

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا الحيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : *Génétique Moléculaire*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Etude du profil mutationnel du gène *TP53* chez les patients atteints de gliome dans l'Est Algérien.

Présenté par : DAHMRI Nour El-Houda
KHIROUNIA Cheima

Le 19/06/2023

Jury d'évaluation :

Président du jury : CHAOUI Naouel (Professeur - UFMC 1).

Encadrant : AYACHI Sariyah (Maitre de Recherche - Centre de Recherche en Biotechnologie- CRBt).

Examineur : ZIADA Hadia (Maitre de conférence classe B - UFMC 1).

Année universitaire
2022 - 2023

Nous tenons tout d'abord à remercier du fond du cœur le bon Dieu tout puissant et miséricordieux qui nous a donné la force, le courage et la volonté pour réaliser ce modeste travail ; merci de nous avoir mis sur le bon chemin, merci de nous avoir donné la bonne santé, la patience d'y aller jusqu'au bout.

Remerciements

*Nos remerciements s'adressent particulièrement à **Docteur Ayachi Sariyah Ouarda**, notre promoteur, pour sa générosité et la grande patience dont elle a su faire preuve.*

Votre travail est stressant ; vous ne comptez plus les heures ; et pourtant vous avez toujours été attentive et compréhensive. Nous tenions à vous remercier pour votre engagement à nos côtés, pour votre patience et votre soutien tout au long de ce travail. Nous tenons à exprimer notre reconnaissance envers elle qui a eu la gentillesse de lire et corriger ce travail et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

*Nous tenons à remercier **Professeur CHAOUI.N** et **Docteur Ziada.H** pour l'honneur qu'elles nous ont fait d'être membres du jury et d'examiner et d'évaluer le manuscrit. Pour vos connaissances que vous avez généreusement partagées avec nous. Trouvez ici le témoignage de notre reconnaissance et de notre profond respect.*

*Nous tenons à remercier **Madame Sedrati.K**, responsable du parcours de Master en Génétique moléculaire, On vous remercie de votre savoir-faire, votre soutien moral et gentillesse, votre disponibilité pendant toutes ces années.*

*Nous adressons également nos sincères remerciements au médecin chef du service **d'Anatomie et cytologie pathologique docteur Beddar.L** et au médecin chef du **Centre anti-cancer CAC docteur Ferdi.N du CHU Constantine** qui nous ont beaucoup aidés pour le recrutement des malades, les décharges des blocs et la réalisation de notre partie pratique,*

*Nos vifs remerciements à tous nos enseignants de **la faculté des sciences de la nature et de la vie, de l'université des frères Mentouri Constantine I**, et qui ont pleinement assuré notre formation durant nos années d'études, et qui ont aidés de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.*

Dédicace

Avec le temps et la patience, la feuille du mûrier devient de la soie.

Aujourd'hui, après toutes ces années, je suis honorée et heureuse de dédier ce travail à toutes les personnes qui m'aiment et qui m'ont aidé de près ou de loin à réaliser ce souvenir.

*À ma très chère mère **Fouzia**, autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.*

*À mon très cher père **Djamel**, tant de phrases et d'expressions aussi soit-elle ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé et te protège de tout mal.*

*C'est un moment de plaisir de dédier ce travail à ma moitié et à la meilleure des sœurs **Ines** et **Imene**, mes chères frères **Ramzi** et **Wafi** qui font de mon univers une merveille, je leur souhaite beaucoup de bonheur et de réussite.*

*À mes collègues de promotions dont l'entraide intellectuelle nous a permis d'affronter les difficultés durant notre cursus étudiant et de tisser de très bonnes relations amicales, en particulier mon binôme **Nour el Houda** qui m'a accompagnée avec patience durant la période du travail.*

*Mes adorables ami(e)s avec qui j'ai partagé les meilleurs moments : **Aya**, **Nardjes** et sur tout **Walid**. A Mon moitié **Taqui el Dinne**, je ne peux pas trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, merci de m'a encourager et d'être à mes côtés pendant toutes ces 5 ans.*

Toutes personnes que je n'ai pas citées et qui m'ont aidé de près ou de loin, je les en remercie. Finalement je dédie ce travail à mon encadreur, que j'ai eu le plaisir de connaître, et que j'ai eu l'honneur d'être diplômé avec son aide.

Cheima

Dédicace

Je dédie ce mémoire :

*A ma mère **NAIMA** la plus belle chose dans ma vie, aucune dédicace ne pourrait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance durant mon enfance et même à l'âge adulte.*

*A mon père **ABDERZZAK** pour sa patience, sa confiance et son respect de mes choix, rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.*

*A Ma grande mère **HANIFA** qui m'a laissé un grand vide dans ma vie par son décès j'aurais souhaité sa présence dans ce jour.*

*A mes frères, **AKRAM** et **ISLAM** et Ma sœur **ASMA** et Ma deuxième famille **BARKI**.*

*A mon mari **SALAH DINNE** pour ton amour, sans ton aide, tes conseils et tes encouragements ce travail n'aurait vu le jour, Que dieu réunisse nos chemins pour un long commun serein.*

*A mes amies : Mon binôme **CHEIMA, IMENE, NIHAD** ...*

À tous les étudiants de la promotion 2018/2023.

*A mon encadrant **DR AYACHI**.*

A toutes les personnes qui m'ont donné le courage pour faire ce travail

DAHMRI NOUR EL HOUDA

Table des Matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Revue de Littérature

Chapitre I : Système Nerveux et Tumeurs Cérébrales

I.	Le système nerveux	3
1.	Le système nerveux central.....	4
2.	Le système nerveux périphérique.....	4
II.	Anatomie de système nerveux central	5
1.	L'encéphale	5
1.1.	Le cerveau	5
1.2.	Le cervelet	6
1.3.	Le tronc cérébral.....	6
2.	La moelle épinière	7
III.	Histologie et physiologie du système nerveux central	7
1.	Histologie	7
1.1.	Les neurones	7
1.2.	Les cellules gliales.....	8
1.3.	La matrice extracellulaire	9
1.4.	Les capillaires sanguins	9
2.	Physiologie	9
IV.	Les tumeurs cérébrales	10
V.	Oncogenèse	10
VI.	Les types des tumeurs cérébrales	12
1.	Les tumeurs cérébrales primaires	12
1.1.	Les tumeurs gliales, ou gliomes (tumeurs malignes).....	12
1.2.	Les médulloblastomes (tumeurs malignes)	13
2.	Les tumeurs cérébrales secondaires	13
VII.	Le degré d'agressivité	13
1.	Les tumeurs cérébrales bénignes	13
2.	Les tumeurs cérébrales malignes	13

Chapitre II : Les Gliomes

I.	Définition	14
II.	Classification	14
1.	La classification de 2007	14
2.	La classification de 2016	15
III.	Epidémiologie	16
IV.	Les facteurs de risque	17
V.	Symptômes	18
VI.	Diagnostic	19
1.	L'examen neurologique	20
2.	Les examens radiologiques	20
3.	L'examen hispathologique	20
VII.	Traitement	20
1.	La neurochirurgie	21
2.	La radiothérapie	21
3.	La chimiothérapie	21
VIII.	Pronostic	22

Chapitre III : La génétique des Gliomes

I.	La Génétique des gliomes	23
1.	Mutation de l' <i>IDH</i>	24
2.	Mutation de l' <i>EGFR</i>	24
3.	Mutation du <i>PTEN</i>	25
II.	Le gène <i>TP53</i>	25

Patients et méthodes

I.	Méthodologie	28
II.	Patients et méthodes	28
1.	Critères d'inclusion	28
2.	Critères d'exclusion	28
III.	L'étude moléculaire	28
1.	Echantillons	28
2.	Méthodes	29
2.1.	Extraction d'ADN.....	29
a.	A partir de tissu FFPE	29
b.	A partir du sang	30
c.	Détermination de la concentration, la pureté et de la qualité de l'ADN	30
2.2.	Génotypage de la P53 par PCR-RFLP	31
2.3.	Le séquençage du gène <i>TP53</i>	33
a.	Amplification de l'exon 06	33
b.	Purification des produits de PCR	34
c.	La réaction de séquençage	34
d.	Purification des produits de séquençage	35
e.	Séquençage des plaques sur l'appareil	36
IV.	Analyse statistique	36

Résultats et Discussion

I.	Etude épidémiologique	37
1.	Données démographiques	37
1.1.	Distribution selon l'âge	37
1.2.	Distribution selon le sexe	38
2.	Données cliniques	39
2.1.	Distribution selon localisation	39
2.2.	Distribution selon le type histologique	40
2.3.	Distribution selon le grade	41
II.	Etude moléculaire	41
1.	Résultats de la PCR-RFLP	42
2.	Résultats du séquençage	43

Conclusion et perspectives	47
---	----

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des Abréviations

ADNet : ADN tumorale circulant.

ATRX : Alpha- Thalassemia /Mental Retardation Syndrome, X-linked.

CASP9 : CRISPR zssociated protein 9.

CIC : Capicua transcriptional repressor.

CRBt : Centre de recherche en biotechnologie.

CSG : Cellule Souche Gliale.

CSN : Cellules souches neurales.

EDTA : Ethylene Diamine Tetracetic Acid.

EGFR : Epidermal Growth Factor, Récepteur du Facteur de croissance épidermique.

FFPE : échantillons de tissus fixés au formol et inclus en paraffine.

FUBP1 : Far upstream element binding protein 1.

GBM : Glioblastome.

GBMp : Glioblastome primaire.

GBMs : Glioblastome secondaire.

HE : Hématoxyline-Eosine.

IDH : Isocitrate Déshydrogénase.

IGRT : Radiothérapie guidée par image.

IHC : Immunohistochimiques.

IMRT : Radiothérapie par modulation d'intensité.

IRM : Imagerie par résonance magnétique.

Kb : Kilo base.

LOH : Loss of heterozygosity.

MEC : Matrice extracellulaire.

MgCl₂ : Chlorure de magnésium.

mTOR : The mammalian target of rapamycin.

NCBI : National Center for Biotechnology Information.

NOS : Not otherwise specefied.

NK : Natural killer.

OMS : Organisation mondiale de santé.

Liste des Abréviations

- PCR** : Polymerase chain reaction.
- PBS** : Production brute standard.
- PTEN** : Phosphatase and Tensin homolog.
- PI3K** : Phosphoinositide 3-kinase.
- RTK** : Récepteur tyrosine kinase.
- SAP** : Shrimp Alkaline Phosphatase.
- SB** : Substance blanche.
- SG** : Substance gris.
- SN** : Système nerveux.
- SNC** : Système nerveux central.
- SNP** : Système nerveux périphérique.
- TBE** : Tris Borate EDTA.
- TCA** : Cycle de l'acide tricarboxylique.
- TERTp** : Telomerase reverse transcriptase.
- TMZ** : Témazolamide.
- TP53** : Tumor protein
- TTF** : Tumor Treating Field.
- UV** : Ultra-violets.

