.
- **Asa SL. 2011.** Tumors of the pituitary gland. Fascicle 15, 4th Series. In *The Atlas of Tumor Pathology*. Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology.
- **Asa SL & Ezzat S. 2009.** The pathogenesis of pituitary tumors. *Annual Review of Pathology* 4 97–126.
- **Beauvy J. 2015.** Rôle des oncoprotéines MAF dans les cellules endocrines antéhypophysaires. Thèse du doctorat. *L'université Claude Bernard Lyon1*. 75P.
- **Beldaci Z., Bouloum S. 2015.** Etude anatomo-clinique et immunohistochimique des adénomes hypophysaires. Thèse de master. Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene, 58p.
- **Ben-Shlomo A., Maria, Fleseriu. 2015.** Pituitary disorders. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. 44, 1. 273 p, America.
- **Bole-Feysot C., Goffin V., Edery M., Binart N., Kelly P.A. 1998.** Prolactin and its receptor: actions signal transduction pathways and phenotypes observed in prolactin receptor knockout mice. *Endocrinology Rev* 19 : 225-268.
- **Brooke S., Beverly MK. 2008.** Diagnosis and Management of Pituitary Disorders. *Edition illustrée*, 475 p, USA.
- **Boot D., Takagi M., Sanchez-Pulido L., Petfalski E., Vargiu G., Samejila K., Imamoto N., Ponting C., Tollervey D., Earnshaw W., Vagnarelli P. 2014.** Ki-67 is a PP1- interacting protein that organizes the mitotic chromosome periphery. *Elife science*. 3. E01641.
- **Bullock AN and Fersht AR. 2001.** Rescuing the function of mutant p53. *Nat Rev Cancer*, 1(1): 68-76.
- **Chacko G., Chacko AG., Kovacs K., Scheithauer BW., Mani S., Muliyl JP., Seshadri MS. 2010.** The clinical significance of MIB-1 labeling index in pituitary adenomas. *Pituitary*. 13, 4, 337–344.
- **Chanson P., Borson-chazet F., Charbre O., Estour B. 2007.** Drug treatment of hyperprolactinemia. *Annals Endocrinol*. 68.113-7.

## REFERENCE BEBLIOGRAPHIQUE

---

- **Chatzellis E. Alexandraki KI., Andoulakis II., Kaltsas G. 2015.** Aggressive pituitary tumors *Neuroendocrinology.* 101. 2, 87-104.
- **Cuny T., Chanson P. 2013.** Aggressive and resistant to treatment pituitary tumors. *Annals of endocrinology.* 74, S3-S12.
- **Daly AF., Rixhon M., Adam C., Dempegioti A., Tichomirowa MA., Beckers A. 2006.** High prevalence of pituitary adenomas: a cross-sectional study in the province of Liege, Belgium. *Endocrinol Metab.* 91, 12. 4769-75.
- **Del Basso De Caro M., Domenico S., Francesca P., Alessandro V., Elia G., Luigi M., Annamaria C., Guido P., Paolo C. 2016.** Atypical pituitary adenomas: clinical characteristics and role of ki-67 and p53 in prognostic and therapeutic evaluation. A series of 50 patients. Springer.
- **Delgrange E., Trouillas J., Maiter D., Donckier J., Tourniaire J. 1997.** Sex-relates difference in the growth of prolactinomas: a clinical and proliferation marker study. *Clin Endocrinol Metab.* 82, 7. 2102-7.
- **Delellis RA. 2004.** Pathology and genetics of tumours of endocrine organs. *Lyon: IARC Press.* 320 p.
- **Drareni K., et Drareni Y. 2011.** Histologie de l'adénohypophyse humaine saine et pathologique : cas de macroadénome somatoprolactinique et microadénome prolactinique. Thèse de Master. Université Houari Boumediene. 43p.
- **Echchikhi Y. 2012.** Les adénomes hypophysaires aspect épidémiologique, classification, traitement chirurgicale et évolution à long terme (a propose de 452 cas). Thèse du doctorat en médecine. CHU Ibn Sina de Rabat .189P.
- **Eimer S. 2013.** Tumeurs de l'hypophyse. Service de pathologie CHU Bordeaux. 40P
- **Ezzat S, Zheng L, Asa SL. 2004.** Pituitary tumor-derived fibroblast growth factor receptor 4 isoform disrupts neural cell-adhesion molecule/N-cadherin signaling to diminish cell adhesiveness: a mechanism underlying pituitary neoplasia. *Mol Endocrinol.* 18. 2543–2552.
- **Goffin V., Touraine P., Liovera M., Bernichtein S., Binart N., Bouchard B., Kelly P.A. 2000.** Le récepteur de la prolactine : de la biologie moléculaire aux leçons tirées des modèles expérimentaux. 2, 4. 354-62P.

