

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE 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

LES FACTEURS PRONOSTIQUES DES GLIOBLASTOMES CHEZ LE JEUNE ADULTE

Présenté par :

KAMEL Hassina

SAADAOUI Lina

Soutenu publiquement le 23 /09/2016 devant le jury composé de :

Mr ben yahia N.	Maitre assistante à l'université de Blida	Président
Mme KESKES S.	Maitre assistante à l'université de Blida	Examinatrice
Pr BE KRALES	Maitre de conférences A à l'EHS Ait Idir - Alger	Promotrice
Pr TERKMANI F.	Maitre de conférences B au CHU Mustapha Bacha-Alger	Co-promotrice

Promotion 2016/2017

Remerciements

Toutes notre gratitude à dieu le tout puissant qui nous à ouvert les portes du savoir et qui nous à donné la force et la volonté pour réalisé et compléter ce modeste travail.

*Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance et notre profond
Respect pour notre promotrice Pr **BE KRALES** pour nous avoir
Offert l'opportunité de réaliser ce travail, pour son encadrement et
Pour ses précieux conseils, ses orientations, son soutien, son aide
pendant la rédaction du mémoire.*

*Nous tenons à exprimer nos remerciements et notre profonde gratitude
à notre co-promotrice **Dr TERKMANI F** qui nous a orienter tout au long de notre stage , sa
disponibilité, ses conseils, ces orientations.*

*Nous exprimons nos remerciements à **Mr BEN YAHIA** pour avoir
accepté de présider le jury.*

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

*Nous tient à remercie toutes les membres de service d'anatomo-pathologie qui nous ont
donné de l'aide dans notre stage*

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

DEDICASE

*je dédie ce mémoire à mes parents KHALIFA et FATIHA BEZZA pour
que se travail leur témoigne mon amour et ma reconnaissantes pour toutes les sacrifices
qu'ils ont fait, pour son encouragements pour complété ce travail*

Je dédie ce travail à l'esprit de ma sœur « zineb »

Pour ma sœur et mes frères

A mes chers AHLEM, MOHAMED ISLAM, BASMA, ADEM, ANNES

Je vous aime très fors

*Pour vous « Salim » je vous remerciai pour votre soutien votre présence Que dieu te
protège pour moi*

*A ma binôme ben SAADAOU LINA j'étais très contente de vous partagé ce travail, nous
avons passé des moments inoubliables ensemble je vous souhaite plus de bonheur de
réussite*

A tous mes enseignants tout au long de mes études

A toutes mes amies proches et mes camarades de promotion

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

KAMEL HASSINA

Dédicace

Je dédie ce mémoire à :

Mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et

leurs prières tout au long de mes études,

Mes sœurs MIMA et AMELL et MAROUA pour leurs encouragements permanents, et leur

soutien moral,

Mes frères OUSSAMA et NOUREDDINE

Pour leur appui et leur encouragement,

Mes ami(e)s HASSINA, HAYET, AICHA, MERIEM, HADJER, MANEL, KHADIDJA et GHOUALI. N

SAADAOUI LINA

SOMMAIRE

Introduction	1
---------------------------	----------

Chapitre I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I-Généralités sur le tissu nerveux	3
-------------------------------------------------	----------

I.1.-Structure du système nerveux	3
-----------------------------------------	---

a) Système nerveux central (névraxe) :	3
----------------------------------------------	---

b) Système nerveux périphérique :	3
-----------------------------------------	---

I.2- Présentation des cellules gliales	5
----------------------------------------------	---

II- Les glioblastomes :	5
--------------------------------------	----------

II.1-Définition des glioblastomes.....	5
----------------------------------------	---

II.1.2-Glioblastome primaire vs glioblastome secondaire.....	6
--------------------------------------------------------------	---

II.2- Epidémiologie des glioblastomes :	6
-----------------------------------------------	---

II.3- Les facteurs du risque	7
------------------------------------	---

a) Les facteurs intrinsèques.....	7
-----------------------------------	---

b) Facteurs de risque extrinsèques.....	7
-----------------------------------------	---

III-Diagnostic :	7
------------------------	---

IV-Classification des glioblastomes.....	8
-------------------------------------------------	----------

IV.1-Les glioblastomes, IDH-wildtype et leurs variantes:.....	9
---------------------------------------------------------------	---

V- La gliomagenèse des glioblastomes.....	12
--------------------------------------------------	-----------

V.1-Mutation du gène P53	13
--------------------------------	----

V.2-Mutation des gènes IDH1	14
-----------------------------------	----

V.3-Les principales voies de signalisations observées dans les glioblastomes :	Erreur ! Signet non défini.
-------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------

V. 3.1 - Voie EGFR/RAS/NF1/PTEN/PI3K	16
--------------------------------------------	----

V.3.2-Voie TP53/MDM2/MDM4/p14.....	17
------------------------------------	----

V.3.3-Voie p16INK4A /CDK4/RB1	17
-------------------------------------	----

VI- Les facteurs pronostiques	Erreur ! Signet non défini.
--------------------------------------------	------------------------------------

VI.1-Les facteurs cliniques.....	19
----------------------------------	----

VI.1.1-L'âge:.....	19
--------------------	----

VI.1.2-Etat clinique et cognitif	19
----------------------------------------	----

VI. 2--Les facteurs histologiques :	19
-------------------------------------------	----

VI.3- Les facteurs biologiques	19
--------------------------------------	----

VI.2.1- -La protéine P53.....	20
VI.3.2-IDH1	20
VII- Le traitement des glioblastomes :	Erreur ! Signet non défini.
II.1-Méthodologie :	Erreur ! Signet non défini.
II.2 étude morphologique.....	Erreur ! Signet non défini.
II.2- Étude immunohistochimie :	Erreur ! Signet non défini.
Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION	
III.1-analyse des données épidémiologiques	29
III.1.1-répartitions selon l'âge :.....	29
III.1.2-Répartition selon le sexe :	29
III.1.3-les signes cliniques	30
III.1.4-localisations cérébrales :	Erreur ! Signet non défini.
III-2. Étude histologique	Erreur ! Signet non défini.
III.3-étude immunohistochimique :	Erreur ! Signet non défini.
III.3.1- l'IDH1.....	Erreur ! Signet non défini.
III.3.2- la P53.....	Erreur ! Signet non défini.
Discussion.....
Conclusion et perspective	43

Référence bibliographique

Annexes

LA LISTE DES FIGURES

<u>Figure 1: système nerveux centrale et le système nerveux périphérique</u>	2
<u>Figure 2: organisation des cellules nerveuses et gliales</u>	2
<u>Figure 3 : classification des gliomes selon l'OMS 2016</u>	Erreur ! Signet non défini.
<u>Figure 4: aspect microscopique d'un gliosarcome</u>	Erreur ! Signet non défini.
<u>Figure 5 : aspect microscopique d'un glioblastome à cellules géante</u>	Erreur ! Signet non défini.
<u>Figure 6 : immunomarquage spécifique du la mutation BRAF V600E montre réactivité dans composante épithélioïdes. Grossissement : X 400.</u>	Erreur ! Signet non défini.
<u>Figure 7: représentation schématique des différentes anomalies génétiques des glioblastomes.</u>	Erreur ! Signet non défini.
<u>Figure 8 : mutation IDH1 et IDH2 provoquent un gain de fonction d'une oncométabolites</u>	Erreur ! Signet non défini.
Signet non défini.	
<u>Figure 9 : résumé des mutations les plus fréquente du gène de l'IDH1</u>	Erreur ! Signet non défini.
<u>Figure 10 : Mécanismes potentiels impliqués dans la formation de tumeur induite par la mutation IDH1</u>	Erreur ! Signet non défini.
<u>Figure 11: Représentation schématique des principales voies de signalisation impliquées dans la pathogenèse des Glioblastome</u>	Erreur ! Signet non défini.
<u>Figure 12 : répartitions des patients selon l'âge</u>	Erreur ! Signet non défini.
<u>Figure 13 : répartition des cas de glioblastome selon le sexe</u>	30
<u>Figure 14 : les principaux signes cliniques des GBM</u>	31
<u>Figure 16: HE coupes histologiques d'un glioblastome avec une prolifération de cellules gémistocytiques ; Gr : x100(a), x400(b)</u>	Erreur ! Signet non défini.
<u>Figure 17 : HE coupe histologique d'un glioblastome</u>	Erreur ! Signet non défini.
<u>Figure 18: HE coupe histologique d'un glioblastome avec Nécrose central entouré par des cellules tumorales réalisant un aspect d'une nécrose palissadique, Grx100</u>	Erreur ! Signet non défini.
<u>Figure 19: HE coupe histologique d'un glioblastome Prolifération endothélio-capillaire</u>	Erreur ! Signet non défini.
Signet non défini.	
<u>Figure 20 : expression de l'IDH1</u>	Erreur ! Signet non défini.
<u>Figure 21: Négativité des cellules tumorales à IDH1 .Gr: x100 (a), x400(b)</u>	Erreur ! Signet non défini.
<u>Figure 22 : positivité cytoplasmique diffuse à l'IDH1 ; Grx1000</u>	Erreur ! Signet non défini.
<u>Figure 23 : expression de la p53</u>	Erreur ! Signet non défini.
<u>Figure 24: Positivité nucléaire faible à la p53</u>	Erreur ! Signet non défini.
<u>Figure 25: Positivité nucléaire intense et diffuse de la p53 estimé à 80%. Gx400</u>	Erreur ! Signet non défini.
défini.	
<u>Figure 26: p53 positive avec 15% ; Grx100(a), x400(b)</u>	Erreur ! Signet non défini.

Liste Des Abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

CDK : Cycline Dépendante des Kinases

CDKN2A : gène qui code pour CDK

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

E2F : E2 Transcription Factor

EGF: Epidermal Growth factor

2-HG : 2-hydroxyglutarate

a-KG : Alpha cétooglutarate

AKT1 : Protéine Kinase B

HIC : hypertension intracrânienne

HIF-1 : Facteur induit par l'hypoxie

IDH : Isocitrate déshydrogénase

IHC : Immunohistochimie

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

KPS : Karnofsky Performance Score (score fonctionnel de Karnofsky)

KDa : Kilo Dalton

LAM : Leucémie aigue myéloïde

LOH : Loss of heterozygosity (perte d'hétérozygotie)

MDM2 : Marine Double Minute 2

mTOR : Cible de la rapamycine

NADH : Nicotinamide adenine dinucléotide réduit

NADP : Nicotinamide adenine dinucléotide phosphate

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit

NF1 : protéine neuro-filamentaire

OMS : Organisation mondiale de la sante

PIP2: Phosphatidyl-inositol-biphosphate

PI3K: Phosphoinoside 3-kinase

PTEN : phosphatase and tensin homolog

P53 : code pour une protéine 53 KD

FGF : facteur de croissance fibroblastique

RB1 : Rétinoblastome 1

TGF: transforming growth factor

MMP: metalloproteinase matricielle

MGMT : 06- méthylguanine ADN méthytransférèse

GFAP : protéine acide fibrillaire gliale

EGF : epidermal growth factor

EGFR : epidermal growth factor receptor

VEGF : vascular endothelial growth factor

HIC: hypertension intracrânienne

SNC : système nerveux centrale

SNP : système nerveux périphérique

Résumé

Les glioblastomes sont des tumeurs gliales infiltrantes hautement malignes, de grade IV selon la classification de l'OMS de 2016[27]. Ils sont primitifs, ou proviennent de la transformation maligne d'un astrocytome de bas grade préexistant [40].

Les glioblastomes demeurent le problème majeur de la neuro-oncologie, par leur fréquence (1/3 de l'activité opératoire), leur gravité et les difficultés de traitement qu'ils posent.

L'objectif de notre étude est de mettre en évidence le rôle de la p53 et de l'IDH1 dans l'évaluation du pronostic, de la médiane de la survie et dans le suivi des patients porteurs de glioblastome.

Nous avons colligé 26 cas de GBM au laboratoire d'anatomo-pathologie du Centre hospitalo-universitaire Mustapha Bacha (Alger), traités par des techniques histologiques(HE), seulement 10 cas récence en 2017 ont été traité par les techniques d'immunohistochimie.

Notre étude montre que la médiane d'âge est de 53ans avec une nette prédominance masculine (58%).

L'HE nous a montré l'aspect caractéristique du GBM (atypies cellulaires, nécroses, prolifération endothélio-capillaire, mitose anormal) et par l'IHC on a pu resensé l'expression de la p53 muté (70%) avec un marquage intense, et une positivité pour l'IDH1 muté dans (70%).

Selon nous résultats on a pu mettre en évidence la relation entre la mutation de l'IDH1 dans la survie et le pronostic des glioblastomes. (La moyenne de survie=19 mois).

Mots clé : glioblastome ; p53, IDH1 ; survie ; pronostic

Abstract

Glioblastomas are highly malignant infiltrative glial tumors, grade IV according to the WHO 2016 classification [27]. They are primitive, or come from the malignant transformation of a pre-existing low-grade astrocytome [40].

Glioblastoma remain the major problem of neuro-encology , by their frequency (1/3 of the operative activity , their seriousness and the treatment difficulties they pose

The aim of our study is to demonstrate the role of p53 and HDI in the assessment of prognosis, median survival and follow-up of patients with glioblastoma.

We have collected 26 cases of GBM in the anatomy-pathology laboratory of the Mustapha Bacha University Hospital (Algiers), treated with histological techniques (HE), only 10 cases in 2017 were treated by immunohistochemical techniques.

Our study shows that the median age is 53 years with a clear male predominance (58%).

EB showed us the characteristic appearance of GBM (cell atypia, necrosis, endothelial-capillary proliferation, abnormal mitosis) and by IHC the expression of the mutated p53 (70%) was resensitized with intense marking , and positivity for the mutated IDH1 in (70%)

We found that the relation between the IDH1 mutation and the survival and prognosis of glioblastomas (mean survival=19 months)

Keywords: glioblastoma; p53, IDH1; survival; prognosis

ملخص

الورم الأرومي الدبقي هو من الأورام الدبقية الخبيثة شديدة الاختلال، الصف الرابع IV وفقا لتصنيف منظمة العالمية الصحة 2016 . فهي بدائية، أو تأتي من التحول الخبيث من اورام نجمية منخفضة الدرجة موجودة مسبقا.