Liste des Figures

Figure 01 : Système nerveux central et périphérique.....	3
02 : Schéma représentant les composants du système nerveux.	4
03 : La substance grise et blanche du cerveau.	5
04 : Les lobes cérébraux, le cervelet et le tronc cérébral.	6
05 : La moelle épinière.	7
06 : Structure d'un neurone.	8
07 : Les cellules gliales.....	9
08 : Les caractéristiques d'une cellule tumorale.....	12
09 : Classification de 2016 des tumeurs cérébrales selon l'OMS.....	16
10 : La structure du gène et de la protéine de P53 humain.....	27
11 : Les profils attendus de la digestion enzymatique du <i>TP53</i>	35
12 : La répartition des patients selon les tranches d'âge.	38
13 : La répartition des patients selon le sexe.	39
14 : Répartitions selon l'âge et le sexe.	40
15 : La répartition des patients selon la localisation.	40
16 : La répartition des patients selon l'histologie.	41
17 : La répartition des patients selon le grade.....	42
18 : Le profil de contrôle de la PCR.....	43
19 : Le profil de la digestion enzymatique.	44
20 : Résultat du séquençage d'un échantillon non muté.	45
21 : Résultat du séquençage d'un échantillon muté.	45

Liste des Tableaux

Tableau 01 : Composition du milieu réactionnel de PCR pour l'amplification de l'exon 6 du gène <i>TP53</i>	32
02 : Programme du thermocycleur pour l'amplification de l'exon 6 du gène <i>TP53</i> ...	33
03 : Composition du milieu réactionnel pour le séquençage de l'exon 6 du gène <i>TP53</i>	35
04 : Programme du thermocycleur pour la réaction de séquençage	36

Introduction

Introduction

Introduction :

Un cancer du système nerveux central est une masse plus ou moins volumineuse au niveau du cerveau ou de la moelle épinière, due à une multiplication incontrôlée de cellules de ces organes. Le plus souvent, ces cancers se développent à partir des cellules gliales et portent le nom de gliome.

Les gliomes sur le plan clinique constituent un ensemble de néoplasies rares, avec un pronostic sombre. Ces tumeurs envahissent généralement les tissus cérébraux voisins, ce qui rend leur résection chirurgicale complète extrêmement difficile.

Les gliomes présentent une variation importante à travers les régions du monde en termes d'incidence et de mortalité, environ 26% de ces tumeurs et ont une incidence annuelle mondiale de 13/100000 habitants. Grâce aux nombreuses études réalisées majoritairement dans les pays développés, les connaissances sur les gliomes ont notablement évolué. Néanmoins, les données épidémiologiques et étiologiques sur ces tumeurs dans les pays sous-développés restent limitées [1].

La classification des gliomes de 2007 est basée sur l'analyse histologique qui comprend 4 types (astrocytome, oligodendrogliome, ependymome et glioblastome). Tandis que celle de 2016 se base sur l'intégration de l'analyse moléculaire pour identifier les aberrations chromosomiques et les mutations génétiques dans l'analyse histologique, ce qui permet de déterminer le type de tumeur et de prédire son comportement.

La génétique des gliomes est complexe avec de nombreux remaniements chromosomiques et modifications moléculaires. Les études génétiques menées ces dernières années, ont permis de révéler, en partie, la signification clinique et biologique de ces altérations moléculaires qui dans la majeure partie sont non aléatoires.

Les causes de ce cancer restent mal connues. Dans de rares cas, une tumeur du cerveau peut être le résultat d'une exposition à certains produits toxiques utilisés dans le cadre d'une activité professionnelle.

L'exposition aux rayonnements ionisants et les syndromes génétiques rares tels que Turcot, Li-Fraumeni et la Neurofibromatose ont, jusqu'à récemment, été les seuls facteurs de risque confirmés pour les tumeurs cérébrales [2] [3]. A présent, des preuves de l'association entre rayonnements non ionisants, comme l'utilisation abusive du téléphone mobile et le

Introduction

risque de développer un gliome sont fournies [4] [5], et des facteurs potentiels d'origine virale à l'instar de la rougeole [6] ou le cytomégalovirus (CMV) [7] ont été identifiés.

Les gliomes représentent un défi majeur dans le domaine de la recherche médicale en raison de leur complexité et de leur impact significatif sur la santé humaine. En tant que tumeurs cérébrales agressives, les gliomes ont suscité une attention considérable en raison de leur pronostic sombre et de leur résistance aux traitements conventionnels. Par conséquent, l'étude des gliomes revêt une importance capitale pour comprendre leur biologie, leur progression et développer de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Notre étude se base sur une population de patients de l'Est Algérien atteints de gliomes et admis au niveau du Centre Hospitalo-Universitaire Ibn Badis Constantine (CHUC). Elle porte sur deux objectifs distincts :

- Une étude épidémiologique menée sur les dossiers des patients atteints de gliome admis au service d'Oncologie-Radiothérapie du Centre Anti Cancer (CAC) entre 2017 et 2021 dans le but d'établir un profil épidémiologique et clinique.
- Une étude génétique sur ADN leucocytaire et des blocs des tissus FFPE qui vise à rechercher des mutations du gène *TP53*.

*Revue de
Littérature*

Chapitre I :
Systeme
Nerveux et
Tumeurs
Cérébrales

I. Le système nerveux (SN) :

Le cerveau est un organe du tissu nerveux responsable des réponses, des sensations, des mouvements, des émotions, de la communication et du traitement de la pensée et de la mémoire. La protection du cerveau humain provient du crâne, des méninges et du liquide cérébro-spinal [8].

Le SN est un réseau complexe de nerfs et de cellules nerveuses qui permet à un organisme d'interagir avec son environnement, et peut s'adapter à des situations jamais rencontrées auparavant grâce à la plasticité des cellules existantes, mais il a également été démontré que les cellules souches neurales (CSN) sont plastiques et impliquées dans la création de nouvelles connexions dans l'adaptation et la réponse aux blessures [9].

Le système nerveux se compose de deux parties distinctes mais reliées entre elles (Figure 01) :

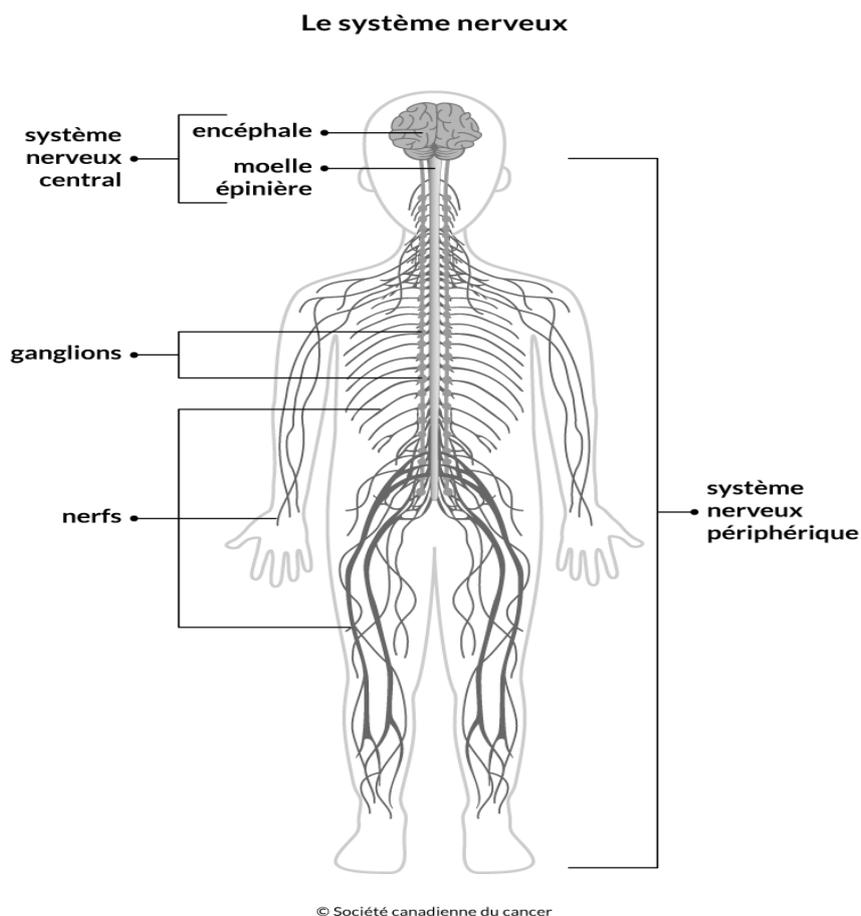


Figure 01 : Système nerveux central et périphérique (web1).

1. Le système nerveux central :

Le système nerveux central (SNC) est constitué de deux structures principales qui sont en continuité l'une avec l'autre : l'encéphale et la moelle spinale, ils sont enveloppés et protégés par trois couches de méninges, et enfermés dans deux structures osseuses ; le crâne et la colonne vertébrale, respectivement. L'encéphale comprend le cerveau, le tronc cérébral et le cervelet. La moelle épinière quant à elle, continue de façon inférieure à partir du tronc cérébral et s'étend à travers le canal vertébral [10] [11].

Le SNC est responsable d'organiser, de contrôler et de réguler des fonctions essentielles de l'organisme (la motricité, l'équilibre, la perception) et les fonctions intellectuelles notamment les émotions et le comportement, ainsi que le fonctionnement des organes à l'instar de l'intestin ou la vessie...etc. [12].

2. Le système nerveux périphérique :

Le système nerveux périphérique (SNP) est la partie du système nerveux qu'est formée de ganglions et des nerfs à l'extérieur des cavités crâniennes et vertébrales, Il est responsable de diriger les mouvements volontaires du corps comme la marche, ainsi que les fonctions involontaires, celles que le corps contrôle lui-même, comme la respiration et la digestion.

Le SNP est constitué d'un système somatique et un système autonome qui contient à son tour un système sympathique et para sympathique [13] (**Figure 02**).