## REFERENCE BEBLIOGRAPHIQUE

---

- **Gallot-Payet N. 2013.** ACTH-MC2R interaction: overview, new findings and perspectives. *Les interactions de la corticostimuline* Vol.2n°2. 21P.
- **Gandour-Edwards R. Kapadia SB., Janecka IP., Martinez AJ., Barnes L. 1995.** Biologic markers of invasive pituitary adenomas involving the sphenoid sinus. *Modern Pathology.* 8, 2, 160-164.
- **Geeta C., Ari GC., Kalman K., Bernd WS., Sunithi M., Muliyl JP., Seshadri MS. 2010.** The clinical significance of MIB-1 labeling index in pituitary adenomas. *Pituitary.* 13, 337–344.
- **Guechot G. 2007.** ACTH (Hormone adrénocorticotrope). *Biologie Médicale EMC.* (90-10-0050).
- **Habchi N.R. 2011.** Etude rétrospective et prospective des adénomes hypophysaires : apport de l’histologie et de l’immunohistochimie dans l’étude des facteurs pronostiques des prolactinomes. Thèse de Magister. Université des sciences et de la technologie (Houari Boumediene). 148P.
- **Herbet M. 2008.** Approche dynamique de la coopération d'altérations génétiques dans la tumorigenese corticosurrenalienne. Thèse de doctorat. *Université Joseph Fourier – Grenoble 1.* 233P.
- **Hadzhiyanev A., Ivanova R., Nachev E., Elenkova A., Yaneva M., Zaharieva S., Marinov M., Surchev J., Ivanova A. 2014.** Evaluation of prognostic utility of MIB-1 and p53 expression in pituitary adenomas: correlations with clinical behavior and follow-up results. *Biotechnol.* 28, 3. 502-507.
- **Ian DH. John AH. John W., Sons. 2008.** Clinical endocrine oncology. 2, 664 p, Australia.
- **Jouanneau E., Vasiljevic A., Favrel V., Lapras V., Jacquesson T., Berhouma M., Brassier G., Henaux PL. 2015.** Adénomes hypophysaires. *L'encyclopédie neurochirurgicale.* 32P.
- **Lasa M., Franzin A., Mangili F., Terreni MR., Barzaghi R., Veglia F. 2000.** Proliferation index of non functioning pituitary adenomas: correlations with clinical characteristics and long term flow up results. *Neurosurgery* 47: 1313-8.
- **Lath R., Chacko G., Chandy MJ.2001.** Determination of Ki-67 labeling index in pituitary adenomas using MIB-1 monoclonal antibody. *Neural India.* 49 :144-7.
- **Léger J.M., Caudie, C., petiot, P. 2010.** Peripheral neuropathy associated with IGM monoclonal gamopathy; 21 :55-62.