ورم أرومي دبقي يبقى المشكلة الرئيسية لعلم الأورام العصبية، من خلال تواترها (3/1 من النشاط العمليات الجراحية)، شدتها وصعوبات العلاج التي تشكلها.

الهدف من دراستنا هو تسليط الضوء على دور p53 و IDH1 في تشخيص ومتابعة المريض و التكهن عن مدى تطور الورم.

اجريت هذه الدراسة على 26 حالة جمعت من مختبر التشريح الباطني في المستشفى الجامعي مصطفى باشا .

عولجت في التقنيات النسيجية ، و تم علاج 10 حالات فقط بالتقنيات الكيمياء المناعية.

وتبين دراستنا أن متوسط العمر هو 53 عاما مع هيمنة الذكور (58%).

سمحت التقنية النسيجية بروية الخصائص النسيجية للورم (اختلالات الخلوية ، نخر، وانتشار البطانية الشعرية،) و سمحت ايضا التقنية الكيمائية النسيجية المناعية بمعرفة مدى وجود p53 الطافرة التي لوحظت بنسبة 70% مع تعبير موجب بشدة و70% إيجابية ل IDH1.

وفقا لنتائجنا، لقد تمكنا من معرفة العلاقة الموجودة بين تأثير ال IDH1 والتكهن عن تطور الورم الارومي (متوسط الحياة =19شهر) .

الكلمات المفتاحية : الورم الدبقي البقاء , التكهن, IDH1 , p53

Introduction

Les tumeurs cérébrales, définies sur les critères de l'OMS, ne comptent que pour 2% des cancers. Si ce ne sont pas les plus fréquentes, certains types n'en sont pas moins agressifs et mortels. C'est plus particulièrement le cas du glioblastome qui représente environ 50 % des tumeurs cérébrales, est la plus maligne du système nerveux central. La médiane de survie des patients atteints d'un glioblastome est inférieure à un an [10].

Dans 90% des cas les glioblastomes sont de novo (primaire). Les glioblastomes secondaires représentent 10% des glioblastomes et se développent à partir d'un astrocytome de bas grade [40].

Différentes mutations sont récurrentes dans les glioblastomes dont la mutation IDH qui est présente beaucoup plus dans les glioblastomes secondaires, et est significativement associées à une augmentation de la survie globale [19]

Les glioblastomes demeurent le problème majeur de la neuro-oncologie, par leur fréquence (1/3 de l'activité opératoire), leur gravité et les difficultés de traitement qu'ils posent.

Le diagnostic anatomopathologique est un élément clé dans la prise en charge des glioblastomes de l'adulte. Il repose sur l'analyse d'un fragment représentatif. Dans ce contexte, la confrontation entre les aspects histopathologique et l'imagerie est primordial dans la prise en charge thérapeutique.

Dans notre travail on va essayer de faire ressortir les principaux facteurs impliqués dans le pronostic et le suivi des patients porteurs de GBM.

Comme marqueurs moléculaires on a utilisé l'IDH1 et la P53 car ils représentent un intérêt diagnostique, pronostique voir même prédictif de la réponse thérapeutique.

L'intérêt de cette étude consiste à : mettre en évidence le rôle de l'IDH1 dans l'évaluation du pronostic, de la moyenne de la survie et dans le suivi des patients porteurs de glioblastome et évaluer l'impacte du P53 sur le pronostic.

Chapitre I

Etude bibliographiques

I-Généralités sur le tissu nerveux

Le tissu nerveux représente l'élément de base du système nerveux central et du système nerveux périphérique.

I.1.1-Structure du système nerveux :

Sur le plan anatomique, le SN est formé de deux ensembles distincts, le système nerveux central et le système nerveux périphériques. [55]

a. Système nerveux central (névraxe) :

Il est formé de milliards de neurones (cellules nerveuses) relié entre eux et d'un tissu de soutien interstitiel (névroglie).il comporte l'encéphale (cerveau ; cervelet ; tronc cérébral), logé dans une boîte crânienne rigide, et la moelle épinière, logée dans la colonne vertébrale. [55]

b. Système nerveux périphérique :

Il représente un prolongement du SNC, le SNP comprend l'ensemble des nerfs et de leurs renflements (ganglions nerveux).

Les nerfs, rattachés par une extrémité au SNC, se ramifient à l'autre extrémité en une multitude de fines branches innervant l'ensemble du corps .Il existe des nerfs crâniens et des nerfs rachidiens [55]

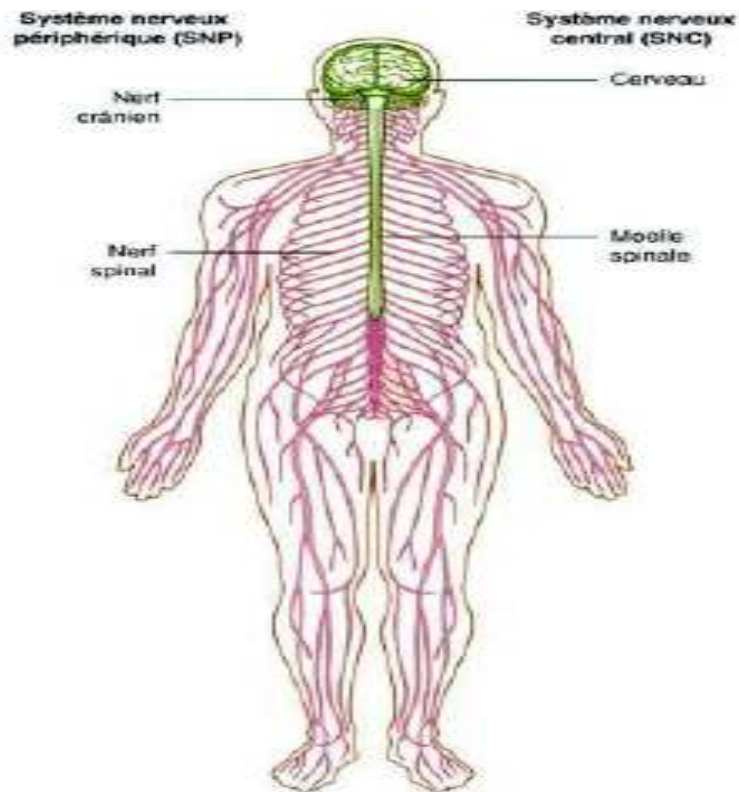


Figure.1 : système nerveux central (SNC) et système nerveux périphérique (SNP)

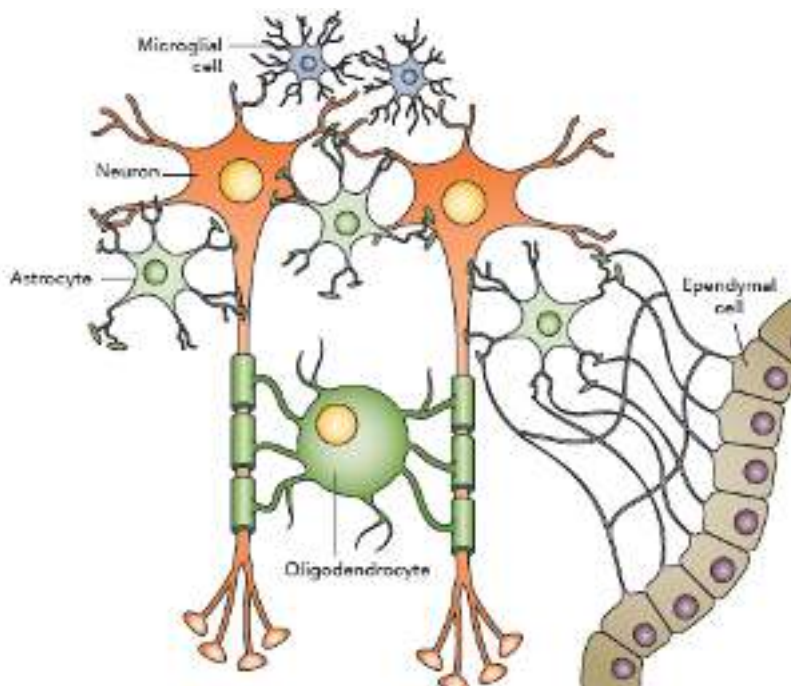


Figure.2 : les cellules du système nerveux

I.2- Présentation des cellules gliales

Deux grands types cellulaires cohabitent au sein du système nerveux central : les neurones, qui représentent 10% du ce capital, et 90% des cellules gliales.

Les neurones transmettent des informations sous forme de signaux électriques ou chimiques vers les cellules cibles : d'autres neurones, des cellules endocrines, neuroendocrines ou musculaires.

Les cellules gliales jouent un rôle de nutrition, de protection et de soutien auprès des neurones et sont classées en quatre types histologiques : les cellules épendymaires, les astrocytes, les oligodendrocytes et les cellules microgliales.

- ✚ **Les oligodendrocytes** forment la gaine de myéline protectrice et nutritive pour les neurones du SNC.
- ✚ **Les cellules épendymaires** forment la paroi des ventricules cérébraux et sécrètent le LCR (liquide céphalo rachidien).
- ✚ **Les cellules microgliales** sont considérées comme des cellules phagocytaires, et sont sollicitées dans les zones de mort neuronale, elles représentent aussi le lieu de macrophages en cas d'inflammation.
- ✚ **Les astrocytes** sont des cellules de forme étoilée. Ils ont un rôle nutritif et permettent le maintien de l'homéostasie du milieu extracellulaire (contrôle de l'environnement chimique nécessaire à la propagation du potentiel d'action).

Ils ont une fonction très importante au niveau des synapses qu'ils isolent de la matrice extracellulaire et dont ils régulent la libération des neurotransmetteurs (capture et dégradation). De plus, ils participent à l'établissement de la barrière hémato-encéphalique et servent ainsi de relais entre la circulation sanguine et les neurones. (fig2)

II- Les glioblastomes :

II.1-Définition des glioblastomes

Le glioblastome est la tumeur la plus agressive du système nerveux central. Elle correspond au grade IV de la classification OMS. L'incidence de ce type de tumeurs est de 5 cas pour 100 000 habitants par an en France [2], ce qui correspond à 38 % des tumeurs du système nerveux, soit 65 % des gliomes. Le pronostic est en général très mauvais avec un taux de

survie de 14-15 mois après le diagnostic [16]. Ces tumeurs sont très complexes de par leur hétérogénéité, composés d'éléments astrocytaires peu différenciés, souvent pléomorphes, présentant d'importantes atypies cytonucléaires, ainsi qu'une activité mitotique marquée. Une prolifération endothéliocapillaire floride et/ou des foyers de nécrose (typiquement pseudo-palissadique) sont les éléments essentiels au diagnostic de ces tumeurs. [10,11, 26,51]

II.1.2-Glioblastome primaire vs glioblastome secondaire

Deux voies d'apparition du glioblastome ont été identifiées. Les glioblastomes primaires ou de novo sont à distinguer des glioblastomes secondaires. Les premiers se développent rapidement et sont très malins. Les seconds dérivent de gliomes de plus bas grade, leur processus de développement est donc plus lent.

Les glioblastomes primaires sont les plus courants, soit plus de 90 % des glioblastomes [8,46]. Ils sont plus fréquents chez les personnes âgées et voient donc leur incidence augmenter fortement après 60 ans [2].

Les glioblastomes secondaires ont des caractéristiques semblables aux glioblastomes primaires. Il est néanmoins possible de les différencier par leur signature histologique. Ils dérivent de tumeurs de plus bas grade, comme les astrocytomes. Des mutations successives affectant les cellules tumorales augmentent ainsi progressivement leur malignité. Ils comptent donc pour moins de 10 % des gliomes et sont plus fréquents chez des sujets plus jeunes, avec un âge moyen de 45 ans [10,16].

II.2- Epidémiologie des glioblastomes :

Les tumeurs gliales malignes, définies sur les critères de l'OMS, représentent 2% de l'ensemble des cancers. Leur morbidité et leur mortalité font qu'elles posent un réel problème de santé publique. Les études épidémiologiques sont nombreuses mais difficiles à analyser : absence ou quasi absence de registres nationaux ou régionaux.

En fait, la plupart des travaux traitant d'épidémiologie se basent sur le **Central Brain Tumor Registry of the United States (CBTRUS)**, le **Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER)** ou les statistiques de la Mayo Clinic.

Les tumeurs cérébrales primitives ont une incidence de 8-10/100 000/an. [8]

Dans notre pays, on ne peut pas déterminer l'incidence des glioblastomes vu l'absence de registre national.

II.3- Les facteurs du risque

a. Les facteurs intrinsèques

Les seuls facteurs de risque intrinsèque reconnus sont certains syndromes de prédisposition génétique. Il est estimé que 1%des GBM seraient liés à des maladies génétiques. Quatre de ces maladies sont connues pour être associées aux GBM : syndrome de Li Fraumeni (mutation sur le gène de la p53), syndrome de Turcot, neurofibromatose NF1, syndrome de Gardner. [1,8,16]

Par ailleurs, certains familles sont concernées par plusieurs cas de gliomes sans au qu'aucun des syndromes génétiques précédemment cités n'existent.ces formes familiales représenteraient 5% des gliomes.[29]

b. Facteurs de risque extrinsèques

Le seul facteur environnemental prouvé est l'exposition à de hautes doses de radiations ionisantes. De nombreuses études ont ainsi montré une augmentation du risque de gliomes (tout type histologique confondu) chez les enfants qui avaient reçu une irradiation cérébrale prophylactique dans la cadre d'une leucémie aigue lymphoblastique.[37]

III-Diagnostic :

Le diagnostic d'un glioblastome se déroule en plusieurs étapes :

❖ Examen neurologique et clinique complet

L'examen neurologique permet d'évaluer le fonctionnement du système nerveux grâce à différents tests (examen musculaire et des reflexes, test de mémoire et de compréhension, test visuel et auditif

❖ **Examen d'imagerie** : elle permet d'obtenir une image précise du cerveau. La tumeur peut alors être finement localisée et mesurée. Pour cela, on réalise un scanner et une IRM cérébral.