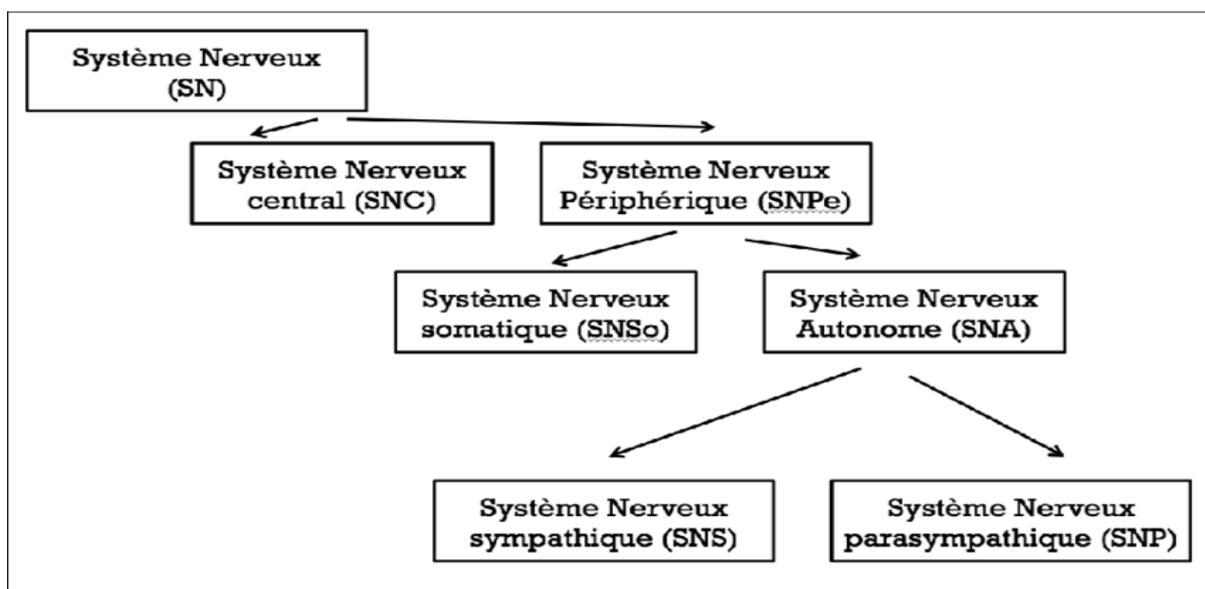


Figure 02 : Schéma représentant les composants du système nerveux (Claisse C, et al, 2017).

II. Anatomie du Système nerveux central :

1. L'encéphale :

L'encéphale représente la partie majeure du cerveau humain et est associé à des fonctions supérieures comme le contrôle des comportements volontaires : penser, percevoir, planifier, et comprendre un langage. Il comprend trois parties : le cerveau, le tronc cérébral et le cervelet [15].

1.1. Le cerveau :

Le cerveau humain est l'organe le plus complexe, avec une masse d'environ 1,3 kg. Il est principalement composé d'une substance grise (SG) appelée cortex cérébral, qui contient des milliards de neurones. Sous le cortex se trouve la substance blanche (SB) cérébrale, qu'est constituée de gaines de myéline enveloppant les axones afin d'accélérer la conduction neuronale [15] (**Figure 03**).

Le cortex cérébral se développe plus rapidement que la SB sous-jacente, ce qui entraîne la formation de replis dans la région corticale.

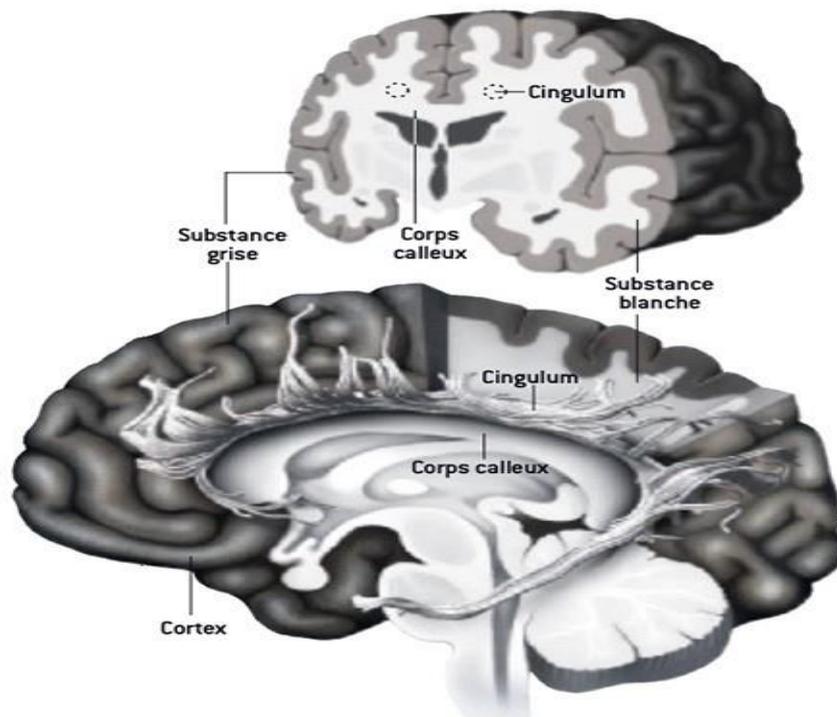


Figure 03 : La substance grise et blanche du cerveau (Ishibashi T, et al, 2006).

Les rainures profondes qui séparent les replis sont appelés fissures et les rainures superficielles portent le nom de sillons.

La fissure longitudinale divise le cerveau en hémisphères droit et gauche, chaque hémisphère est lui-même partagé en quatre lobes [17] (**Figure 04**) :

- **Le lobe frontal** : impliqué dans l'initiation et la coordination des mouvements.
- **Le lobe pariétal** : intervient dans les processus sensoriels, l'attention et le langage.
- **Le lobe temporal** : prend part dans l'information visuelle.
- **Le lobe occipital** : un rôle dans l'encodage des informations auditives et dans l'intégration des informations.

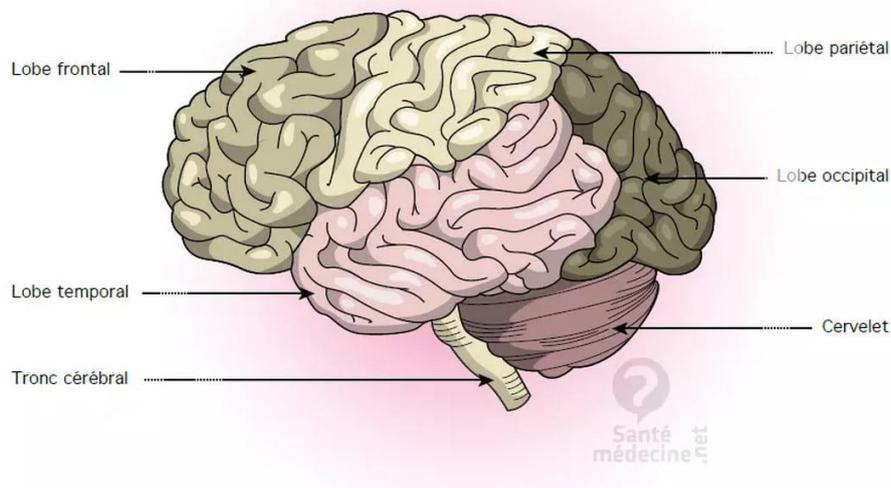


Figure 04 : Les lobes cérébraux, le cervelet et le tronc cérébral (**web2**).

1.2. Le cervelet :

Le cervelet est une partie importante de l'encéphale, situé à l'arrière du tronc cérébral et considéré comme la deuxième structure la plus importante du cerveau (**Figure 04**). Sa fonction principale est la coordination des mouvements et le contrôle de l'équilibre et de la posture. En outre, le cervelet joue un rôle crucial dans les processus d'apprentissages associatifs, tels que les apprentissages pavloviens [17].

1.3. Le tronc cérébral :

Le tronc cérébral est une structure qui assure la liaison entre le cerveau et la moelle épinière, et qui est composé de centres nerveux dédiés à la régulation de fonctions involontaires fondamentales telles que la respiration (**Figure 04**). Il joue un rôle crucial dans la transmission des influx nerveux entre la moelle épinière et les hémisphères cérébraux, permettant ainsi la coordination et l'intégration des fonctions sensorielles et motrices de l'organisme.

2. La moelle épinière :

La moelle épinière est une extension du cerveau dans la colonne vertébrale, elle constitue l'interface entre le corps (sensation et motricité) et les centres supérieurs du SNC, elle est rattachée au tronc cérébral et est protégée la colonne vertébrale [18] (**Figure 05**).

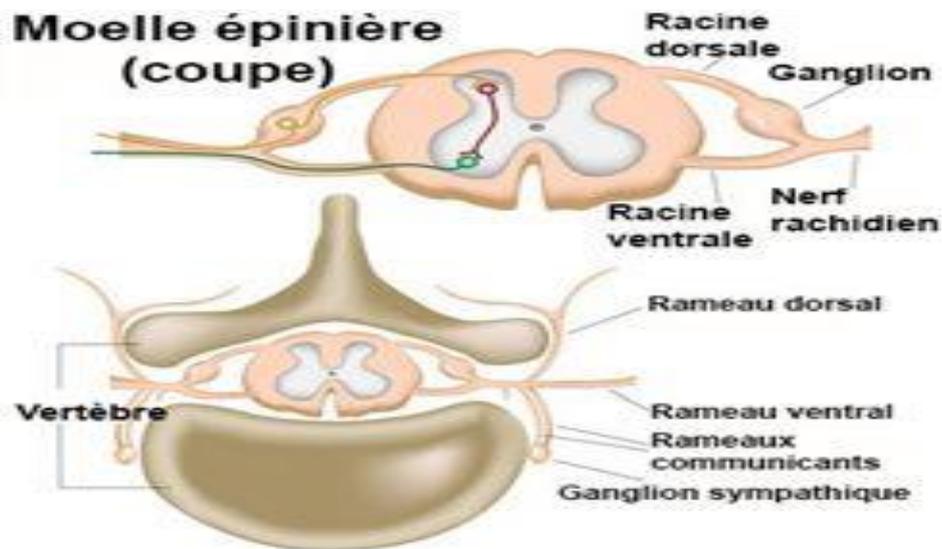


Figure 05 : La moelle épinière (web3).

III. Histologie et physiologie du système nerveux central :

1. Histologie :

Le système nerveux central avec sa grande complexité, n'est constitué au niveau cellulaire que de deux grands types : les neurones et les cellules gliales, liés et nourris par une matrice extracellulaire (MEC) et des capillaires sanguins [18].

1.1. Les neurones :

Les neurones (ou cellules nerveuses) se situent dans la substance grise et sont dotées d'activités fonctionnelles plus variées suivant leur localisation et sont hautement différenciées et spécialisées dans la communication intercellulaire, ils reçoivent, traitent et transmettent des informations codées sous la forme de signaux ou influx nerveux [19] (**Figure 06**).