## REFERENCE BEBLIOGRAPHIQUE

---

- **Maysam A., Ownagh V., Mahouzi L., Ostovar A., Abbassioun K., et Amirjmsidi A. 2014.** The impact of immunohistochemical markers of Ki-67 and p53 on the long-term outcome of growth hormone-secreting pituitary adenomas: A cohort study. *Asian journal of neurosurgery.* 9, 3. 130-136.
- **MCormack A. 2013.** Temozolomide and Aggressive pituitary tumours: Longer-Term follow up. *Thirteenth International Pituitary Congress.* 78P
- **Meij B.P., Lopes M.B., Alden T.D., Laws E.R. 2000.** The long-tem significant of microspic dural invasion in 354 patients with pituitary adenomas treated with transphenoidal surgery. *J Neurosurgery* 96: 195-208.
- **Melmed S. 2009.** Acromegaly pathogenesis and treatment. *J. Clin. Invest.* 119, 3189–3202.
- **Merouane F. 2015.** Etude rétrospective et respective sur l'indice de l'acromégalie sur la fertilité des patients au niveau de l'hôpital central de l'armée d'Ain Naadja. *Thèse de Master.* 66P.
- **Mete O., Ezzat S., Asa SL. 2012.** Biomarmkers of aggressive pituitary adenomas. *Journal of Molecular Endocrinology.* 49, 69–78.
- **Miermeister C., Petersenn S., Buchfelder M., Fahlbusch R., Dieter K., Hölsken AL., Bergmann M., Knappe HU., Volkmar HH., Flitsch J., Saeger W., Buslei R. 2015.** Histological criteria for atypical pituitary adenomas – data from the German pituitary adenoma registry suggests modifications. *Acta Neuropathologica.* 50, 3.
- **Moussard CH., Mougín CH. 2005.** Biologie moléculaire biochimie des communications cellulaires. *De Boeck and Larcie s.a. ISBN .2-8041-3488-1.*
- **Nadji S. 2014.** Aspects morphologiques, imunohistochimiques et moléculaires du mélanome. Thèse de Master. Université BLIDA I Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. 79P
- **Nguenan M. 2004.** Pathologie hypophysaire dans le service de médecine interne de l'hôpital du point «g» de Bamako. Thèse de doctorat. Université du Mali. 135p.
- **Nguyen S.Y., Bourouina R. 2008.** Manuel d'anatomie et de physiologie. *Lamarre .* 321-323.
- **Ortiz-Plata A., Tena-Suck M, L., Perez-Neri I., Rembao-Bojorquez D., Fernandez. 2012.** Pituitary adenomas-clinico-Pathological, Immunohistochemical and ultrastructural study. *Pituitary Adenomas.* 41, 6. 953-978.
- **Osamura RY., Hanako., Mao T., Noboru O., Maya T., Susumu T., Akira T. 2008.** Pathology of the human pituitary adenomas. *Histochem Cell Biol.* 130, 3.495–507.
- **Philippe C. 2009.** Adénomes hypophysaires non fonctionnels et gonadotropes. *Presse médecine.* 38, 103-106.

## REFERENCE BEBLIOGRAPHIQUE

---

- **Pizarro CB., Oliveira MB., Coutinho LB., et Ferreira NP. 2004.** Measurement of Ki-67 antigen in 159 pituitary adenomas using the MIB-1 monoclonal antibody. *Braz J Med Biol Res.* 37, 2. 235-243.
- **Riviere L.D. 2015.** Etude en IRM des macroadénomes hypophysaires corticotropes silencieux, Thèse pour le diplôme d'état de docteur en médecine, 89P.
- **Rekik N., Ben Mrad F., Ben Mahfoud K., Chakroun E., Bouchhima C., Abid M. 2006.** Les Adénomes hypophysaires. À propos de 131 cas. 67, 5. 411p.
- **Roger G., Brooke S., Tessa H. 2008.** Role of Ki-67 proliferation index and p53 expression in predicting progression of pituitary adenomas. *Human Pathology.* 39, 758–766.
- **Saidane D. 2014.** Physiologie de l'axe hypothalamo-hypophysaire faculté de pharmacie de Monastir-DCEP.
- **Sarret P. 2000.** Signalisation par les récepteurs membranaires couplés aux protéines-G. Etude fonctionnelle des récepteurs de la somatostatine et de la neurotensine. Thèse de doctorat. Université de Nice - Sophia antipolis – France.
- **Scholzen T., Gerder J. 2000.** The KI67 protein: from the known and the unknown journal of cellular physiology. 182: 311-322.
- **Scheithauer BW., Gaffey TA., Lloyd RV., Sebo TJ., Kovacs KT., Horvath E., Yapicier O., Young WF., Meyer FB., Kuroki T., Riehle DL., Laws ER. 2005.** Pathobiology of pituitary adenomas and carcinomas. *Neurosurgery.* 59:341–353.
- **Simpson DJ., Bicknell JE., McNicol AM., Clayton RN., Farrell WE. 1999.** Hypermethylation of the p16/CDKN2A/MTSI gene and loss of protein expression is associated with nonfunctional pituitary adenomas but not somato-trophinomas. *Genes Chromosomes Cancer.* 24, 328-336.
- **Simpson DJ., Hibberts NA., McNicol AM., Clayton RN., Farrell WE. 2000.** Loss of pRb expression in pituitary adenomas is associated with methylation of the RB1 CpG island. *Cancer Res.* 60, 1211–1216.
- **Trouillas J., Roy P., Sturm N., Dantony E., Cortet-Rudelli CH., Viennet G., Bonneville JF., Assaker R., Auger C., Brue T., Cornelius A., Dufour H., Jouanneau E., Patrick F., Galland F., Mougel F., Chapuis F., Villeneuve L., Mauraage C.A., Figarella-Branger D., Raverot G. 2013.** A new prognostic clinicopathological classification of pituitary adenomas: a multicentric case–control study of 410 patients with 8 years post-operative follow-up. *Acta Neuropathol* 126:123–135