❖ **Examen anatomopathologique** : Cet examen de laboratoire est réalisé directement sur un échantillon de tumeur prélevé suite à une biopsie ou à une exérèse complète de la tumeur.

Cet examen est l'examen de certitude pour affirmer le diagnostic.

IV-Classification des glioblastomes

La première classification date de 1979 et s'inspire des travaux de Bailey et Cushing (Bailey and Cushing, 1926) et de ceux de Kernohan (Kernohan and Mabon, 1949). Elle a été modifiée en 1993 par Kleihues et al, en 2000 par Kleihues and Cavenee, puis en 2007 par Louis et al qui ont inclus de nouvelles entités histologiques, des données de la biologie moléculaire et de la cytogénétique, et la dernière en 2016 qui intègre les nouvelles données de biologie moléculaire.

-D'après la classification de l'OMS 2016 [27] les glioblastomes sont divisés en :

- ❖ **glioblastome, IDH-wild type** (environ 90 % des cas), qui correspond plus souvent à la définition clinique primaire ou de novo glioblastome et prédomine chez les patients de plus de 55 ans.
- ❖ **glioblastome, IDH-mutant** (environ 10 % des cas), ce qui correspond étroitement à glioblastome secondaire ayant des antécédents de préalable gliome diffus de bas grade et préférentiellement surgit chez les jeunes patients.
- ❖ **glioblastome, NOS**, un diagnostic qui est réservé pour ces tumeurs pour les quelles une évaluation IDH complète ne peut être effectuée. (le teste génétique n est pas fait ou incertain)

Tumeurs astrocytaires diffuses

Astrocytome diffusé, **IDH mutant**
Astrocytome gemistocytaire, **IDH mutant**
Astrocytome fibrillaire
Astrocytome protoplasmique

Astrocytome diffusé, IDH wild-type
Astrocytome diffusé, NOS

Astrocytome anaplastique,, IDH mutant
Astrocytome anaplastique, IDH wild-type
Astrocytome anaplastique, NOS

Glioblastome, IDH wild-type
Glioblastome à cellules géantes
Gliosarcoma
Glioblastome épithélioïde
Glioblastome , IDH mutant
Glioblastome, NOS
Glioblastoma cerebri

Figure3 : classification des gliomes selon l'OMS 2016. [27]

Les noms des entités en bleu ont été enlevés de la classification WHO 2016. Les entités listées en rouge sont nouvelles dans la classification OMS 2016, la plupart étant définies en fonction d'une combinaison de caractéristiques histologiques et de modifications moléculaires

L'abréviation NOS (non spécifié autrement) est ajouté au nom de certaines entités déjà existantes et indique que la classification moléculaire supplémentaire est manquant .Dans le cas de «gliomatosis cerebri», on considère maintenant que ce n'est qu'un modèle clinique / radiographique d'infiltration étendue, plutôt qu'une entité distincte; Ce modèle peut être rencontré dans l'un des diagnostics de gliomes diffus intégrés nouvellement définis.

IV.1-Les glioblastomes, IDH-wildtype et leurs variants:

- **Gliosarcome :**

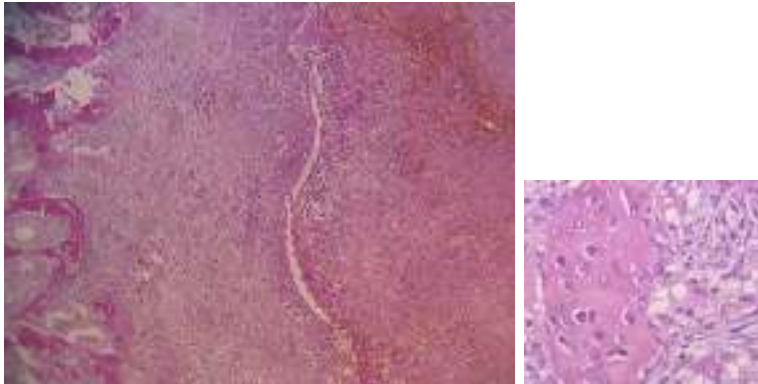


Figure.4 : Aspect microscopique d'un Gliosarcome

Le Gliosarcome est une variante du glioblastome, caractérisée par une prolifération biphasique du système nerveux central associant un contingent glial de type glioblastome et un contingent sarcomateux. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), cette tumeur représente 2 % des glioblastomes, et est classée de grade IV. Ce sont des tumeurs rares, représentant 0,8 à 8% de l'ensemble des glioblastomes. L'âge moyen de survenue de cette tumeur varie de 40 à 60 ans, avec une légère prédominance masculine (sex-ratio est de 1,8). [21.51]

- **Glioblastome à cellules géantes :**

Le glioblastome à cellules géantes (GCG) est une variante du glioblastome multiforme (GBM) caractérisé par la présence et prédominance de cellules géantes multinucléées à cytoplasme éosinophile en son sein.

Le GCG est une tumeur rare affectant le sujet jeune et d'évolution plus lente que le GBM.[25,28]

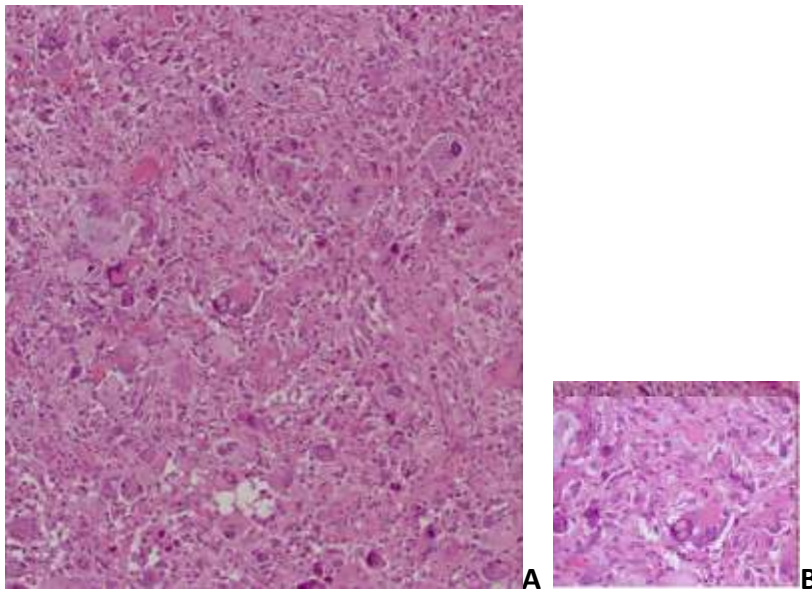


Figure.5 : Aspect microscopique d'un glioblastome à cellule géante. (A) Hématéine-éosine (HE) $\times 10$: prolifération cellulaire à cytoplasme éosinophile avec cellules monstrueuses et multinuclées. (B) HE $\times 40$: cellules géantes multinuclées.

- **Glioblastomes épithélioïdes:**

Glioblastomes épithélioïdes sont une des plus rares variantes histologiques des glioblastomes. Ils disposent de grandes cellules épithélioïdes avec cytoplasme éosinophile abondant, chromatine vésiculaire et des nucléoles proéminents (souvent ressemblant à des cellules du mélanome) et variablement présentent des cellules rhomboïdes. Ils ont une prédilection pour les enfants et les jeunes adultes, habituellement présents comme des masses cérébrales ou diencephale superficiels et le port souvent une mutation de BRAF V600E (qui peut être détecté immunohistochimique) [23.]

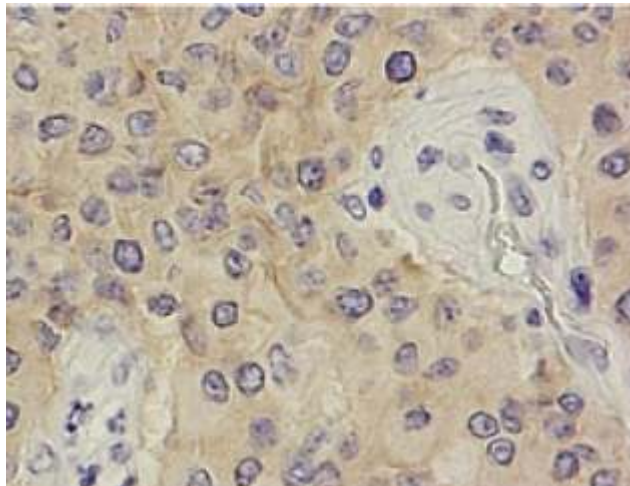


Figure.6 : immunomarquage spécifique du mutation BRAF V600E montre réactivité dans la composante épithélioïdes glioblastome. Grossissement original : × 400.

V- La gliomagenèse des glioblastomes

La gliomagenèse et la transformation maligne des gliomes résultent d'une accumulation séquentielle d'altérations génétiques. Les changements génétiques retrouvés dans les gliomes peuvent être des amplifications et/ou surexpressions d'oncogènes, des pertes d'expression de gènes suppresseurs de tumeurs et de gènes impliqués dans la réparation de l'ADN (via des mutations, des pertes d'hétérozygotie ou des mécanismes épigénétiques comme l'hyperméthylation de promoteur). Ces changements génétiques se traduisent progressivement par une prolifération incontrôlée, une perte de contrôle de la régulation du cycle cellulaire, une diminution de l'apoptose en réponse aux dommages à l'ADN, une augmentation de l'instabilité génétique et une dérégulation des voies de signalisation aux facteurs de croissance [15].

Un des premiers succès de la biologie moléculaire dans le domaine des tumeurs gliales a été l'identification des caractères génétiques propres à deux types tumoraux que sont les glioblastomes primaires, ou « de novo » (GBM I) et les glioblastomes secondaires (GBM II). Les altérations génétiques qui accompagnent l'apparition de ces deux types de tumeurs sont différentes. Fig7 [39]

Quelques unes de ces altérations génétiques sont présentées dans cette partie. Le descriptif se limite à celles qui font partie en notre travail.

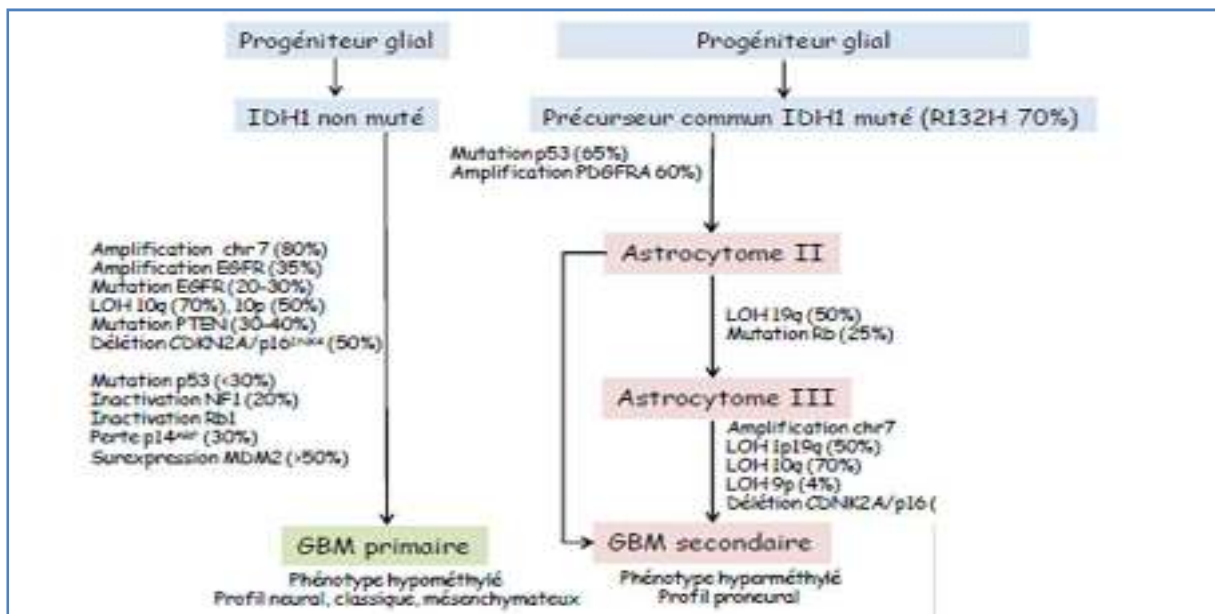


Figure 7: Représentation schématique des différentes altérations génétiques des glioblastomes.

IDH, Isocitrate déshydrogénase ; LOH, Perte d'hétérozygotie ; EGFR, Epidermal growth factor receptor ; PTEN, Phosphatase and TENsin homolog ; Rb, Rétinoblastome ; NF1, Neurofibromatose de type 1; CDKN2A Cyclin dependent kinase 2 ; MDM, Murine double minute ; PDGFRA, Platelet-derived growth factor receptor alpha.

V.1-Mutation du gène P53

D'une façon générale, lorsque l'ADN d'un chromosome est muté, la cellule enclenche une réponse qui a pour but de réparer cette lésion.

La protéine P53 est impliquée dans ce mécanisme d'auto-réparation. Le gène TP53 code pour cette protéine. En cas de mutation dudit gène TP53, la protéine P53 n'est plus correctement synthétisée et la fonction correctrice est affectée. Aussi, en cas de nouvelle lésion de l'ADN, la cellule ne sera pas capable de réparer cette erreur. De nouveaux clones malins peuvent ainsi apparaître et se multiplier.

La mutation du gène TP53 a lieu dans un grand nombre de cellules cancéreuses.

Elle est retrouvée dans 24 à 40 % des glioblastomes [12], principalement dans les glioblastomes secondaires (soient 50 à 65 % [12]).