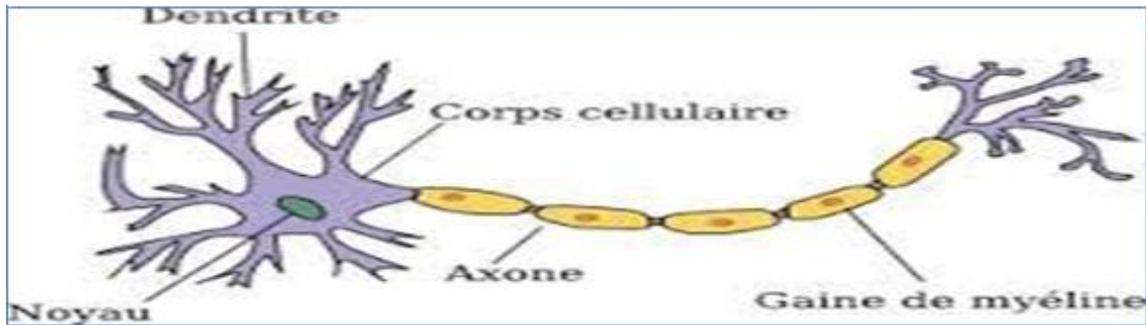


Figure 06 : Structure d'un neurone (Poirier J, 2008).

1.2. Les cellules gliales :

Les cellules gliales (cellule névroglie, de névroglie ou de glie) sont les cellules les plus nombreuses du système nerveux qui dérivent du neuroectoderme (astrocytes, oligodendrocytes, épendymocytes) ou de la moelle osseuse hématopoïétique (microglie), qui assurent le support physique et le soutien nutritionnel des neurones [20] (**Figure 07**).

Il en existe 4 types de cellules gliales dans le SNC :

- a. **Les astrocytes** : les principales cellules gliales qui ont une morphologie étoilée –d'où leur nom– du fait des nombreux prolongements cytoplasmiques, trouvée dans la SG et SB du SNC, ils régulent les mouvements de fluides, participent à la formation/fonction de la barrière hémato-encéphalique, supportent les axones et éliminent l'excès de neurotransmetteurs sécrétés [20].
- b. **Les oligodendrocytes** : possèdent un corps cellulaire de petit volume d'où partent quelques prolongements cytoplasmiques, situés dans la matière grise au niveau des corps des neurones, ils effectuent des échanges métaboliques, et la matière blanche qui élaborent la myéline du SNC [20].
- c. **Les cellules épendymocytes** : sont des cellules épithéliales cubiques/cylindriques ciliées qui assurent le revêtement des cavités ventriculaires du SNC et jouent un rôle dans les échanges entre le SNC et le liquide cérébro-spinal contenu dans ces cavités.
- d. **Les cellules microglies** : dérivent des monocytes du sang ayant pénétré dans le SNC, ont une forme allongée, ils sont les principales cellules présentatrices de l'antigène et participent à l'inflammation et la réparation du SN [20].

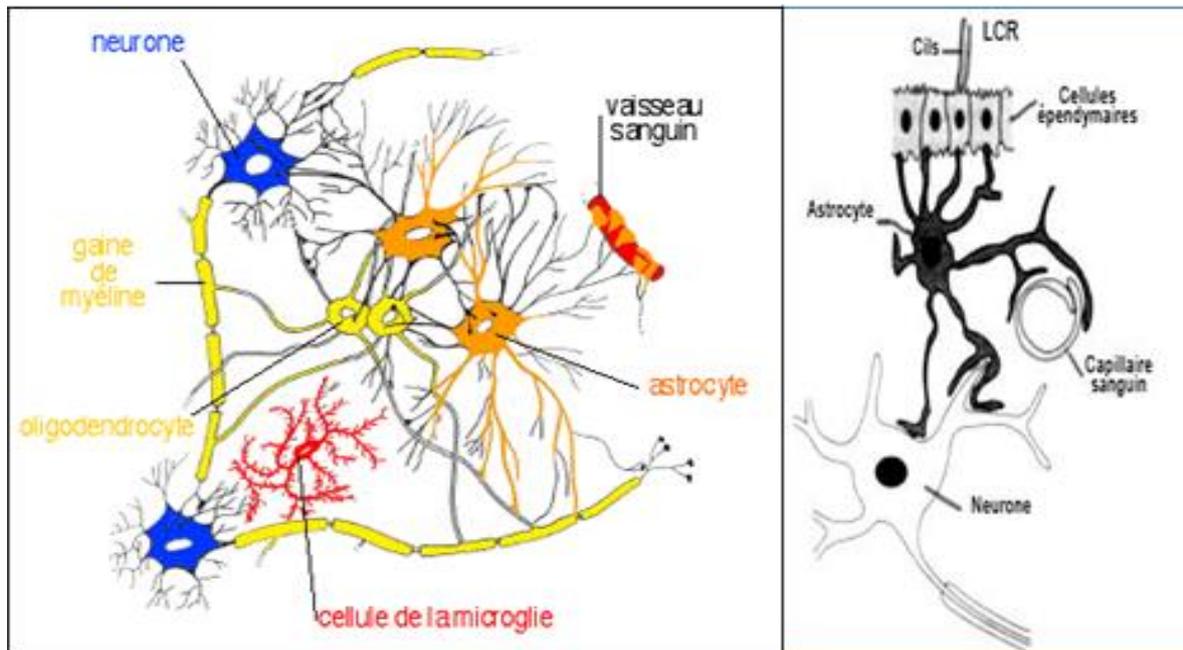


Figure 07 : Les cellules gliales (Poirier J, et al, 2008).

1.3. La matrice extracellulaire :

Les cellules du SNC ont un espace extracellulaire contenant un gel protéique fluide (MEC) qui représente 20 à 30% du volume tissulaire total. Elle contient des protéines, glycoprotéines et protéoglycanes et a un rôle fondamental dans les échanges entre les neurones qui n'ont aucun contact direct avec les capillaires sanguins et le sang [20].

1.4. Les capillaires sanguins :

Les capillaires sanguins ont un rôle essentiel dans la restriction des échanges entre le sang et le SNC et apportent les éléments nutritifs et de l'oxygène [20].

2. Physiologie :

Le cerveau représente 2% du poids corporel, au repos il consomme 20% de l'approvisionnement énergétique du corps. Si le cerveau effectue une tâche, la consommation d'énergie augmente de 5% supplémentaires. Ce fait montre que la majeure partie de la consommation d'énergie du cerveau est utilisée pour des fonctions intrinsèques [21].

Dans le cerveau en développement, les neurones suivent les signaux moléculaires des cellules régulatrices comme les astrocytes pour déterminer leur emplacement, le type de neurotransmetteur qu'ils vont sécréter et avec quels neurones ils vont communiquer, conduisant à la formation d'un circuit entre les neurones qui sera en place à l'âge adulte.

Dans le cerveau adulte, les neurones développés s'adaptent à leur place correspondante et développent des axones et des dendrites pour se connecter aux neurones voisins [22].

Les neurones communiquent entre eux via des neurotransmetteurs libérés dans l'espace synaptique, le neurone qui libère le neurotransmetteur dans l'espace synaptique c'est le neurone présynaptique, et le neurone qui reçoit le neurotransmetteur c'est le neurone postsynaptique [23].

Les oligodendrocytes du SNC produisent de la myéline qui forme des gaines isolantes autour des axones pour permettre le déplacement rapide des impulsions électriques à travers les axones. Il y a des zones sur les axones qui n'ont pas de couverture de myéline (nœuds de Ranvier) et par conséquent la transmission du flux nerveux se passe d'une manière plus lente [24].

IV. Les tumeurs cérébrales :

Une tumeur en générale est une grosseur ou bien une masse plus ou moins volumineuse d'un groupe des cellules due à l'accumulation d'anomalies génétiques qui procurent aux cellules une capacité de division et de multiplication de façon désordonnée et incontrôlée, elle peut se localiser dans n'importe quelle partie du corps [25].

Une tumeur cérébrale est une croissance cellulaire dans le cerveau progressant rapidement de façon incontrôlée, qui peut être de nature bénigne (pas cancéreuse) ou maligne (cancéreuse). Elle peut être d'origine cérébrale (primitive) ou avoir envahi le cerveau après s'être développée dans une autre région de l'organisme (secondaire). Ces tumeurs sont un peu plus fréquentes chez les hommes que chez les femmes, et peuvent se développer à tout âge [26].

V. Oncogenèse :

L'oncogenèse fait intervenir un déséquilibre entre les proto-oncogènes et les suppresseurs de tumeurs. Les lymphocytes *natural killer* (NK) qui constituent la première ligne de défense contre la prolifération tumorale perdent tout contrôle face à ces cellules. D'autres mécanismes interviennent au cours de la transformation cellulaire comme l'échappement à l'apoptose et l'angiogénèse, la libération de facteurs de croissance tumorale et l'essaimage de cellules cancéreuses dans la circulation [27].

Les recherches sur les cellules pouvant subir une mutagenèse pour initier un cancer indiquent que les cellules souches neurales (NSC), les précurseurs d'oligodendrocytes et les astrocytes ont tous la capacité de proliférer, suite à l'accumulation de mutations, induisant une tumorigenèse. De même, le profilage monocellulaire des oligodendrogliomes humains a révélé que les cellules cancéreuses sont constituées d'un mélange de cellules progénitrices de la lignée d'oligodendrocytes et d'astrocytes ainsi que de progéniteurs de type souche non différenciés qui sont très proliférantes et sont responsables de la croissance de la tumeur [27].

Les études antérieures ont révélé que la Cellule Souche Gliale (CSG) se situe au sommet de la hiérarchie tumorale et qu'elle est responsable de la génération de cellules de gliome qui peuplent la tumeur globale. La manière dont elle produit la vaste constitution cellulaire associée au gliome reste donc mal définie. Il est possible que les mutations génétiques, associées à des pressions sélectives, produisent une population de CSG qui a coopté les identités de cellules souches neurales et gliales. Alternativement, il est possible que la population globale des CSG se compose de plusieurs sous-populations ayant des propriétés distinctes de type glial et NSC.

Récemment, il a été démontré que les NSC de la zone sub-ventriculaire sont les cellules d'origine qui contiennent les mutations initiatrices du glioblastome. Elles migreraient de la zone sub-ventriculaire pour conduire au développement des tumeurs dans des régions cérébrales éloignées. Le foyer anatomique ainsi que les cellules initiatrices des autres types de gliomes restent encore mal connus [27].