## REFERENCE BEBLIOGRAPHIQUE

---

- **Thapar K., Kovacs K., Scheithauer BW., Stefaneanu L., Horvath E., Pernicone PJ., Murray D., Laws ER. 1997.** Proliferative activity and invasiveness among pituitary adenomas and carcinomas: an analysis using the MIB-1 antibody. *Neurosurgery*. 38, 1, 99–106.
- **Wemeau J.L., Vialettes B., Schlienger J.L. 2014.** Endocrinologie, diabète, métabolisme et nutrition. *Elsevier Masson*. 17-33.
- **Weinstein LS., Yu S., Warner DR., Liu J. 2001.** Endocrine manifestations of stimulatory G protein alpha-subunit mutations and the role of genomic imprinting. *Endocrinology*. 22 : 675-705
- **Anonyme. 2004.** [http://images.google.fr/imgres?imgurl=https%3A%2F%2Fs-media-cache-ak0.pinimg.com%2F736x%2Fac%2Fa1%2Fb4%2Faca1b4a2a6271bac69a78f3db51d80f6.jpg&imgrefurl=https%3A%2F%2Fwww.pinterest.com%2Fpin%2F442830575838344522%2F&h=525&w=736&tbnid=eVEoBMJH7\\_V95M%3A&docid=hU-EMJuj0EJLnM&hl=en&ei=gcw5V-YGifJop--PoAg&tbn=isch&iact=rc&uact=3&dur=419&page=9&start=140&ndsp=18&ved=0ahUKEwi-my-2F297MAhUJORoKHaf3A4QZBAzCFkoKzAr&bih=566&biw=1242](http://images.google.fr/imgres?imgurl=https%3A%2F%2Fs-media-cache-ak0.pinimg.com%2F736x%2Fac%2Fa1%2Fb4%2Faca1b4a2a6271bac69a78f3db51d80f6.jpg&imgrefurl=https%3A%2F%2Fwww.pinterest.com%2Fpin%2F442830575838344522%2F&h=525&w=736&tbnid=eVEoBMJH7_V95M%3A&docid=hU-EMJuj0EJLnM&hl=en&ei=gcw5V-YGifJop--PoAg&tbn=isch&iact=rc&uact=3&dur=419&page=9&start=140&ndsp=18&ved=0ahUKEwi-my-2F297MAhUJORoKHaf3A4QZBAzCFkoKzAr&bih=566&biw=1242)



# ***ANNEXES***

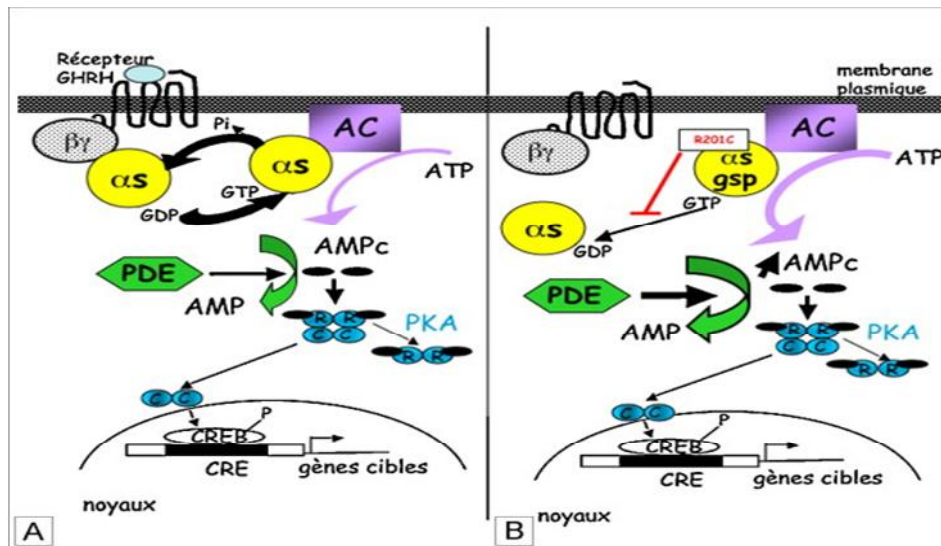


Figure 10: Transduction du signal par les protéines Gs, en présence ou absence de mutation de la sous-unité  $\alpha_s$ .