L'activité de la protéine P53 peut également être altérée par d'autres voies. Son inactivation semble associée à une grande radiorésistance des cellules du glioblastomes.

V.2-Mutation des gènes IDH1

Les isocitrate déshydrogénases sont des enzymes impliquées dans le cycle de Krebs. Un groupe de trois iso-enzymes ayant les mêmes activités cellulaires mais des localisations et des origines génétiques distinctes. Elles sont appelées IDH1, IDH2 et IDH3, L'isoforme IDH1 est cytosolique alors que les formes IDH2 et 3 sont mitochondriales. [40.53]

L'IDH1 et l'IDH2 catalysent la conversion de l'isocitrate en alpha cétooglutarate (α -KG) ; cette réaction est réversible et couplée au nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit (NADPH) . (fig 8) [25.40]

Le NADPH et l' α CG sont des éléments clés dans les processus de détoxification cellulaire et de protection contre les dommages du stress oxydatif.

L' α -KG possède aussi une fonction d'antioxydant via l'activation de prolyl hydroxylases qui elles-mêmes inactivent la sous-unité HIF-1 alpha.

Une déplétion en α -KG peut entraîner donc une augmentation du taux **d'HIF-1 alpha** et de ses gènes cibles [30].

En cas d'hypoxie, le facteur 1α HIF (hypoxia-inducible factor 1α), qui bloque la production de pyruvate (issu de la glycolyse), est augmenté.

Ceci interrompt la synthèse d'énergie par glycolyse, qui est remplacée par la glutaminolyse. La glutamine est transformée en glutamate puis en α CG.

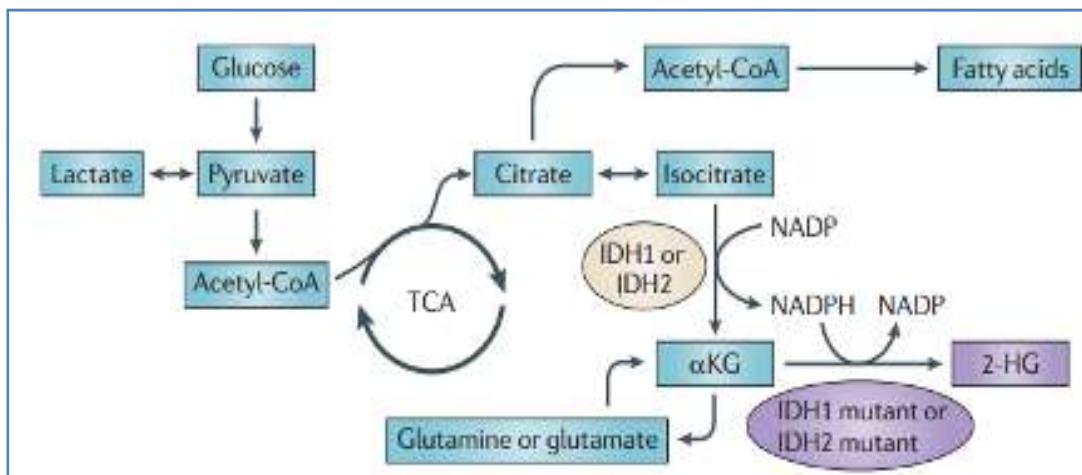


Figure.8 : mutations IDH1 et IDH2 provoquent un gain de la fonction d'une oncométabolites.

[4]

L'implication des mutations IDH1 R132 dans le cancer a été découverte dans les glioblastomes (Echelle de l'OMS) en 2008 [35-47]

Les mutations IDH1 sont généralement portées par le résidu arginine 132 (R132), qui peut être substitué en histidine (H), sérine (S), glycine (G) ou leucine (L), la mutation la plus fréquente étant la substitution R132H (fig 9) [20]

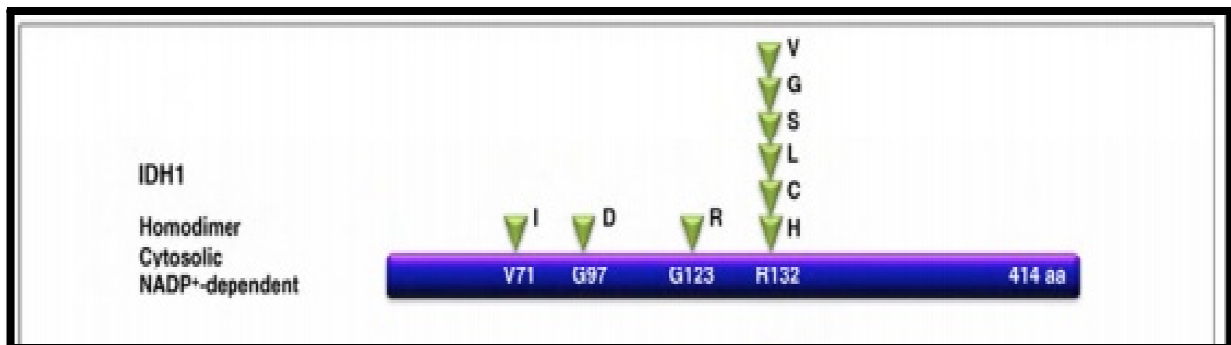


Figure.9 : Résumé des mutations les plus fréquentes du gène de l'IDH1. [20]

🚦 Conséquence de la mutation de l'IDH1

Les mutations IDH1 modifient l'activité enzymatique normale en réduisant la synthèse de l' α -KG et du NADPH, ce qui rend la cellule plus sensible au stress oxydatif.

L'IDH muté a également un gain de fonction qui conduit à l' α -cétoglutarate D-2-hydroxyglutarate réduit (2-HG). Cette nouvelle activité enzymatique conduit à la consommation d' α -KG et de NADPH, ce qui nuit davantage à la protection contre le stress oxydatif.

Le 2HG produit en excès est considéré comme un oncométabolite car il induit des changements épigénétiques qui conduisent à une régulation aberrante de l'expression des gènes. Il entre en compétition avec l' α -KG, du fait de leur ressemblance moléculaire, modifiant l'activité des dioxygénases dépendantes d' α -KG.

Ce composé induit également des niveaux accrus de HIF-1 α (facteur 1-1 inducible à l'hypoxie), un facteur de transcription qui favorise l'angiogenèse en augmentant l'expression

du facteur de croissance endothélial vasculaire. Le 2-HG atteint des niveaux élevés dans les cellules tumorales et mataient la progression de la tumeur [6.13]

-Un certain nombre de mécanismes potentiels ont été proposés pour expliquer comment Le R-2-HG produit par l'enzyme mutante IDH1 favorise la formation de la tumeur. (Fig 10) [25]

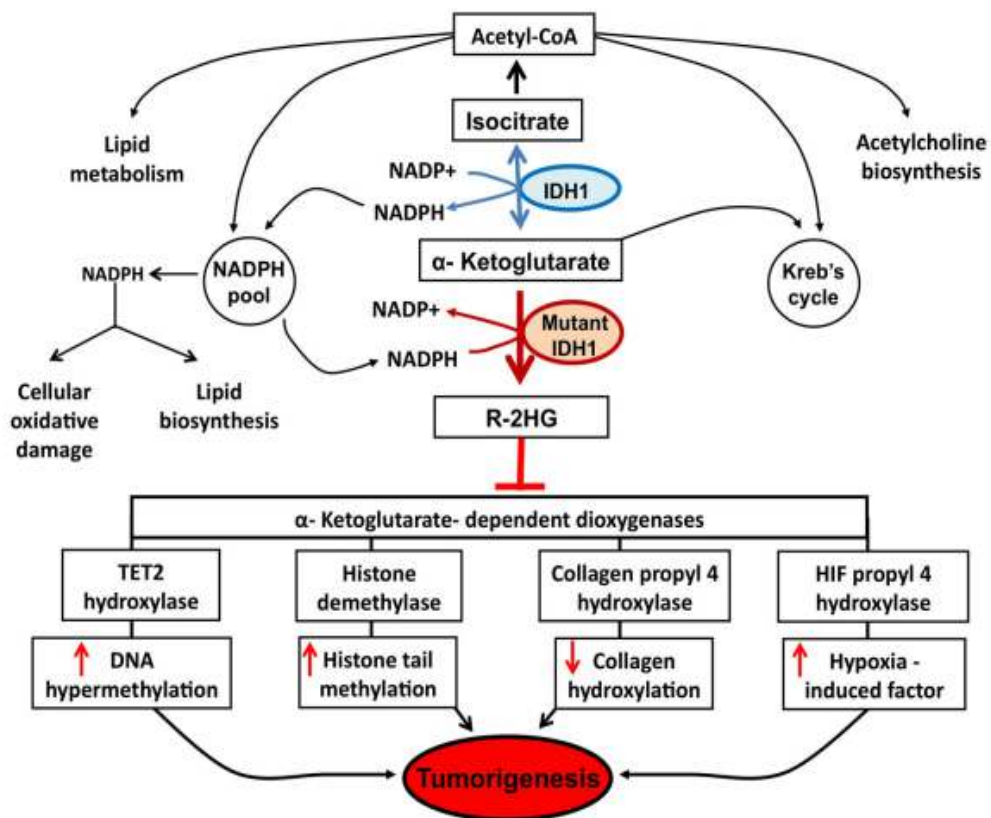


FIGURE.10 : Mécanismes potentiels impliqués dans la formation de tumeur induite par la mutation IDH1

V.3-Les principales voies de signalisations observées dans les glioblastomes :

V. 3.1 - Voie EGFR/RAS/NF1/PTEN/PI3K

Les récepteurs des facteurs de croissance à activité tyrosine kinase (EGFR, PDGFR) sont activés suite à la fixation de leurs ligands (EGF, TGF-, PDGF) permettant le recrutement de la PI3K à la membrane cellulaire ou encore l'activation de RAS. PI3K est composée d'une

sous-unité catalytique (codée par le gène **PIK3CA**) et d'une sous-unité **régulatrice** (codée par **PIK3RI**).

PI3K permet la **phosphorylation** de la phosphatidil-inositol-4-5 biphosphonate (**PIP2**) en **PIP3** avec pour conséquence l'activation **AKT** puis des seconds messages comme **mTOR**,

Cette cascade d'événements conduit à la prolifération cellulaire et à l'inhibition de l'apoptose.

V.3.2-Voie TP53/MDM2/MDM4/p14

Le gène *TP53* code pour une protéine qui joue un rôle clé dans le contrôle du cycle cellulaire en induisant la transcription du gène *P21* susceptible de bloquer le passage de la phase G1 à la phase S. *P53* peut également induire l'apoptose si les systèmes de réparation de l'ADN sont dépassés.

L'expression de la protéine *P53* est contrôlée par *MDM2* qui peut stimuler sa dégradation. Inversement *P53* peut induire la transcription de *MDM2*.

Enfin *p14ARF*, un des produits du locus *CDKN2A* peut inhiber la dégradation de *P53* *Mdm2*-dépendante et favoriser également la dégradation de *Mdm2*.

Ainsi une altération de la fonction de *P53* peut résulter soit de mutations de *TP53* ou d'altérations de *MDM2*, *MDM4*, ou *p14ARF*.

Les mutations de *TP53* sont plus fréquentes dans les GBM secondaires et affectent principalement les codons 248 et 273 alors qu'elles sont distribuées de façon plus aléatoire dans les GBM primaires [10]

V.3.3-Voie p16INK4A /CDK4/RB1

Cette voie joue également un rôle clé dans le contrôle du cycle cellulaire et tout spécialement la progression G1/S. Le complexe *CDK4-6/cycline D* phosphoryle *RB1*, libérant le facteur de transcription *E2F* susceptible d'induire la transcription de gènes impliqués dans la transition G1/S

Par ailleurs p16INK4a, l'autre produit du locus CDKN2A ou encore p15INK4B, produit du locus CDKN2B peuvent inhiber le complexe CDK4-6/cycline D, l'empêchant ainsi de phosphoryler RB1.

Des altérations de la voie p16INK4a/CDK4/RB1 ont été rapportées dans 78 % des GBM. Enfin une amplification de CDK4, cycline D2 (CCND2) ou de CDK6 sont rapportées dans respectivement 18, 2 et 1%. [10]

L'action de Rb sur le cycle cellulaire résulte en grande partie de sa capacité, lorsqu'il est déphosphorylé, à séquestrer le facteur de transcription E2F. [47]

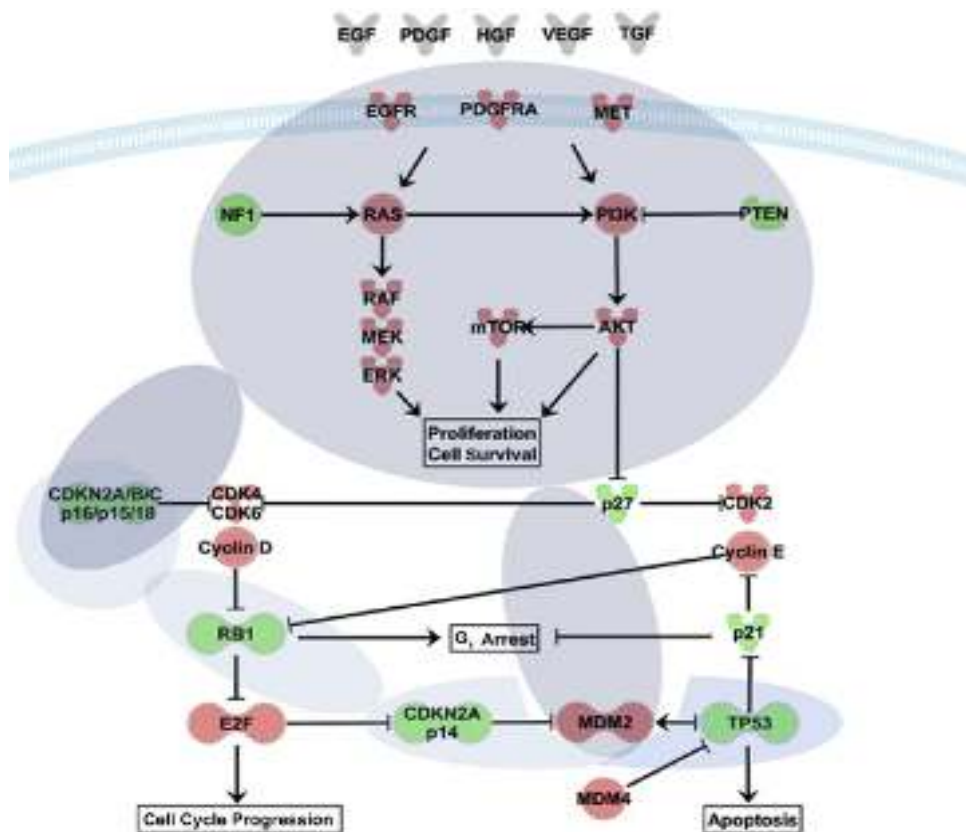


Figure 11 : Représentation schématique des principales voies de signalisation impliquées dans la pathogenèse des Glioblastome. [9]

Les différentes altérations génétiques et moléculaires présentes dans GBM citée précédemment, conduisent à la modification des voies de signalisation majeures qui aboutit à la croissance cellulaires et à la progression des tumeurs cérébrale (les GBM primaire sont en gris foncées et les GBM secondaires sont en gris claire)

VI- Les facteurs pronostiques :

VI.1-Les facteurs cliniques

VI.1.1-L'âge:

Il est considéré comme le facteur pronostique le plus fréquemment cité dans la plupart des études. [3.51.12] Mais il semble bien que l'âge soit corrélé de manière linéaire au pronostic, qui est de plus en plus mauvais au fur et à mesure que l'âge augmente (37).