La tumorigenèse, ou la transformation d'une cellule saine en une cellule tumorale, est un processus qui se fait en plusieurs étapes résumées dans la figure ci-dessous (**Figure 08**) :

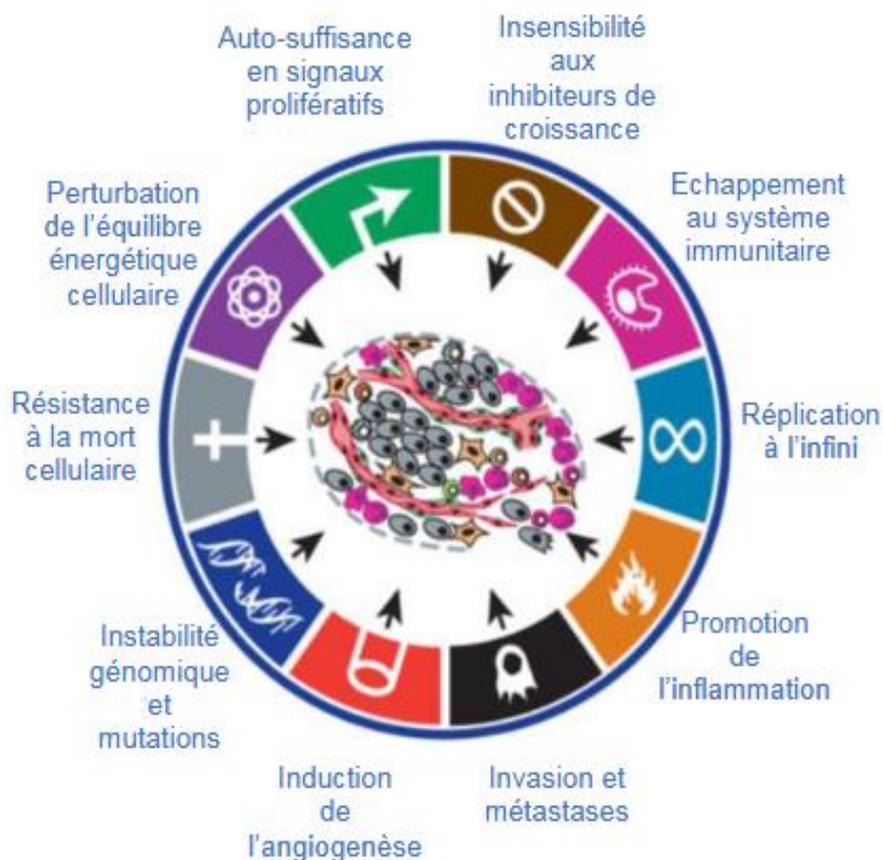


Figure 08 : les caractéristiques d'une cellule tumorale (Hanahan De, et al. 2011).

VI. Les types des tumeurs cérébrales :

1. Les tumeurs cérébrales primaires :

Les tumeurs cérébrales primaires, représentent 1% des cancers et sont la première cause de mortalité des pathologies tumorales, elles se développent dans les cellules spécialisées qui constituent le cerveau et son enveloppe et elles peuvent être bénignes ou malignes [29].

Parmi les tumeurs malignes les plus fréquentes on retrouve :

1.1. Les tumeurs gliales, ou gliomes :

Elles représentent 50 à 60 % de l'ensemble des tumeurs cérébrales, se forment à partir des cellules gliales intervenant comme structure de soutien des cellules nerveuses (neurones) [29].

1.2. Les médulloblastomes :

Elles se développent à partir de la moelle épinière au stade embryonnaire, et sont les tumeurs cérébrales les plus courantes chez les enfants [29].

2. Les tumeurs cérébrales secondaires :

Les tumeurs secondaires ou métastatiques sont malignes et proviennent d'autres organes tel que les poumons, les seins, les reins, la peau où existe un cancer et dont les cellules tumorales ont migré vers le cerveau et s'y multiplient, les cellules tumorales sont transportées par le sang et se développent le plus souvent à la jonction entre la SB et SG du cerveau, ces tumeurs sont plus fréquentes que les tumeurs primaires [29].

Les cellules du cerveau les plus impliquées dans le développement des tumeurs malignes, sont les cellules gliales (gliomes), qui n'entraînent jamais de métastases dans d'autres organes.

VII. Le degré d'agressivité :

Les tumeurs cérébrales sont classifiées en fonction de leur agressivité, certaines sont peu agressives. Elles sont constituées des cellules qui croissent lentement et qui, à l'analyse microscopique, n'ont pas de caractère d'activité importante [30].

1. Les tumeurs cérébrales bénignes :

Peut-être simplement surveillées radiologiquement où être extirpées chirurgicalement complètement ou de façon partielle [30].

2. Les tumeurs cérébrales malignes :

Définissent certaines tumeurs primaires ainsi que toutes les lésions cérébrales métastatiques, elles sont constituées des cellules qui se divisent relativement vite. Ces tumeurs croissent donc rapidement et peuvent envahir et endommager des structures cérébrales importantes, elles peuvent être traitées par la chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie ou une combinaison de celles-ci [30].

Chapitre II

Les Gliomes

I. Définition :

Les gliomes sont des tumeurs cérébrales malignes primitives infiltrantes très diffuses qui affectent le tissu cérébral environnant, elles sont la forme la plus courante de néoplasme du SNC qui provient des cellules souches ou progénitrices neurogliales du cerveau et de la moelle épinière, et aussi la forme la plus maligne et agressive des tumeurs cérébrales. Les gliomes représentent la majorité des décès liés au cancer du cerveau [31].

II. Classification :

La classification des gliomes est basée sur l'analyse histologique et moléculaire, ce qui permet de déterminer le type de tumeur et de prédire son comportement.

1. La classification de 2007 :

La précédente classification, selon l'Organisation Mondiale de la santé OMS 2007, des tumeurs du SNC était basée sur la ressemblance microscopique des cellules tumorales avec un constituant du tissu cérébral normal et leur degré de différenciation. Cette caractérisation était fondée sur des critères morphologiques en coloration standard (Hématoxyline-Eosine, HE), souvent complétés par des études immunohistochimiques (IHC), voire ultra structurales [32] (**annexe 01**).

- **Les gliomes de grade I :** il s'agit des seuls gliomes bénignes qui ont tendance à se développer lentement, elles sont généralement localisées dans une zone spécifique du cerveau et peuvent souvent être retirées chirurgicalement car ils sont bien limités [33]. Les types histologiques courants de ce grade sont le **pilocytome**, **l'astrocytome fibrillaire** et **l'oligodendrogliome**.
- **Les gliomes de grade II :** sont en réalité des gliomes malignes, lentement évolutifs mais dont l'évolution vers un gliome de grade III ou IV [33]. Ils sont d'emblée très infiltrants, si bien que leur exérèse complète est impossible. Néanmoins, une chirurgie maximaliste permet de retarder le virage à l'anaplasie et augmente la durée de survie globale [34]. Les types histologiques courants de ce grade sont **l'astrocytome diffus**, **l'oligodendrogliome anaplasique** et le **mixte oligoastrocytome**.
- **Les gliomes de grade III :** sont appelés gliomes anaplasiques, car ils ont des cellules tumorales anormales et une croissance plus rapide que les gliomes de grade I ou II [35]. Les types histologiques courants de ce grade sont **l'astrocytome anaplasique** et **l'oligodendrogliome anaplasique**.
- **Les gliomes de grade IV :** correspondent aux glioblastomes multiformes, considérés

comme les plus agressifs et les plus difficiles à traiter, Ils sont caractérisés par une par des cellules tumorales anormales, une croissance rapide et une prolifération importante des vaisseaux sanguins [36]. Les types histologiques courants des glioblastomes multiformes sont le **glioblastome astrocytaire** et le **glioblastome oligodendroglial**.

2. La classification de 2016 : (Annexe 02)

Suite aux avancées majeures de ces dernières années, la nouvelle classification OMS 2016 des tumeurs du SNC ne se base plus seulement sur des critères morphologiques, mais incorpore également des paramètres moléculaires aboutissant à un « **diagnostic intégré** » en plusieurs strates, pour définir des groupes tumoraux homogènes en termes de pronostic et de réponse au traitement, les données de la littérature montrent que la classification moléculaire est mieux corrélée avec l'évolution clinique que celle histologique, notamment pour les gliomes [37].

En plus de la classification basée sur la morphologie, l'analyse moléculaire des gliomes est devenue de plus en plus importante pour la classification et la prédiction du comportement des tumeurs (**Figure 09**). La présence ou l'absence de mutations génétiques spécifiques peut aider à prédire le potentiel de croissance et le pronostic des gliomes. Par exemple, les gliomes portant une mutation *IDH1* ou *IDH2* sont généralement associés à une survie prolongée et à une réponse accrue à certains traitements [38].

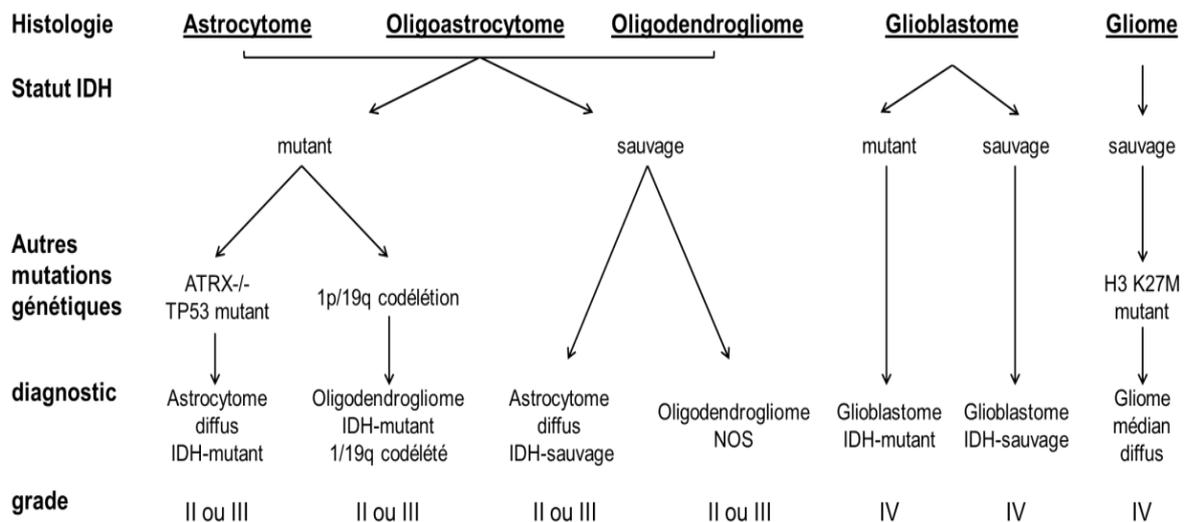


Figure 09 : Classification de 2016 des tumeurs cérébrales selon l’OMS (Louis, D.N., et al 2016).

Si une tumeur tester ne rentre pas dans l'une des catégories bien définies et le teste moléculaire d'IHC ne donne pas des résultats une « **not otherwise specefied NOS** » apparaitre dans la classification.