A : Physiologiquement, le récepteur de la GHRH, stimulé par son ligand, active la sous-unité  $\alpha_s$  des protéines G permettant un échange GDP pour GTP. La sous-unité  $\alpha_s$ , liée au GTP, stimule alors l'adénylate-cyclase (AC). Le retour à l'état basal de la sous-unité  $\alpha_s$  se fait grâce à l'activité GTPasique de la molécule elle-même, qui hydrolyse le GTP, avec libération d'un phosphate.

B : En cas de mutation, la sous-unité  $\alpha_s$  perd son activité GTPasique et reste en permanence sous sa forme active, entraînant une augmentation de l'activité de l'adénylate-cyclase et des taux d'AMPc. Ces taux d'AMPc sont en partie dégradés en AMP par les phosphodiésterases (PDE) dont l'activité est accrue dans les tumeurs mutées.

La PKA (protéine kinase A) est constituée de deux sous-unités régulatrices (R) et de deux sous-unités catalytiques (C). La fixation de l'AMPc sur les deux sous-unités régulatrices libère les deux sous-unités catalytiques qui, après une translocation dans le noyau, induisent une phosphorylation de protéines comme *C response element binding protein* (CREB), capable d'activer des gènes cibles après fixation sur des éléments de réponse *C response element* (CRE) dans la région promotrice de ces gènes.



## ANNEXE II

Tableau IV : Matériel non biologique : appareillage.

Appareil d'inclusion	LEICA EG 1150 H
Circulateur	LEICA TP 1020
Distillateur	Gessellschaft fur labortechnikmbH
Etuve	Memmert
Microscope optique	LEICA DM 750
Microtome rotatif	LEICA RM 2125 RTS
Plaque chauffante	LEICA HI 1220
Plaque froide	LEICA EG 1150 C
Appareil photographique numérique	SAMSUNG 18X

Tableau V : Matériel non biologique utilisé en immunohistochimie.

<b>Matériel et verreries</b>	<b>Réactifs</b>
-Lames silanisées.	-Diluant.
-Lamelles.	-Solution PH (9).
-Micropipette.	-Eau oxygénée Peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) 3%.
-Pannier en verre.	-Solution d'anticorps primaire (Dako):
-Dako pen.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ac anti-p53.</li> <li>- Ac anti-Ki-67.</li> <li>- Ac anti-GH</li> <li>- Ac anti PRL</li> <li>- Ac anti ACTH</li> </ul>
-Etuits.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ac anti <math>\beta</math>-TSH</li> </ul>

## ANNEXE II

	<ul style="list-style-type: none"><li>- Ac anti (LH, FSH)</li></ul>
	<ul style="list-style-type: none"><li>-Solution PBS: chlorure de sodium, phosphate disodique, phosphate monopotassique et un peu de chlorure de potassium.</li><li>-Solution d'anticorps secondaires (DAKO).</li><li>-Solution de blocage de la peroxydase.</li></ul>
	<ul style="list-style-type: none"><li>-Solution DAB chromogène.</li><li>-Ammoniaque.</li><li>-Colorant hématoxyline de MAYER.</li><li>-Eukitt.</li></ul>

Figure 12 : Fixation dans formol dilué à 10%.



Figure 13 : Circulateur automatique (LEICA TP 10 20).



## ANNEXE II

Figure 14 : Appareil d'inclusion



Figure 15 : Microtomie



Figure 16 : Bain Marie



Tableau VI : Les clones des anti-Ac (DAKO) utilisé en immunohistochimie.

Ac	clone
anti-GH	Poly clonale
anti-PRL	Poly clonale
anti-ACTH	02A3
anti-TSH	0042
anti-FSH	C10
anti-LH	C93
anti-P53	DO-7
Anti-KI67	MIB-1

## ANNEXE III

---

Tableau VIII : Résultat de la répartition des Adénomes hypophysaires selon le sexe

SEXE	N.cas	%
Masculin	12	67%
Féminin	6	33%
Total	18	100%

Tableau X : Résultat de la répartition des adénomes hypophysaires selon la taille de la tumeur.

Taille de la tumeur	Nombre de cas	%
Macroadénome	15	83%
Microadénome	3	17%
Total	18	100%

Tableau XI : Résultat de la répartition des AH selon le profil immuno-hormonal.

Classification selon le type hormonal	Nombre de cas	%
Adénome somatotrope (GH)	4	22%
Adénome mixte (GH et PRL)	9	50%
Adénome non sécrétant	3	17%
Adénome corticotrope (ACTH)	2	11%
TOTAL	18	100%