VI.1.2-Etat clinique et cognitif

Tous les auteurs s'accordent pour considérer que l'existence d'un déficit neurologique est un facteur péjoratif.

Le score fonctionnel de Karnofsky (KPS) est reconnu comme étant un facteur pronostique de façon unanime, un score supérieur à 70 ou 80, est corrélé à une survie plus longue.

VI.2-Les facteurs histologiques

Le glioblastome à cellules géantes (GCG) est une variante du glioblastome multiforme (GBM) caractérisé par la présence et prédominance de cellules géantes multinuclées à cytoplasme éosinophile en son sein.

Le sous-type des GCG (environ 5 % des GBM) semble survenir plutôt de novo, chez des patients plus jeunes, semble moins invasif et comporte une fréquence plus élevée de mutations de p53 [17].

Leur pronostic semble meilleur que celui des autres GBM, probablement du fait d'une proportion plus élevée de patients long survivants [12]

Les gliosarcomes représentent environ 2 % des GBM, ont une localisation préférentiellement temporale, sont plus souvent à l'origine de métastases extracrâniennes [12]

VI. 3-Les facteurs biologiques :

De nombreux marqueurs biologiques ont été proposés comme ayant une valeur prédictive de la survie globale ou de la réponse aux traitements complémentaires. [12]

Certains de ces marqueurs (comme p53, EGFR, IDH1. . .) permettent d'identifier des sous-groupes de GBM appartenant à des voies oncogéniques différentes ayant des pronostics différents ; d'autres, comme MGMT, sont prédictifs de l'efficacité de la chimiothérapie adjuvante. [10]

VI.3.1-La protéine P53

Les mutations de TP53 ou l'accumulation de la protéine sont présentes dans 24- 40% des cas [48 ,50].

- la perte de fonction P53 est associée à une plus grande radio et chimiorésistance mais ne constitue pas un facteur pronostique pertinent [19].

VI.2.2- IDH1

Les altérations de l'**IDH1** sont présentes dans le GBM **secondaire (90%)**, mais elles sont rarement observées dans le **GBM primaire.. [25]**

Cette différence permettait de discriminer entre ces deux types de tumeurs.

Ils concernent des sujets plus jeunes (45 ans), se caractérisent par une histoire clinique plus longue et sont de meilleur pronostic. [14]

la présence de mutations d'**IDH1** est un facteur important de bon pronostic, la survie médiane des glioblastomes avec mutations étant de 27 à 31 mois alors que celle des glioblastomes sans mutations est de 11.3 à 15 mois. la présence de mutations **IDH1** permet d'identifier un sous groupe de glioblastomes secondaires de meilleur pronostic. [7]

VII- Le traitement des glioblastomes :

La prise en charge des glioblastomes représente un challenge thérapeutique, nécessitant une approche multidisciplinaire faisant intervenir la neurochirurgie, l'anatomopathologie, la radiothérapie et la chimiothérapie.

L'avenir, est à l'immunothérapie et la thérapie génique (le gène P53 représente le candidat idéal pour la thérapie génique) dans l'arsenal thérapeutique des tumeurs cérébrales. [32]

Chapitre II

Matériels et méthode

MATERIEL ET METHODES

Méthodologie :

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire d'anatomo-pathologie du C.H.U. Mustapha Bacha à Alger entre mars 2017 et août 2017, et elle se divise entre deux parties une étude rétrospective et une étude transversale.

- La partie rétrospective est une étude épidémiologique sur des dossiers de malades traités au niveau du service neurochirurgie
- La partie transversale est une étude morphologique et une étude immunohistochimique des marqueurs p53 muté et de l'IDH1muté (qui était effectué pour 10 cas).

I. Etude rétrospective :

Après consultation des dossiers de malades atteints de tumeurs cérébrales durant les années 2014 et 2017, nous avons sélectionné ceux de patients atteints de glioblastomes en vue de notre étude et nous avons recensé au total 26 dossiers.

Les paramètres relevés des dossiers étaient :

- Le numéro de dossiers,
- Les nom et prénom,
- Le sexe,
- L'âge,
- Les signes cliniques, la localisation,
- L'histologie,
- Survie

Les paramètres analysés étaient : le sexe, l'âge, localisation, signes cliniques.

II. Etude transversale

II.1 Patients : Des critères de sélection ont été établis pour le recrutement des cas index :

- Critères d'inclusion :

Ont été inclus dans l'étude les sujets adultes des deux sexes atteints de glioblastomes, prouvé par une étude anatomo-pathologique.

- Critères d'exclusion :

Ont été exclus de l'étude tous les patients présentant tout autre cancer cérébral.

II.2 étude morphologique

Coloration histologique topographique qui permet de visualiser la morphologie des cellules (noyau et cytoplasme) afin de déterminer leur répartition, architecture et structure.

Les tissus ainsi prélevés vont subir différents traitements avant de pouvoir être analysé au microscope :

- 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 volume suffisant de liquide fixateurs dont les plus utilisés sont le formol à 4% ou le liquide de Bouin (mélange de formol et d'acide picrique). La durée de la fixation varie selon le volume des prélèvements (de quelques heures pour un petit fragment biopsique à plusieurs semaines pour un cerveau humain entier)

- L'inclusion :

A pour but de permettre la réalisation de coupes régulières. Le milieu d'incubation le plus utilisé est la paraffine ; comme la paraffine est hydrophobe, le prélèvement doit d'abord subir une déshydratation (par immersion dans des bains d'alcool de degré croissant puis dans des bains de toluène) avant d'être mis dans un moule contenant de la paraffine liquide fondue par chauffage, 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.

- Les coupes :

Les blocs de paraffine ainsi obtenus sont coupés au microtome sous forme de ruban de 2 à 5 μm d'épaisseur et recueillis sur des lames de verre.

- La coloration :

Réalisées sur lames, accentuent les contrastes pour mieux reconnaître les différents éléments de la préparation. Les colorants étant en solution aqueuse, les coupes doivent d'abord subir une réhydratation (effectuée après déparaffinage des coupes par chaleur et bain de toluène) en immergeant les lames dans des bains d'alcool décroissant puis dans l'eau distillée.

La coloration de routine utilisée est l'hématéine-éosine (H.E) ainsi l'hématéine colore le noyau en violet et l'éosine le cytoplasme en rose. Certaines équipes utilisent la coloration (H.E.S) par ajout de safran qui colore en jaune les fibres de collagène.

- Le montage :

Après avoir subi une déshydratation (par bain d'alcool de degré croissant puis bain de toluène), les coupes colorées sont montées entre lame et lamelle à l'aide de l'eukitt .On

dispose alors d'une préparation prête à être observée au Microscope optique ,le résultat final doit refléter au plus juste l'état natif du prélèvement .

II.2- Étude immunohistochimie :

- Objective : elle permet la révélation de protéines spécifique et leur expression 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
- Mode opératoire : Il comporte plusieurs étapes :

- **Déparaffinage et réhydratation**

Les coupes sont placées dans l'étuve à 60°C pendant 24 heures .pour l'élimination de l'excès de paraffines. Elles sont par la suit déparaffinées complètement dans 2 bains de xylène pendant 5 min chacun, puis passée dans 4 bain d'alcool de concentration décroissante (100°,95° ,90°,70°) successivement pour la réhydratation, ensuite rincer dans l'eau distillée.

- **Blocage de la peroxydase endogène**

-les échantillons sont entourée par une surface hydrophobe à l aide d'un DAKO pen à fin d'évité la dispersion et la perte des réactifs, les coupes sont incubés à l'eau oxygénée (H₂O₂) à 3 % pendant 5 min, puis rincer à l'eau distillée.

- **Démasquage d'antigène**

-Pour l'Ag du p53 en effectue un démasquage enzymatique, dans solution de démasquage citraté Ph=9 les coupes sont mise pendant 40 min. Par la suite rincer à l'eau distillée

-pour l'Ag d'IDH1 en effectue un démasquage thermique, dans un bain marie on met les lames dans des boite pendant 40 min à 97°C, c puis refroidis 20 à température ambiante. Par la suite rincer à l'eau distillée.

- **Immunomarquage**

Nous avons marqués notre lames par l anti P53 et l'anti IDH1.

On applique sur le tissu l'anticorps primaire dilué (pour la P53 il peut être dilué entre 1:25 et 1:50 , et pour IDH1 dilué à 1 :20) pendant 40 minutes en chambre humide.

- on réalise un rinçage de 10 minutes dans du tampon PBS-Tween (Phosphate Buffer Saline) : un tampon phosphate contenant du Na Cl et du Tween (agent mouillant) pour éliminer le surplus des anticorps.

- Application de l'anticorps secondaire couplé à la peroxydase pendant 30 min , les coupes sont rincée par le PBS pendant 10 min et incubé avec une solution de DAB

(1 ml pour une goutte de chromogène) pendant 5 à 10 min à surveiller jusqu'à l'obtention d'une couleur marron, la réaction est stoppée par un rinçage par l'eau distillée.

Contre coloration topographique à l'hématoxyline de Mayer dont le but de visualiser les noyaux qui du fait à la présence des acides nucléiques et le colorant de nature basique vont prendre une couleur bleu foncée.

- **Montage des lames**

Le montage entre lame et lamelle, permet la conservation des coupes traitées par les réactifs pour pouvoir réaliser l'observation analytique et photographier les zones d'intérêt.

Chapitre III

Résultats et discussions

Résultats

III.1-analyse des données épidémiologiques

Cette étude porte sur une série de **26** cas de glioblastomes adultes.

III.1.1-répartitions selon l'âge :

L'Âge des patients porteurs du glioblastomes varie de 33 à 74 ans.

L'âge moyen de nos patients au moment de diagnostic est 54 ans (similaire au séries de la littérature), et l'âge médian de 53 ans.

Cette répartition est présentée dans l'histogramme suivant :

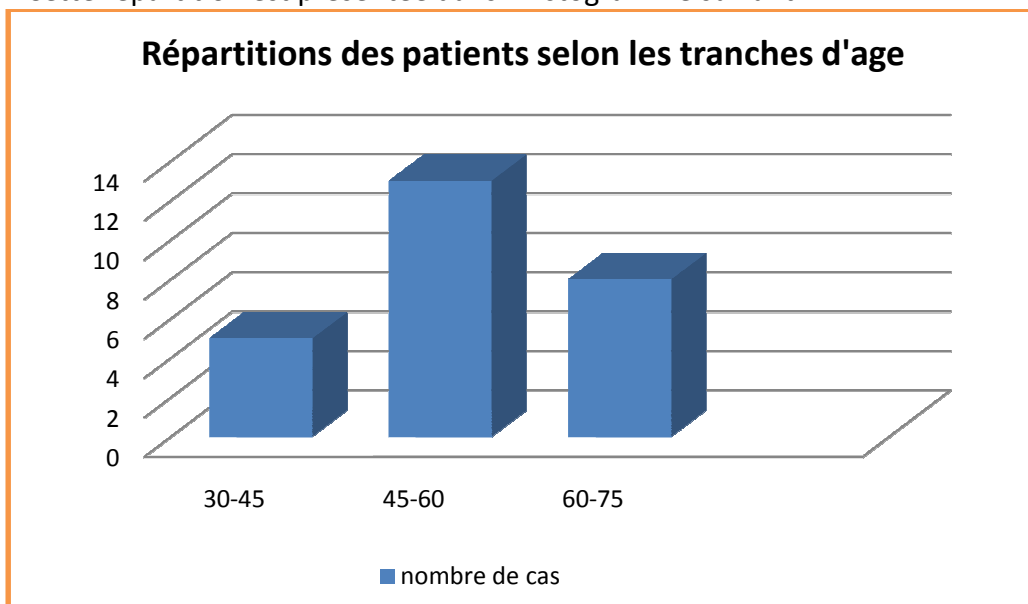


Figure.12 : répartitions des patients selon l'âge.

D'après la figure 13, on note un pic chez les patients âgés entre 45 et 60 ans.

III.1.2-Répartition selon le sexe :

La répartition de nos patients selon le sexe présente une prédominance masculine avec un sex-ratio homme/femme est de 1,36. Le glioblastome est plus fréquent chez les hommes (n=15 correspond à 58%) que chez les femmes que chez les femmes (n=11 correspond à 42%) (Figure et tableau annexe II).