En conclusion, la classification des gliomes est essentielle pour déterminer le type de tumeur et prédire son comportement, ce qui peut également avoir un impact sur le traitement et le pronostic. Bien que la classification histologique soit la méthode traditionnelle pour classer les gliomes, l'analyse moléculaire est devenue de plus en plus importante pour améliorer la précision de la classification et à mieux prédire le comportement de la tumeur.

III. Epidémiologie :

Les gliomes présentent des variations importantes à travers le monde en termes d'incidence et de mortalité. Les taux les plus importants sont enregistrés dans les régions les plus développées et sont plus bas dans les pays en voie de développement. Dans une dernière étude en 2020, une différence de 5 fois entre les taux d'incidence des tumeurs du SNC les plus élevés (principalement en Europe) et les plus faibles (principalement en Asie) a été observée qu'est due d'une part à la modeste couverture par les registres du cancer des populations africaine 11% et asiatique 8% et d'autre part au degré de développement économique, aux facteurs sociaux, au mode de vie associés, à l'insuffisance des moyens de diagnostic ou à l'inexactitude de l'attribution de la cause de mort [40] [41].

Dans le monde occidental, les gliomes représentent environ un tiers de toutes les tumeurs primaires du SNC et près de 80% des tumeurs malignes, et selon Globocan 2020 l'Asie représentent l'incidence la plus élevée avec un taux de 54,17% contrairement en Afrique ou enregistre une fréquence de 5,92 % [42].

Les gliomes sont le plus fréquent groupe de tumeurs cérébrales malignes du SNC chez les adultes. Comparés aux autres cancers, ils sont relativement rares et de mauvais pronostic, ils représentent 1,6 % des nouveaux cancers et 2,5 % des décès par cancer dans le monde avec 308.102 nouveaux cas et 251.329 décès en 2020 [43].

En Algérie, et selon Globocan 2020, ces tumeurs sont classées en 10^{ème} position en termes d'incidence et en 7^{ème} en termes de mortalité avec 1.777 nouveaux cas (3%) et 1.478 décès (4,5%) du total dû aux cancers [40].

Les résultats d'une étude [43] ont montré que l'incidence globale des gliomes et des

différents types histologiques est plutôt stable. Cette dernière diffère significativement en fonction du type histologique, de l'âge au moment du diagnostic, du sexe, de la race et du pays, et ces tumeurs sont plus fréquentes chez les hommes d'environ 30% par rapport aux femmes [2].

L'incidence des tumeurs gliales est la plus élevée chez les adultes de plus de 40 ans. Indépendamment de l'âge, les taux les plus élevés de celle-ci sont enregistrés en Australie [44].

La survie des patients constitue un élément essentiel de l'épidémiologie des gliomes du fait des taux élevés de mortalité, elle dépend essentiellement de l'âge au moment du diagnostic et du type histologique. Les enfants et les jeunes adultes ont globalement une meilleure survie tout comme les patients avec oligodendrogliomes. A l'opposé, les glioblastomes et les épendymomes montrent de faibles taux aussi bien chez les enfants que chez les adultes.

La survie à 5 ans pour le plus fréquent des gliomes, le GBM, est de 5,5 %, elle est de plus de 70 % pour les gliomes de bas grade, et décroît avec l'âge dans les gliomes malignes [2] [40] [45] [46].

IV. Les facteurs de risque :

Les gliomes et les tumeurs du SNC en général se distinguent des autres néoplasies par le peu de facteurs exogènes identifiés comme facteurs de risque.

L'exposition aux rayonnements ionisants, paradoxalement utilisés pour le traitement de ces tumeurs, était jusqu'à récemment le seul facteur de risque confirmé pour ces tumeurs [2] [3]. Il a été démontré que même de faibles doses de rayonnement thérapeutique augmentent le risque de tous les gliomes de trois fois. Toutefois, l'effet des expositions diagnostiques aux rayonnements (TDM ou IRM) sur le développement des tumeurs cérébrales demeure incertain [44].

Les rayonnements non ionisants tels les radiofréquences ont été déclarés en 2011, par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) de l'OMS, comme « potentiellement cancérigène pour l'homme » [47]. Cependant, les résultats d'études publiées restent contradictoires.

Certaines ont fourni des preuves de l'association entre l'utilisation abusive du

téléphone mobile et d'autres équipements sans fil et le risque de développer un gliome [4] [5], les observations ont même montré que le risque accru était dans le lobe temporal et qu'il augmentait avec la latence [48]. D'autres études affirment qu'il n'y a aucune augmentation de l'incidence [49] ou diminution de la survie [50] liée à l'utilisation du téléphone portable.

Plusieurs facteurs de risque viraux potentiels pour les tumeurs cérébrales, ces virus, ainsi que ceux du simien 40 et de la varicelle-zona (VZV) font l'objet de nombreuses études sans que leur association avec les gliomes ne soit validée pour le moment [44].

Une association inverse d'antécédents d'allergies et d'asthme avec les gliomes a été décrite dans de nombreuses études épidémiologiques au cours des 3 dernières décennies. Les allergies, les conditions atopiques (asthme, rhume de foin, eczéma et allergies alimentaires) et des niveaux plus élevés d'immunoglobuline E sont associés à un risque plus faible de gliome, et l'ampleur de la réduction varie généralement de 20 à 40% du risque.

Plusieurs mécanismes potentiels pour cet effet protecteur ont été proposés, notamment ; une surveillance accrue par le système immunitaire inné, une similitude entre les anticorps et les antigènes des tumeurs cérébrales, ou une efficacité accrue de la réponse aux cancérogènes environnementaux [2][3][51].

Jusqu'à récemment, aucune preuve claire de l'association entre les gliomes et les facteurs de risque connus (tabac, facteurs alimentaires, expositions industrielles...) pour les cancers n'a été établie [51]. A présent, des études à grande échelle commencent à faire ressortir des évidences du lien entre tumeurs gliales et certains facteurs comme la cigarette, l'alcool, la taille et l'obésité infantile extrême [52] [53].

A côté de tous les facteurs précités, il existe des syndromes génétiques héréditaires rares prédisposant au gliome, notamment la neurofibromatose de type 1 et 2, la sclérose tubéreuse, le syndrome de Li-Fraumeni et le syndrome de Turcot. Ces syndromes pris ensemble ne représentent que 1% de tous les cas de gliome adulte, même si chez les enfants, ils sont légèrement plus fréquents. La plupart des cas de gliomes ne peuvent donc, être expliqués par des causes endogènes ou exogènes [2] [3] [54] [55].

V. Symptômes :

La présentation clinique des gliomes varie en fonction du comportement, la localisation, et la taille de la tumeur dans le SNC. La croissance tumorale progressive entraîne

des modifications neurocognitives et de déficits neurologiques focaux rares ou même une augmentation de la pression intracrânienne [56].

Les gliomes de bas grade présentent une apparition insidieuse sur une période de plusieurs mois ou des crises épileptiques présentés dans environ 30% des gliomes, tandis que les gliomes de haut grade, se manifestant généralement par des symptômes qui évoluent plus rapidement [56].

Il est possible d'observer généralement les signes et les symptômes au moment du premier diagnostic ou ultérieurement, durant l'évolution de la maladie. Les tumeurs situées dans ou qui sont sous-jacentes à des régions corticales se manifestent par des symptômes se rapportant aux fonctions des régions cérébrales touchées. Les patients peuvent présenter des troubles moteurs ou sensoriels progressifs, un dysfonctionnement du langage, des anomalies du champ visuel ou des crises focales.

Les tumeurs qui apparaissent dans le tronc cérébral peuvent provoquer des neuropathies crâniennes à progression rapide, ainsi que des déficits moteurs et sensoriels. Les déficits neurologiques, perte de mémoire, du contrôle émotionnel, d'inhibition ou/et changements de personnalité. À mesure que la taille de la tumeur augmente, l'œdème entourant la tumeur augmente, entraînant une augmentation de la pression intracrânienne et des maux de tête avec vomissements [57].

Des mouvements incontrôlés des yeux peuvent être les signes que la maladie évolue dans le cervelet. L'apparition du gliome dans la moelle épinière peut se traduire par des douleurs, un engourdissement ou une faiblesse de la partie inférieure du corps, parfois accompagnés d'une perte de contrôle de la vessie et des intestins [58] [59].

Certains patients peuvent avoir des convulsions surtout avec les tumeurs à évolution lente, des tremblements ou des contractions musculaires dans la main, le bras ou la jambe, cependant, ces convulsions peuvent aussi toucher l'ensemble du corps, avec des mouvements assez violents et incontrôlables, accompagnés parfois d'une perte de conscience [59].

VI. Diagnostic :

La persistance de certains symptômes inhabituels comme des maux de tête, des troubles digestifs ou des douleurs dans les membres représente un motif de consultation médicale. Mais, dans la majorité des cas, les gliomes cérébraux sont découverts lorsque les

signes cliniques deviennent plus importants : crises d'épilepsie, trouble de la motricité, trouble de la vue, trouble du comportement...

La détection d'une tumeur cérébrale repose sur plusieurs types d'examen :

1. L'examen neurologique :

Se représente par un questionnaire détaillé sur les signes et les symptômes afin de connaître les antécédents familiaux. Suivi d'un contrôle de vision, audition, coordination et réflexes. Des problèmes dans l'un ou l'autre de ces domaines donnent une indication sur la partie du cerveau affectée par un gliome [60].

2. Les examens radiologiques :

Aident à déterminer la position et la taille de la tumeur par le scanner qui a un taux d'efficacité avoisinant 80 %, mais pour les tumeurs plus difficile à détecter, on utilise le plus souvent l'imagerie par résonance magnétique (IRM) [60].

3. L'examen histopathologique :

Il s'agit d'une intervention neurochirurgicale, la biopsie permet de recueillir un échantillon de la lésion pour pouvoir l'examiner afin de confirmer formellement le diagnostic ainsi que le grade de gliome suspecté [60].

En fin, pour établir un diagnostic définitif, les médecins ont besoin d'analyser un échantillon de la tumeur, qui va fournir des informations sur le type de la tumeur et analyser les caractéristiques moléculaires de la tumeur, ce qui peut aider à choisir le traitement optimal pour chaque patient.

VII. Traitement :

Le traitement des gliomes est difficile en raison de la proximité des organes à risque, de leur nature infiltrant et de leur faible radiosensibilité.

Au cours des trois dernières décennies, les trois principales composantes du traitement des gliomes infiltrant, à savoir la résection chirurgicale maximale, la radiothérapie externe et la chimiothérapie, sont restées les mêmes [61]. Toutefois, plusieurs nouvelles méthodes de traitement adjuvant, notamment l'immunothérapie, la thérapie moléculaire ciblée, la thérapie par virus oncolytique, la thérapie par cellules souches et la thérapie par champ électrique sont progressivement devenues des points chauds de recherche, sans pour autant être intégrés dans les standards thérapeutiques pour le moment [62].