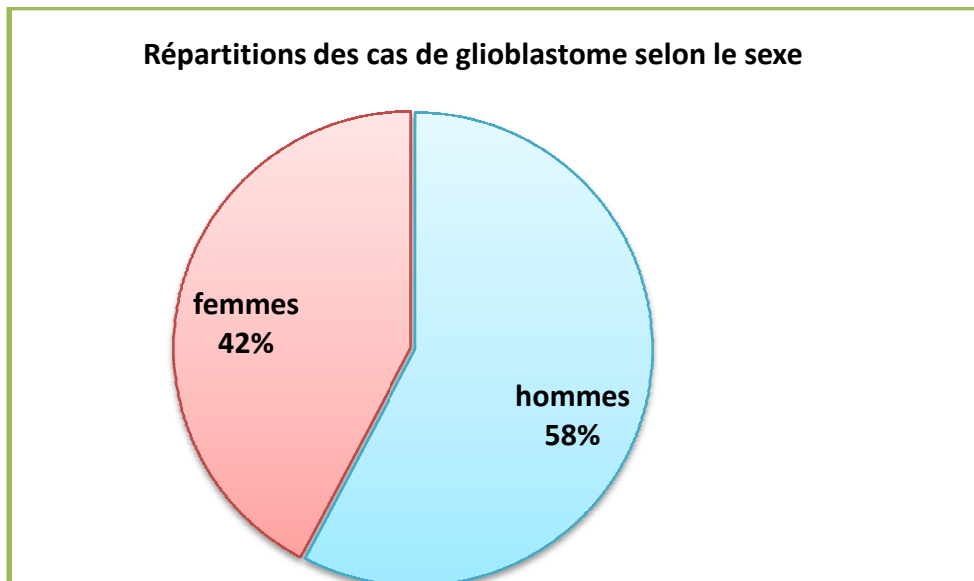


Figure.13 : répartition des cas de glioblastome selon le sexe

III.2.1-les signes cliniques

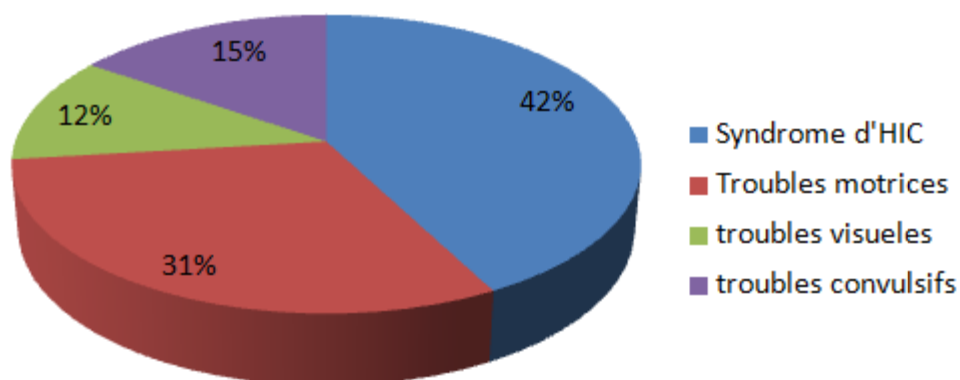
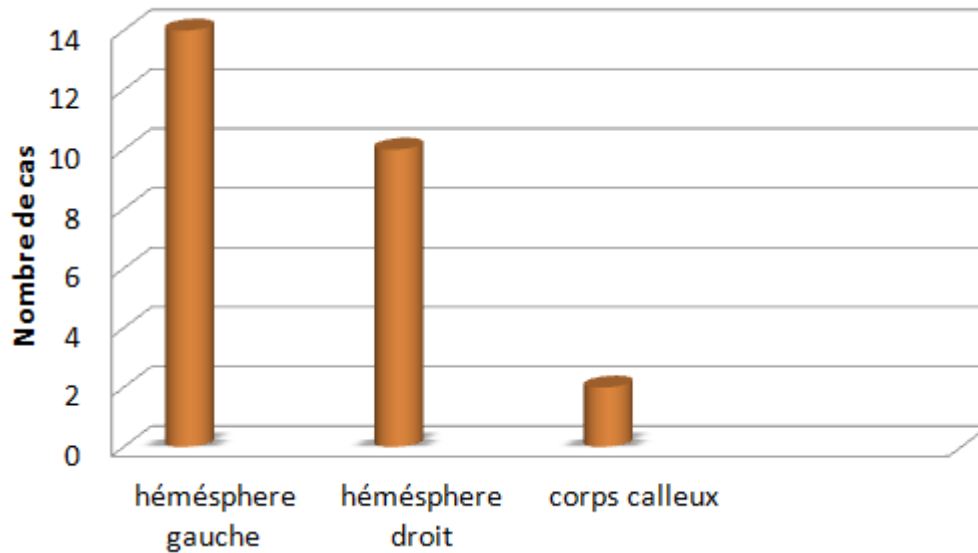


Figure.14 : les principaux signes cliniques des GBM.

Les signes cliniques sont dominés par le syndrome d'IHC (42%) et les troubles moteurs (31%)

III.2.2-localisations cérébrales :**Figure.15 : répartitions des glioblastomes selon la localisation cérébrale.**

On note une nette prédominance des GBM au niveau l'hémisphère cérébrale gauche, la localisation profonde (corps calleux) est rare.

* La prise en charge des patients atteint de glioblastome au niveau de L'hémisphère gauche (hémisphère dominant) présent un risque de déficit remarquable de ce fait le score de Karnofsky diminue ce qui influence le pronostic.

III-2. Étude histologique

L'aspect cytologique traduit le grand polymorphisme cellulaire qui caractérise le Glioblastome. La préparation cytologique est riche en cellules tumorales avec des noyaux Volumineux, des mitoses abondantes et anormales. Des cellules à noyaux nu et hyper chromatique sont présentes.

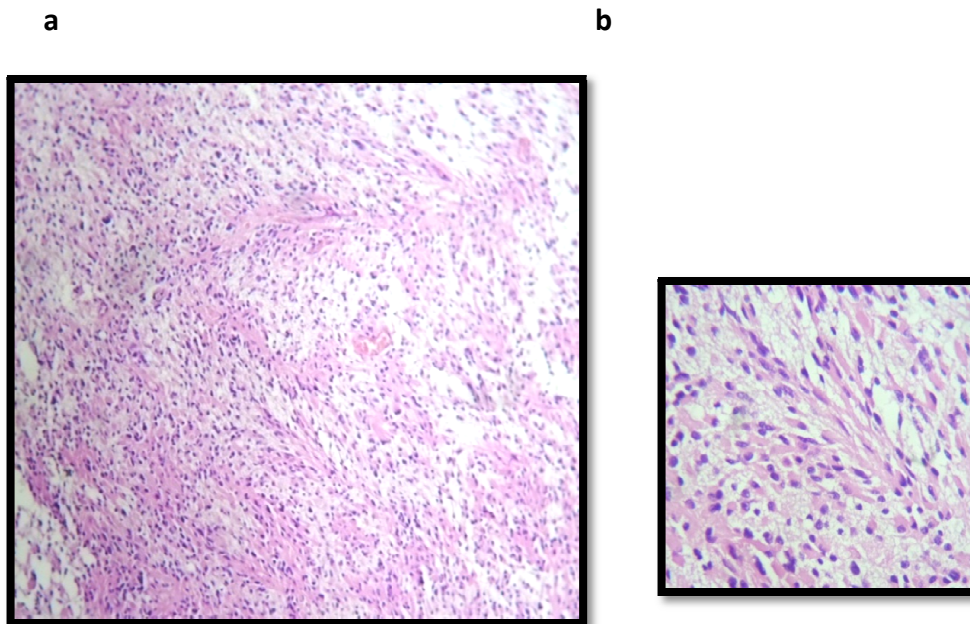


Figure.16 : HE coupes histologiques d'un glioblastome avec une prolifération de cellules gémitocytiques ; Gr : x100(a), x400(b)

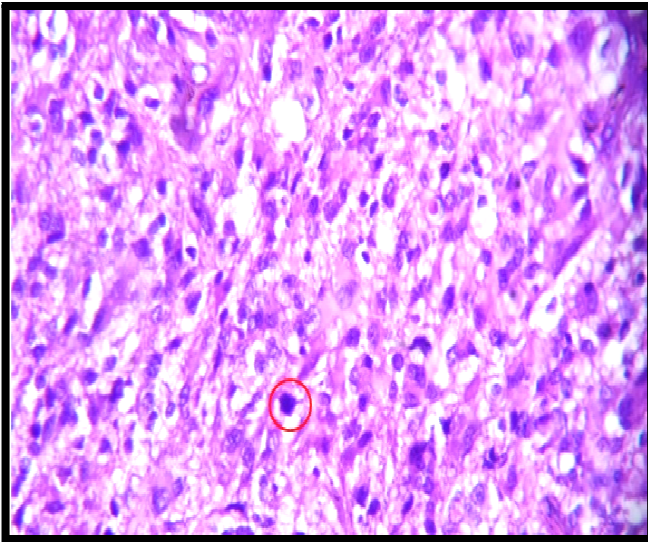


Figure.17 : HE coupe histologique d'un glioblastome

Prolifération néoplasique gliale de densité élevé avec atypie cytonucleaires et mitose anormale ○; Gx400

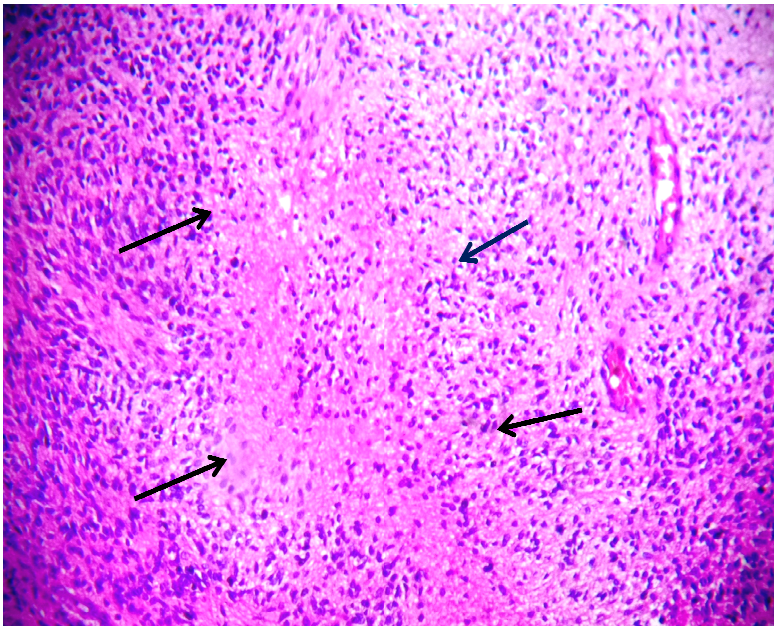


Figure.18: HE coupe histologique d'un glioblastome avec Nécrose central entouré par des cellules tumorales réalisant un aspect d'une nécrose palissadique, ↗ Gx100.

Des foyers de nécrose sont visibles. il peut s'agir de larges foyers de nécrose représentant dans certains cas plus de 80% de la tumeur ou de la nécrose palissadique, représentée par des foyers de petites tailles limités par une assise multicellulaire de cellules ovoïdes d'allure indifférenciées dont certaines sont réduites à des noyaux apoptiques.

Ces foyers de nécrose palissadique peuvent confluer conduisant à un aspect en « Carte de Géographie ».

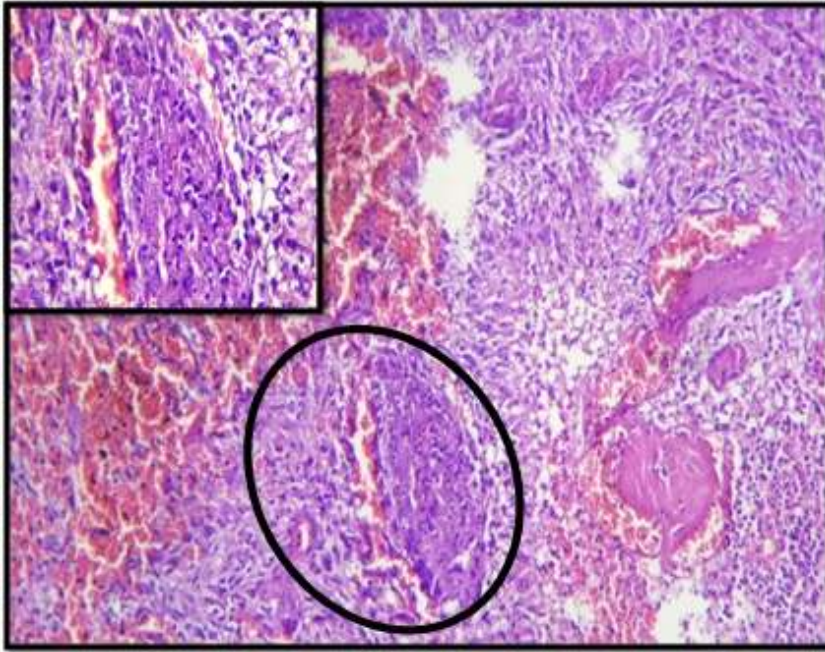


Figure.19 : HE coupe histologique d'un glioblastome Prolifération endothélio-capillaire.

○ Gr : x10 ;et x400

III.3-étude immunohistochimique :

L'étude immunohistochimique de l'IDH1 et de la p53 a été réalisée sur 10 cas après lecteur histopatologique

III.3.1- l'IDH1

Immunomarquage cytoplasmique des cellules tumorales est dominé par une expression positive à l'IDH1 (70% des cas). (annexe II tableau III)

les résultats du l'IDH1 sont considéré comme :

- ✓ 7 cas positifs
- ✓ 3 cas négatif

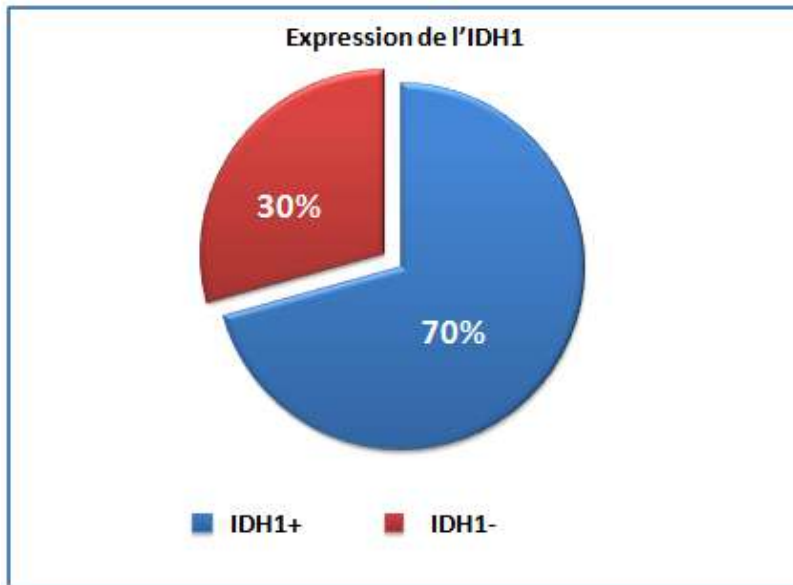


Figure.20 : expression de l'IDH1

a

b

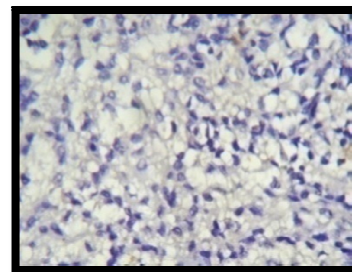
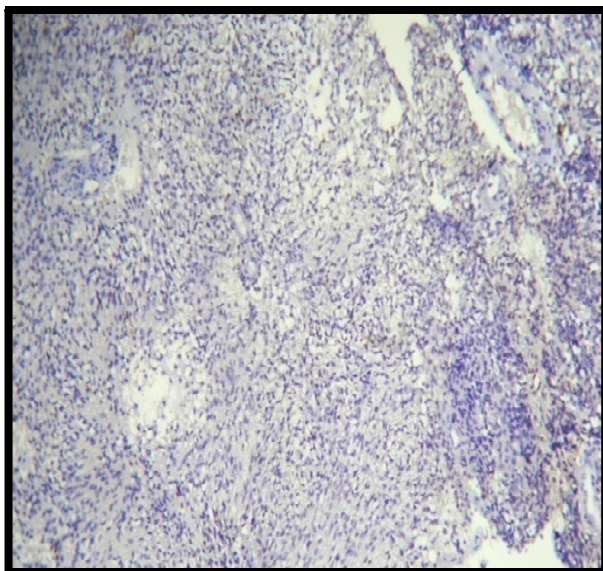


Figure.21 : Négativité des cellules tumorales à IDH1 .Gr: x100 (a), x400(b)

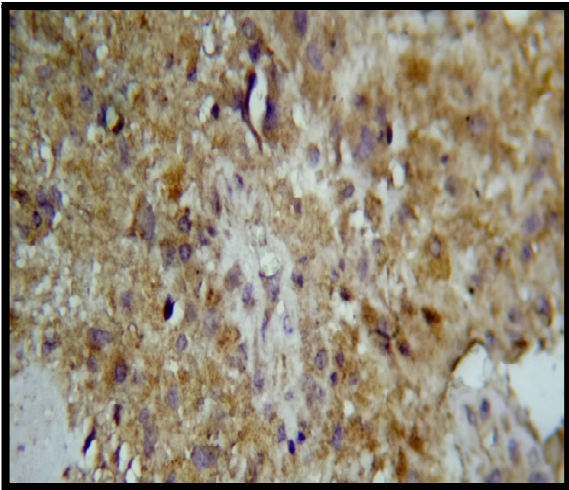


Figure.22 : positivité cytoplasmique diffuse à l'IDH1 ; Grx1000.

III.3.2- la P53

L'immunomarquage nucléaire des cellules tumorales est présenté par :

- ✓ Expression intense à la p53 pour 7 cas
- ✓ Expression faible à la p53 pour 3 cas

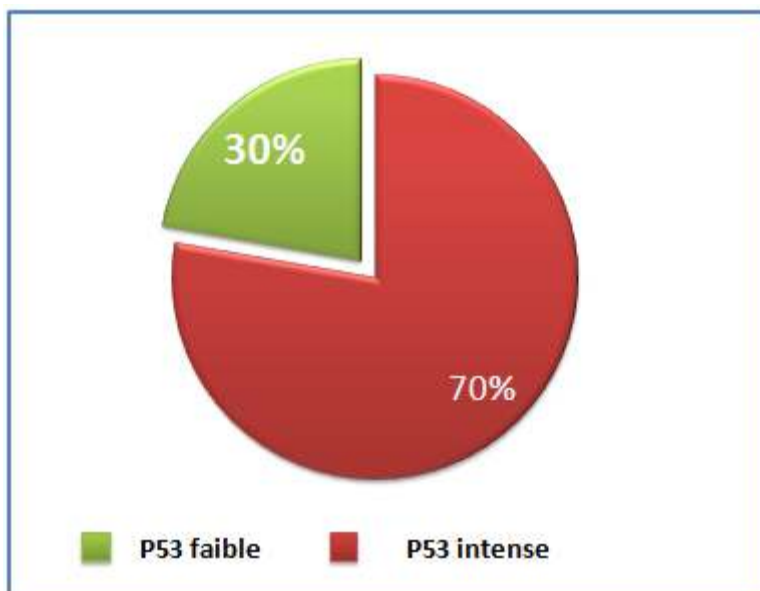


Figure.23 : expression de la p53

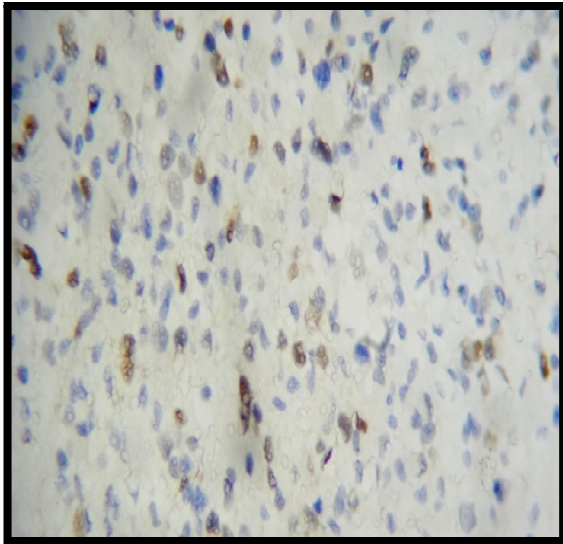


Figure.24 : Positivité nucléaire faible à la p53.

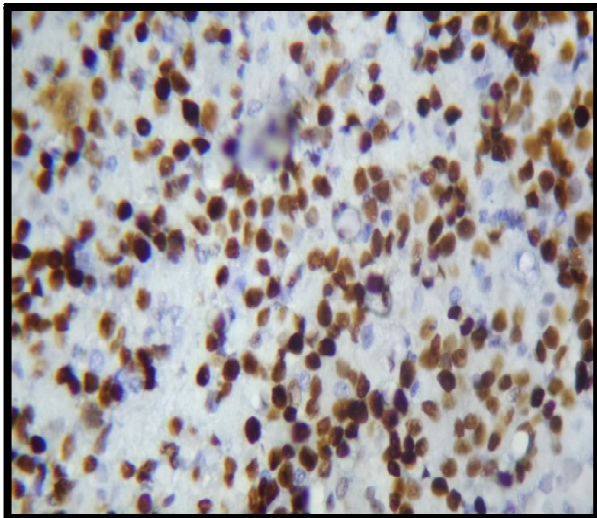


Figure.25 : Positivité nucléaire intense et diffuse de la p53 estimé à 80%. Grx400.

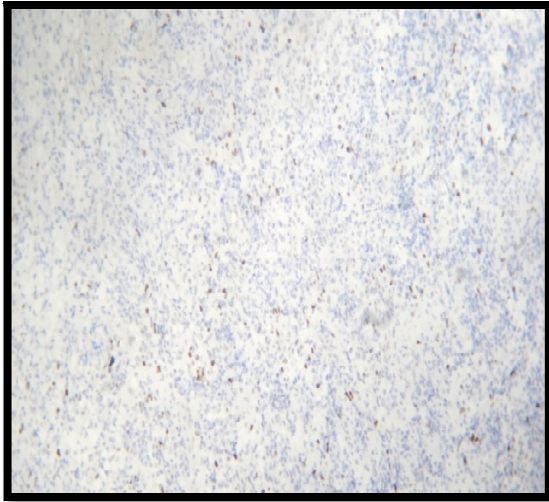
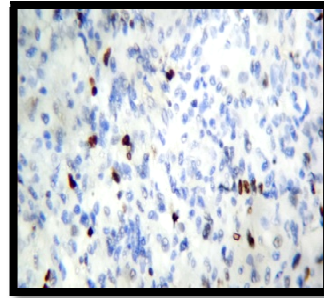
a**b**

Figure.26 : p53 positive avec 15% ; Grx100(a), x400(b)

La moyenne de la survie

La moyenne de la survie dans notre série est de 19 mois

Discussions

Le glioblastome est challenge thérapeutique ou une prise en charge multidisciplinaire est primordial pour améliorer le pronostic et la survie de cette tumeur.

le pic d'incidence se situe entre 55- 60 ans (Ohgaki et Kleihues, 2005).et concernant (Baldi et al 2010 française) le pic d'incidence se situe entre 45 et 70 ans et l'âge médian au moment du diagnostic est d'environ 62 ans , contrairement à notre étude ou le pic d'incidence est entre 45 et 60 ans (50% des cas) avec un âge médian de 53ans (vue la prise en charge est concerné que pour les personne qui ne dépasse pas les 75ans).

L'incidence du GBM est plus élevé chez les hommes par rapport aux femmes (Thakkar et al., 2014) ce qui s'accorde avec nos résultats.

Notre étude montre des différences considérables dans la distribution du glioblastome, avec une fréquence plus élevée dans l'hémisphère gauche (La prise en charge des patients attient de glioblastome au niveau de L'hémisphère gauche que dans l'hémisphère droit. Contrairement aux (Larjavaara, S., et al. 2007.) qui ont trouvés une fréquence plus élevée dans l'hémisphère droit que dans l'hémisphère gauche.

A l'histologie, l'ensemble de nos cas présentent l'aspect assez caractéristique décrit dans la littérature :

Les glioblastomes sont composés d'éléments astrocytaires peu différenciés, souvent pléomorphes, présentant d'importantes atypies cytonucléaires, ainsi qu'une activité mitotique marquée. La présence de plages de nécroses entourées de cellules proliférantes réalisant un aspect en pseudo-palissades, et d'une prolifération endothélio-capillaire qui sont les éléments essentiels au diagnostic de cette tumeur (Kleihues, 2000).

Dans notre étude on n'a pas pu faire la différence entre le glioblastome primaire et secondaire.

Dans notre série l'expression de la P53 a été retrouvée dans 8 cas 70% (expression plus de 20 %). 3 cas 30% (expression inférieur à 5%).

d'après les résultats de (Montgomery R.,et al.2015) 36 cas ont été analysés (31 ont été positifs pour une p53 muté) (expression marqué entre 50 %et 100%).

Dans notre série l'expression de l'IDH1 a été retrouvée dans 7 cas 70 contrairement à l'étude (Mukasa A., et al.2011) ou l'expression d'IDH1 est de 10% (13 cas) sur 125 GBM , et l'étude de (Pyo J., et al.2016) qui ont fait une analyse de concordance et un examen de précision du test de diagnostic de l'immunohistochimie d'IDH1 dans le glioblastome, ils ont trouvé un taux global d'IDH1 par IHC de 10,0% (136 de 1360) à partir d'études admissibles .

Notre étude nous a affermit qu'il existe réellement une corrélation entre la mutation de l'IDH1 dans le pronostic et la survie des patients porteurs des glioblastomes. (la moyenne de survie est de 9 mois) ce qui s'accorde avec l'étude glioblastomes. (la moyenne de survie est de 9 mois) ce qui s'accorde avec l'étude (Polivka, J., et al.2014)(la moyenne de survie est de 9 mois). (Yan, H., et al.2009) qui ont trouvé que la mutation IDH1 est un facteur pronostic favorable (la moyenne de survie 16 mois) et meme l'étude (Mukasa A., et al.2011) affirment que la mutation de l'IDH-1 était significativement associées à une augmentation de la survie globale.

Les études de mutations TP53 comme marqueur pronostique n'ont pas été définies (Hill C.,et al.2009) (Simmons ML . ,et al2001).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Au terme du travail effectué, notre principal objectif a été vérifié :

L'impact de la p53 et de l'IDH1 dans l'évaluation du pronostic et de la survie des glioblastomes.

Notre étude anatomoclinique et histopathologique sur une série de 26 patients porteurs de glioblastomes nous a permis d'obtenir les résultats suivantes :

- Une dominance masculine (58%) contre (42%) pour les femmes avec un sex-ratio M/F est de 1,36.
- Une prédominance chez des patients jeunes avec une moyenne d'âge de 54 ans, et un pic de fréquence entre 45 et 60 ans (50% des cas).
- La clinique est dominée par le syndrome d'HIC (42%) et les troubles moteurs (31%).

L'étude immunohistochimique basée sur l'utilisation du marqueur de l'IDH1 et de la P53 conclut aux résultats suivants :

- Une dominance de l'expression positive à l'IDH1 avec 70%.
- L'expression intense de la p53 dans 70% des cas.
- On a noté une expression faible de la p53 et une positivité à l'IDH1, cette association est à prendre en considération dans l'avenir (sous groupe de bon pronostic), et donc utilité de revoir la stratégie thérapeutique.