1. La neurochirurgie :

L'exérèse chirurgicale maximale est une composante diagnostique et thérapeutique essentielle de la prise en charge des tumeurs du SNC, elle établit un diagnostic histologique, procure un soulagement symptomatique de l'effet de masse, permet de rétablir la fonction neurologique en rapport avec l'emplacement de la tumeur, réduit le nombre de cellules tumorales pour faciliter l'effet du traitement adjuvant, retirer le maximum du volume tumoral et limiter le risque d'hyperpression fournit du matériel tissulaire pour l'analyse moléculaire et facilite l'identification des molécules cibles pour le développement de nouvelles thérapies [63].

2. La radiothérapie :

Est une modalité majeure du traitement des gliomes, qui utilise des rayons X ciblés sur les cellules cancéreuses pour les détruire. La technique de référence est la radiothérapie conformationnelle tridimensionnelle réalisée en IMRT (radiothérapie par modulation d'intensité) et sous guidage image (radiothérapie guidée par image, IGRT) pour minimiser les complications causés aux tissus cérébraux sains, de préserver les structures à risque et diminuer ainsi les effets secondaires du traitement. Il est possible d'utiliser la radiation seule au début ou après la chirurgie s'il y a récurrence [58].

3. La chimiothérapie :

La norme pour le traitement des gliomes de haut grade inclut l'utilisation du témozolamide (TMZ : Temodal®), un agent chimiothérapeutique oral qui alkyle l'ADN.

Il est utilisé en concomitance avec la radiothérapie puis en adjuvant pendant 6 cycles à raison d'un cycle / 28 jours. Avec l'avènement de cette molécule, la survie à 2 ans des patients atteints de glioblastome a presque triplé pour atteindre les 27% alors qu'elle stagnait à 10% durant des décennies avec la radiothérapie seule. Elle peut être utilisée seule ou en association avec la radiothérapie, avant ou après l'opération. Avant l'opération, elle permet de réduire le volume tumoral pour faciliter le geste chirurgical. Après l'opération, détruire les cellules cancéreuses résiduelles [61] [64].

Parmi toutes les nouvelles méthodes de traitement adjuvant c'est la thérapie par champ électrique qui paraît la plus prometteuse, qu'est appelée TTF «Tumor Treating Field» consiste en l'application externe d'un champ électrique alternatif non invasif de faible intensité et de fréquence intermédiaire qui cible les cellules tumorales à division rapide tout en épargnant les cellules saines. Son effet anticancéreux est basé sur la perturbation de la

mitose des cellules tumorales à l'anaphase et à la télophase, déclenchant une cascade d'effets directs ou indirects en aval qui interfèrent avec la croissance tumorale et activent l'immunité anti tumorale chez le patient [65] [66] [67].

VIII. Le pronostic :

La prise en charge des patients atteints de gliomes repose sur les caractéristiques cliniques du patient et de la tumeur (histologie, biologie moléculaire, localisation anatomique), ainsi que sur la nature des traitements disponibles et associés. La multitude de tous ces facteurs a rendu complexe les stratégies thérapeutiques pour ces tumeurs au pronostic très variable [68].

La survie médiane sans évolution des cancers cérébrales est d'environ 12,8 mois s'il a été traité par chimiothérapie seulement et elle peut aller jusqu'à 5 ans si on a associé une chimiothérapie à une radiothérapie.

Pour les patients atteints de tumeurs cérébrales, le pronostic est extrêmement variable. Il dépend de plusieurs facteurs incluant le grade, l'âge, les antécédents médicaux, la taille de la tumeur, sa localisation, l'étendue de la chirurgie, le profil moléculaire, et enfin sa réponse aux traitements effectués [69].

Le pronostic des patients opérés complètement d'un gliome de bas grade est excellent. Néanmoins, lorsqu'il n'est pas possible de retirer totalement la tumeur chirurgicalement, le pronostic est moins bon, et certains patients peuvent recevoir plusieurs lignes de traitement [69].

Pour les gliomes de haut grade, le pronostic est souvent péjoratif malgré la réalisation d'un traitement important. "Notamment, la survie médiane des enfants atteints d'un gliome infiltrant du tronc cérébral est aux alentours de 12 mois. Pour ces maladies, il est nécessaire d'explorer de nouvelles stratégies thérapeutiques, et de développer la recherche afin de mieux comprendre les mécanismes conduisant à la survenue de la tumeur." [69].

Chapitre III :
La Génétique
des Gliomes

I. La Génétique des gliomes :

Les gliomes sont les tumeurs cérébrales les plus courantes chez les adultes. Comprendre les bases génétiques de ces tumeurs est essentiel pour améliorer le diagnostic, le traitement et la survie des patients. Au cours de ces dernières années, des progrès significatifs ont été réalisés dans la compréhension des altérations génétiques impliquées dans les gliomes.

Les études génomiques ont identifié plusieurs altérations génétiques fréquentes dans les gliomes. L'une des altérations les plus courantes est la mutation du gène *IDH1* (isocitrate déshydrogénase 1), présente dans environ 80 % des gliomes de bas grade, selon la classification de l'OMS. Une autre altération génétique fréquente est la délétion du chromosome 1p/19q, observée principalement dans les oligodendrogliomes [70]. Cette délétion est associée à une meilleure réponse au traitement et à une survie plus longue chez les patients [71] [72].

En outre, les mutations dans les gènes de la famille des récepteurs du facteur de croissance épidermique (*EGFR*) ont également été identifiées dans les gliomes. Les amplifications du gène *EGFR*, ainsi que les mutations activatrices, peuvent conduire à une prolifération cellulaire accrue et à une résistance aux traitements. Les altérations du gène *TP53*, un suppresseur de tumeur, sont également fréquentes dans les gliomes. Ces mutations favorisent la progression tumorale et la résistance aux thérapies conventionnelles [73].

Les avancées récentes dans le séquençage de nouvelle génération ont permis de découvrir des altérations génétiques moins fréquentes mais importantes dans les gliomes. Par exemple, les mutations dans les gènes *ATRX*, *CIC* et *FUBP1* ont été identifiées dans les gliomes de type astrocytome. Ces mutations sont associées à une prolifération cellulaire accrue et à une progression tumorale agressive. De plus, des altérations dans les gènes de la voie de signalisation mTOR ont été rapportées dans les glioblastomes, la forme la plus agressive de gliomes.

La mutation *CASP9* n'a été rapportée qu'en association avec un astrocytome anaplasique de grade III qui finit par se transformer en glioblastome secondaire. D'autres mutations du *PTEN*, du *TERTp* et de la mutation chromosomique +7, -10 sont plus fréquemment observées dans le glioblastome primitif et la mutation *TERTp* identifiée dans l'oligodendrogliome de grade II (Annexe 03).

Il convient de noter que les gliomes sont des tumeurs génétiquement complexes, impliquant souvent des altérations multiples et interconnectées. Les approches dites "d'analyse intégrative" combinent des informations génomiques, transcriptomiques et épigénomiques pour obtenir une vue d'ensemble complète des altérations génétiques présentes dans les gliomes [74].

1. Mutation de l'*IDH* :

IDH est une enzyme limitant la vitesse du cycle de l'acide tricarboxylique (TCA), De nombreuses études ont démontré une corrélation significative entre les divers types histologiques. La famille de gènes *IDH* comprend trois isomérasases, *IDH1*, *IDH2* et *IDH3*.

Dans les gliomes, *IDH1* est la mutation la plus fréquemment observée dans plus de 90 % des cas qui sont généralement des jeunes. Ce sont des mutations faux-sens qui remplacent l'arginine (CGT) par l'histidine (CAT), *IDH2* dans seulement 10 % des cas, cette mutation provoque de profonds changements au niveau cellulaire (altération métabolique). Tandis que la mutation dans *IDH3* n'a pas encore été trouvée.

L'incidence de la mutation dans les glioblastomes primaires (GBp) est de 80%, beaucoup plus élevée que dans les glioblastomes secondaires (GBs) dans lesquelles elle n'est que de 5%. Les mutations de l'*IDH* sont associées à un meilleur pronostic pour tous les grades de gliome [75].

2. Mutation de l'*EGFR* :

Le gène *EGFR* est un récepteur du facteur de croissance épidermique qui code pour un récepteur transmembranaire de la tyrosine kinase, situé sur le chromosome 7p12. La signalisation *EGFR* dans le gliome fait l'objet d'intenses recherches depuis des décennies, principalement pour deux raisons [75].

Premièrement, la signalisation aberrante de l'*EGFR* est susceptible de jouer un rôle important dans la pathogenèse de la tumeur et par conséquent, les mécanismes de signalisation oncogénique médiée par l'*EGFR* sont intéressants [76].

Deuxièmement, le système de signalisation *EGFR* est une cible pour une intervention thérapeutique. L'amplification et la surexpression du gène *EGFR* sont une caractéristique particulièrement frappante du glioblastome, observée dans 40% des tumeurs. Dans environ 50%

des tumeurs avec amplification *EGFR*, un mutant *EGFR* spécifique *EGFRvIII* peut être détecté. Ce mutant est hautement oncogène et généré par une délétion des exons 2 à 7 du gène *EGFR*, ce qui entraîne une délétion dans le cadre de 267 acides aminés du domaine extracellulaire du récepteur. Il est incapable de lier le ligand, et il signale de manière constitutive, et génère un ensemble distinct de signaux en aval qui peuvent contribuer à une tumorigénicité accrue [76].

3. Mutation du *PTEN* :

PTEN, est l'un des gènes les plus souvent perdus ou régulés à la baisse, impliqués dans les tumeurs du cerveau, situé sur le chromosome 10q23.3, est un membre de la famille des gènes de la protéine tyrosine phosphatase. C'est un gène suppresseur de tumeur important qui phosphoryle les protéines. *PTEN* joue un rôle important dans la régulation de la prolifération cellulaire, l'apoptose et la réparation des dommages à l'ADN, et aussi peut inhiber l'invasion et la croissance tumorale, l'adhésion cellulaire à la matrice environnante et formation de vaisseaux sanguins. Il est impliqué dans la signalisation des voies de transduction du signal.

Environ 86 % des patients atteints de gliome ont une perte du gène *PTEN* et des changements du récepteur tyrosine kinase / phosphoinositide 3-kinase (RTK/PI3K) voie de signalisation. Les taux des mutations ponctuelles *PTEN* dans le glioblastomes primitifs est de 26% ~ 34% tandis que dans l'anaplasie astrocytomes de 18%.

Des études antérieures ont indiqué que la croissance tissulaire et le nombre de cellules sont influencés par *PTEN*. Elle joue un rôle dans la neurogenèse et la gliogenèse, Dans le SNC, la délétion de *PTEN* dans les cellules progénitrices neurales pendant l'embryogenèse perturbe la migration et la formation appropriée de la structure laminaire du cerveau, la régulation de la taille ou le nombre de cellules dans le cerveau et souligne l'importance de *PTEN* dans le développement et le maintien normaux du SNC [75].