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

1. Almairac F ,Frenay M , Paquis P.(2010) Genetic diseases and glioblastomas. *Neurochirurgie*.vol.56(6) :455-458
2. Baldi I, Huchet A, Bauchet L , Loiseau H. (2010) Épidémiologie des glioblastomes.*Neurochirurgie*, 56(6) :433-440
3. Batchelor, T. T., Betensky, R. A., Esposito, J. M., Pham, L.-D. D., Dorfman, M. V., Piscatelli, N., Jhung, S., Rhee, D., and Louis, D. N. (2004). Age-dependent prognostic effects of genetic alterations in glioblastoma. *Clinical Cancer Research* 10, 228-233.
4. Biau, J., Dalloz, P., Durando, X., Hager, M.-O., Ouédraogo, Z. G., Khalil, T., Lemaire, J.-J., Chautard, E., and Verrelle, P. (2015). Glioblastome du sujet âgé: état de l'art. *Bulletin du Cancer* 102, 277-286.
5. Bondy, M. L., Scheurer, M. E., Malmer, B., Barnholtz-Sloan, J. S., Davis, F. G., Il'Yasova, D., Kruchko, C., McCarthy, B. J., Rajaraman, P., and Schwartzbaum, J. A. (2008). Brain tumor epidemiology: consensus from the Brain Tumor Epidemiology Consortium. *Cancer* 113, 1953-1968.
6. Cairns, R. A., Harris, I. S., and Mak, T. W. (2011). Regulation of cancer cell metabolism. *Nature Reviews Cancer* 11, 85-95.
7. Capper, D., Zentgraf, H., Balss, J., Hartmann, C., and von Deimling, A. (2009). Monoclonal antibody specific for IDH1 R132H mutation. *Acta neuropathologica* 118, 599.
8. Chatel, M., Frenay, M., Lebrun, C., Bourg, V., and Fauchon, F. (2005). Gliomes de haut grade: astrocytomes anaplasiques et glioblastomes. *EMC-Neurologie* 2, 257-278.
9. Crespo, I., Vital, A. L., Gonzalez-Tablas, M., del Carmen Patino, M., Otero, A., Lopes, M. C., de Oliveira, C., Domingues, P., Orfao, A., and Tabertero, M. D. (2015). Molecular and genomic alterations in glioblastoma multiforme. *The American journal of pathology* 185, 1820-1833.
10. Figarella-Branger, D., Colin, C., Tchoghandjian, A., Baeza, N., and Bouvier, C. (2010). Glioblastomes: oncogénèse et bases biologiques. *Neurochirurgie* 56, 441-448.

11. Figarella-Branger, D., Labrousse, F., and Mohktari, K. (2012). Société française de neuropathologie. Réseau de neuro-oncologie pathologique. Paper presented at: Annales de pathologie.
12. Fontaine, D., and Paquis, P. (2010). Glioblastomes: facteurs pronostiques cliniques, radiologiques et biologiques. *Neurochirurgie* 56, 467-476.
13. Ghosh, S., Dutta, S., Thorne, G., Boston, A., Barfield, A., Banerjee, N., Walker, R., and Banerjee, H. N. (2017). Core Canonical Pathways Involved in Developing Human Glioblastoma Multiforme (GBM). *International journal of scientific research in science, engineering and technology* 3, 458.
14. Hanahan, D., and Folkman, J. (1996). Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *cell* 86, 353-364.
15. Hanahan, D., and Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *cell* 144, 646-674.
16. Hanif F, Muzaffar K, Perveen K, Malhi S M, Simjee S. (2017) Glioblastoma Multiforme: A Review of its Epidemiology and Pathogenesis through Clinical Presentation and Treatment. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, Vol 18* :3-10
FACTEUR DE RISQUE. GBM I ET II
17. Hill C, Hunter SB, Brat DJ. (2003) Genetic markers in glioblastoma: prognostic significance and future therapeutic implications. *Advances in anatomic pathology*; 10:212–217
18. Hasmim, M., Messai, Y., Noman, M. Z., and Chouaib, S. (2014). L'hypoxie tumorale-Un déterminant clé de la réactivité stromale et de la réponse antitumorale. *médecine/sciences* 30, 422-428.
19. Houilleir C, Iejeune J, Laigle Donadey F, Griniere E, mohktari K, Thillet J, Belattre J, Hoang Xuan K, sanson M et al. prognostic impact of molecular markers in a series of 220 primary glioblastomes. *cancer* 2006 : 106 : 2218-2223
20. Janin, M. (2015) Phénotype métabolique des tumeurs associées à des anomalies du cycle de Krebs, Sorbonne Paris Cité.
21. Khalequezzaman, S. Rahman, T. (2016). A Rare Brain Tumour- Gliosarcoma. *medicine today* 28,46-47
22. Kleihues, P., and Sobin, L. H. (2000). World Health Organization classification of tumors. *Cancer* 88, 2887-2887.

23. Kuroda, J. I., Nobusawa, S., Nakamura, H., Yokoo, H., Ueda, R., Makino, K., Yano, S., and Kuratsu, J. i. (2016). A case of an epithelioid glioblastoma with the BRAF V600E mutation colocalized with BRAF intact low-grade diffuse astrocytoma. *Neuropathology* 36, 181-186.
24. Larjavaara, S., Mantyla, R., Salminen, T., Haapasalo, H., Raitanen, J., Jaaskelainen, J., and Auvinen, A. (2007). Incidence of gliomas by anatomic location. *Neuro-oncology* 9, 319-325.
25. Liu, A., Hou, C., Chen, H., Zong, X., and Zong, P. (2016). Genetics and epigenetics of glioblastoma: Applications and overall incidence of IDH1 mutation. *Frontiers in oncology* 6.
26. Louis, D. N., Ohgaki, H., Wiestler, O. D., Cavenee, W. K., Burger, P. C., Jouvett, A., Scheithauer, B. W., and Kleihues, P. (2007). The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta neuropathologica* 114, 97-109.
27. Louis, D. N., Perry, A., Reifenberger, G., Von Deimling, A., Figarella-Branger, D., Cavenee, W. K., Ohgaki, H., Wiestler, O. D., Kleihues, P., and Ellison, D. W. (2016). The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Acta neuropathologica* 131, 803-820.
28. Lrhezzioui, J., Emery, E., and Chapon, F. (2007). Glioblastome frontal à cellules géantes: tumeur radio-induite? À propos d'un cas, avec revue de la littérature. *Neurochirurgie* 53, 486-490.
29. Malmer B, Adatto G, Armstrong G, et al. (2007) gliogene an international consortim to understand familial glima ? cancer epidemiol. biomarkers prev., vol16(9) :1730-1734
30. MacKenzie D, Selak M, Tennant D, Payne L, Crosby S, Frederiksen C, Watson D, Gottlieb E. (2007) Cell-permeating alpha-ketoglutarate derivatives alleviate pseudohypoxia in succinate dehydrogenase-deficient cells. *Mol Cell Biol.* vol 27(9):3282-9.
31. Masui, K., Mischel, P. S., and Reifenberger, G. (2016). Molecular classification of gliomas. *Handb Clin Neurol* 134, 97-120.
32. Migliorini, D., Dutoit, V., Walker, P. R., and Dietrich, P.-Y. (2017). Immunothérapie des gliomes: illusion ou espoir? *Bulletin du Cancer*.

33. Montgomery, R. M., Queiroz, L. d. S., and Rogerio, F. (2015). EGFR, p53, IDH-1 and MDM2 immunohistochemical analysis in glioblastoma: therapeutic and prognostic correlation. *Arquivos de neuro-psiquiatria* 73, 561-568.
34. Mukasa A, Takayanagi S, Saito K, Shibahara J, Tabei Y, Furuya K, Ide T, Narita Y, Nishikawa R, Ueki K, Saito N. (2011) Significance of IDH mutations varies with tumor histology, grade, and genetics in Japanese glioma patients. *Cancer Science* 103, no. 3 :587–592
35. Nakada, M., Kita, D., Watanabe, T., Hayashi, Y., Teng, L., Pyko, I. V., and Hamada, J.-I. (2011). Aberrant signaling pathways in glioma. *Cancers* 3, 3242-3278.
36. Norbert, Ulf. *Précis d'histologie*. Maloine . Paris : 2006 , 267
37. Ohgaki, H., and Kleihues, P. (2005) epidemiology and etiology of gliomas, *Acta Neuropathol.* vol109(1):93-108
38. Ohgaki, H., and Kleihues, P. (2007). Genetic pathways to primary and secondary glioblastoma. *The American journal of pathology* 170, 1445-1453.
39. Ohgaki, H., and Kleihues, P. (2013). The definition of primary and secondary glioblastoma. *Clinical cancer research* 19, 764-772.
40. Polivka, J., Polivka, J., Rohan, V., Pesta, M., Repik, T., Pitule, P., and Topolcan, O. (2014). Isocitrate dehydrogenase-1 mutations as prognostic biomarker in glioblastoma multiforme patients in west bohemia. *BioMed research international* 2014.
41. Pyo, J.-S., Kim, N. Y., Kim, R. H. J., and Kang, G. (2016). Concordance analysis and diagnostic test accuracy review of IDH1 immunohistochemistry in glioblastoma. *Brain tumor pathology* 33, 248-254.
42. Richterová, R., and Kolarovszki, B. (2016). Genetic Alterations of Glioblastoma. In *Neurooncology-Newer Developments*, (InTech).
43. Sanson, M. (2016). Marqueurs tumoraux des gliomes. *Journal of Neuroradiology* 43, 74-75.
44. Sanson, M., and Taillibert, S. (2004). Données générales de neurooncogénèse. *EMC-Neurologie* 1, 75-89.
45. Simmons ML, Lamborn KR, Takahashi M, Chen P, Israel MA, Berger MS, et al. (2001). Analysis of complex relationships between age, p53, epidermal growth factor receptor, and survival in glioblastoma patients. *Cancer Res* 61:1122–1128.

46. Thakkar JP, Dolecek TA, Horbinski C, Ostrom Q, Lightner D, Barnholtz-Sloan J, Villano J, Epidemiologic and molecular prognostic review of glioblastoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* vol23(10):1985-96.
47. Turkalp, Z., Karamchandani, J., and Das, S. (2014). IDH mutation in glioma: new insights and promises for the future. *JAMA neurology* 71, 1319-1325.
48. Verhaak R, Roadley K, Purdom E, wang miller R, Ding L , Jakkulal L, Brennan C,perou C, Hayes D, the cancer genome atlas research net work et al. Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR and NF1 . *cancer cell*2010 :17 : 98-110
49. Vital, A. L., Taberner, M. D., Castrillo, A., Rebelo, O., Tão, H., Gomes, F., Nieto, A. B., Resende Oliveira, C., Lopes, M. C., and Orfao, A. (2010). Gene expression profiles of human glioblastomas are associated with both tumor cytogenetics and histopathology. *Neuro-oncology* 12, 991-1003.
50. Weller M, Felsberg J , Hartman C, berger H , Steinbach J, westphal M, simon M Loeffler M et al(2009). molecular predictor of progression –free and overall survival in patients with newly diagnosed glioblastoma. A prospective translational study of the german glioma net work. *J clin oncol* : 27 : 5743-5750
51. Wirsching H-G, Galanis E, AND Weller M.(2016). Glioblastoma. *Handbook of Clinical Neurology*, Vol. 134 (3rd series) : 381- 397
52. Wirsching, H.-G., and Weller, M. (2017). Glioblastoma. In *Malignant Brain Tumors*, (Springer), pp. 265-288.
53. Yan, H., Parsons, D. W., Jin, G., McLendon, R., Rasheed, B. A., Yuan, W., Kos, I., Batinic-Haberle, I., Jones, S., and Riggins, G. J. (2009). IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *New England Journal of Medicine* 360, 765-773.
54. Young, G. S. (2007). Advanced MRI of adult brain tumors. *Neurologic clinics* 25, 947-973.
55. Yves Morin. *Petit Larousse de la médecine* :Larousse paris :2003.1087

Annexes

Annexes I



Microtome



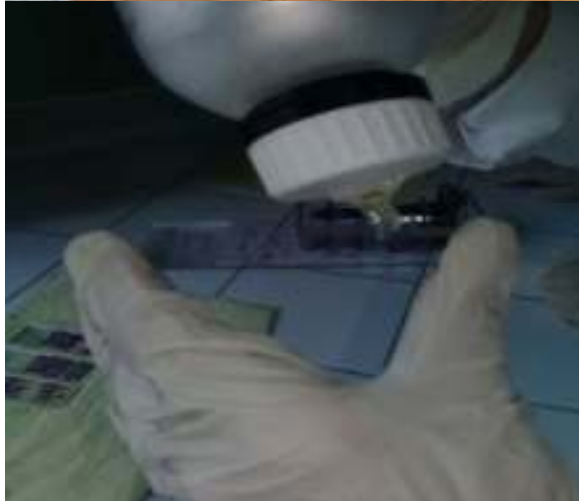
plaque chauffante



Etuve de type LEICA



les différents colorants



Préparation d'une coupe histologique

Annexes II

Sexe	Nombre	Pourcentage
Femmes	11	42.30%
Hommes	15	57.7%
Total	26	100%

Tableau II: répartitions selon le sexe

Les cas	Sexe	Age	Expression de la P53	expression de l'IDH1
1	H	53	Positivité nucléaire diffuse de plus de 50% des cellules	Positif
2	H	53	positivité nucléaire marqué	
3	F	33	Positivité nucléaire intense et diffuse	
4	H	42	Positivité nucléaire dans 15% des cellules	Négatif
5	F	60	Positivité nucléaire faible inférieur à 5%	
6	H	69	Positivité nucléaire de plus de 15% des cellules	Négatif
7	H	67	Positivité nucléaire faible inférieur à 5%	positif
8	H	52	Marquage dans 2% des cellules	Positif
9	F	52	Positivité nucléaire dans 40%	Négatif
10	F	53	Positivité nucléaire	Positif

Tableau 3 : résultats d'immunohistochimie