II. Le gène *TP53* :

La protéine P53 codée par le gène *TP53*, situé sur le chromosome 17p13 humain. Selon la dernière mise à jour de NCBI, le gène est composé de 16 exons et s'étend sur une longueur de 20 kilo bases (kb). Il dispose d'une séquence intronique de 10 kb située entre la première et la deuxième séquence exonique. Cinq régions hautement conservées au cours de l'évolution sont

localisées entre le second et le huitième exon. Il est généralement admis que le domaine central de la protéine P53 est codé par les exons 5, 6, 7, 8. B [77].

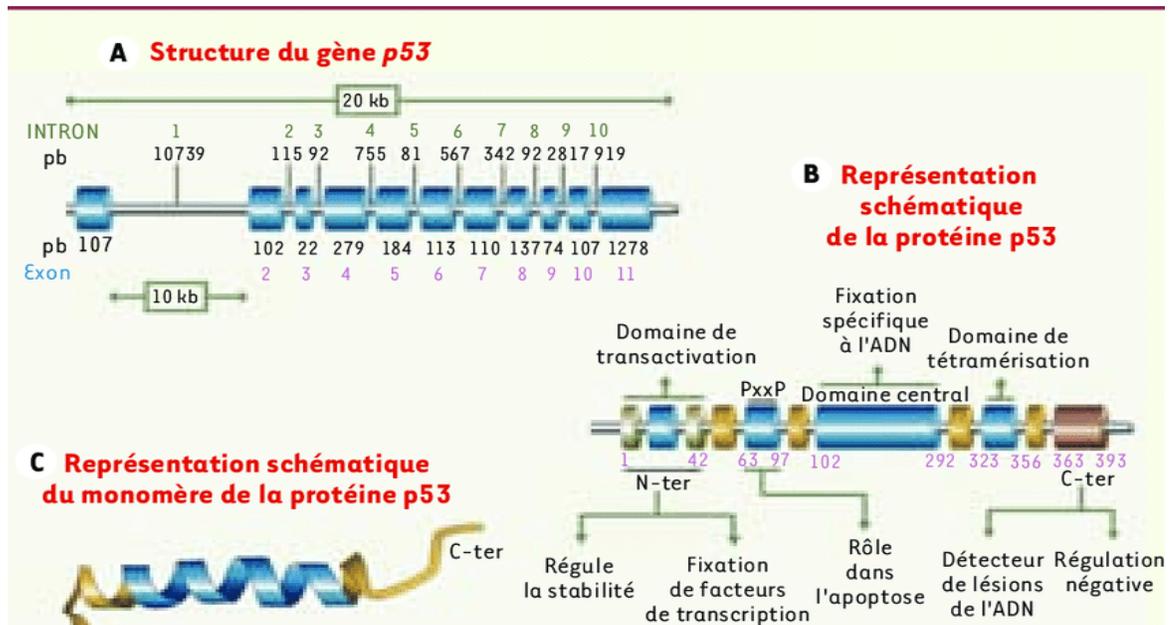


Figure 10 : La structure du gène et de la protéine de P53 humain (Hatanpaa KJ, et al, 2010).

La *TP53* est un suppresseur de tumeur a été détecté comme facteur prédictif possible de pronostique des gliomes [78]. La protéine joue un rôle crucial en tant que plaque tournante du réseau cellulaire dans la régulation de la prolifération cellulaire, de la sénescence, de l'apoptose, et le contrôle de la mobilité cellulaire et de l'invasion [79].

Notamment, les mutations du gène *TP53* sont l'un des biomarqueurs les plus répandus associés aux gliomes, car ils ont été identifiés dans pratiquement tous les cancers, dans la majorité des cas, ce sont des mutations faux-sens qui touchent principalement le domaine de liaison avec l'ADN. La protéine P53 est un facteur de transcription connu sous le nom de « gardien du génome » en raison de sa fonction essentielle dans la préservation de l'intégrité génomique, il est supposé inhiber les altérations phénotypiques et génomiques associées au développement du cancer grâce à une interaction complexe avec plusieurs voies de signalisation connues.

Dans la plupart des cas, l'inactivation du gène *TP53* se produit généralement par l'acquisition de mutations de perte de fonction ou une régulation négative des protéines P53 de

type sauvage qui va entraîner l'invasion, la prolifération et la survie cellulaire, facilitant ainsi la progression du cancer et les métastases. Plus de 75% des mutations du gène *TP53* entraînent une perte des activités de P53 de type sauvage qui ont des caractéristiques oncogéniques et modulent donc la capacité des cellules cancéreuses à proliférer, à échapper à l'apoptose, à envahir et à métastaser. Puisque la sous-expression de la P53 est si fréquente dans le cancer humain, cette protéine est une excellente option pour le traitement du cancer.

Les mutations du *TP53* sont plus fréquentes dans certains sous-types de gliomes tels que les astrocytomes diffus, les astrocytomes anaplasiques et les GBs, qui étaient également fortement associés avec mutations *IDH1*. Par ailleurs, les mutations *TP53* étaient moins fréquentes chez les oligodendrogliomes ou les oligodendrogliomes anaplasiques. Les mutations *TP53* et la codélétion 1p/19q s'excluent presque mutuellement. Bien que les mutations germinales aient été rarement rapportées, les mutations somatiques représentent de nombreuses tumeurs cérébrales. Ceci est attribué au fait que la plupart des gliomes sont sporadiques et n'ont pas de vari- lignée germinale prédisposant connue [73].

*Patients et
Méthodes*

I. Méthodologie :

L'étude avait deux objectifs principaux :

Une étude épidémiologique : basée sur le dépouillement des dossiers de patients atteints de tumeurs gliales et admis au niveau du service d'Oncologie-Radiothérapie du Centre Anti Cancer (CAC) de CHUC entre les années 2017 jusqu'à 2021.

Une étude moléculaire : qui consiste une analyse moléculaire visant à prospecter l'implication du polymorphisme Arg72pro (*rs1042522*) de l'exon 6 du gène *TP53* (OMIM : 191170), comme facteur de risque dans la cancérogénèse des gliomes.

Cette étude a été réalisée dans deux lieux distincts : le Centre Hospitalo-universitaire Constantine (CHUC) ; service d'Oncologie-Radiothérapie du Centre Anti Cancer (CAC) et le service d'Anatomie et cytologie pathologique entre le 5 Février 2023 et le 20 Février 2023, et au sein de Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine (CRBt) entre 20 février 2023 et 20 Mai 2023.

II. L'étude épidémiologique :

Au total, 98 patients diagnostiqués d'une tumeur gliale ont été inclus pour l'étude épidémiologique.

1. **Critères d'inclusion** : patients atteints de gliomes tumeurs encéphaliques primitives, tous les types histologiques ont été retenus sans restriction ni d'âge ni de sexe.
2. **Critères d'exclusion** : les tumeurs gliales métastatiques.

Les paramètres retenus des dossiers étaient :

- Le numéro de dossiers,
- Nom et prénom des patients,
- Le sexe,
- L'âge,
- Le degré de malignité,
- Localisation histologique,
- L'histologie.

III. L'étude moléculaire :

1. **Echantillons** :

Dans cette étude, deux types d'échantillons ont été étudiés : 15 blocs de tissus FFPE et

Patients et Méthodes

10 prélèvements sanguins.

Tout prélèvement a été accompagné d'un consentement signé de participation à cette étude de la part du patient en question (**Annexe 04**), qui est soumis à son tour à un questionnaire détaillé (**Annexe 05**).

Tissu FFPE : Un échantillon de tissu incorporé à la paraffine fixée au formol (FFPE) est une forme de conservation et de préparation pour les échantillons de biopsie qui aide au diagnostic et à la recherche expérimentale.

Un échantillon de tissu est d'abord conservé en le fixant dans du formaldéhyde, également connu sous le nom de formol, pour préserver les protéines et les structures vitales dans le tissu. Ensuite, il est incorporé dans un bloc de cire de paraffine ; Cela facilite la découpe de tranches de tailles requises soit pour les techniques d'immunohistochimie ou bien la biologie moléculaire (**Annexe 06**).

2. Méthodes :

2.1. Extraction D'ADN :

a. A partir de tissu FFPE :

- **Broyage** : des coupes histologiques de tissu FFPE sont broyées soit mécaniquement soit par le broyeur à bille, le but de cette étape est de casser les jonctions entre les cellules et le paraffine et réduire la taille du tissu pour faciliter la prochaine étape.
- **Déparaffinage** : cette étape consiste à l'élimination le paraffine, elle se déroule comme suit :
 - 1ml de Xylène est ajouté dans chaque tube, qui est ensuite vigoureusement mélangé et incubé pendant 20min à température ambiante.
 - Les échantillons sont Centrifuger à vitesse maximale pendant 1min, le surnageant est éliminé.
 - 1ml de Xylène sur le culot, vortex et incubation pendant 5min à température ambiante.
 - Centrifugation pendant 2min et élimination du surnageant.
 - 1ml d'éthanol 100% pour élimine le reste de xylène, vortex et incubé pendant 1 min
 - Centrifugation 1min et élimination du surnageant et laisser sécher à l'air libre.
- **La lyse cellulaire et précipitation d'ADN** :
 - Ajouter 100 µL de PBS et 20 µL de protéinase K (20mg/ml) pour éliminer les protéines.

Patients et Méthodes

- Incubation pendant 2h dans un bloc chauffant 52°C.
- Ajout d'un volume égal de phénol, vortex et centrifugation pendant 16min à vitesse maximale.
- Transfert de la phase aqueuse sans un nouveau tube.
- Ajout d'un volume égal du chloroforme pour éliminer les traces du phénol, vortex et centrifugation pendant 16min à vitesse maximale.
- Transfert de la phase supérieure à un nouveau tube eppendorf. Ajout de 2.5 le volume d'éthanol pur froid.
- Centrifugation pendant 16min et versement du surnageant. Ajout d'un volume égal d'éthanol 70% froid.
- Récupération de la méduse d'ADN et ajout de 100 µL d'eau à grade biomoléculaire.

b. A partir du sang :

Les prélèvements sont recueillis dans des conditions stériles par ponction veineuse dans des tubes EDTA de 5ml et l'extraction se fait par la technique du « SALTING OUT » (Annexe 07).

c. Détermination de la concentration, la pureté et de la qualité de l'ADN extrait :

La pureté et la concentration de l'ADN sont déterminées par spectrophotométrie à lumière Ultra-Violet (UV) avec un Nanodrop[®] (Thermo Scientific Nanodrop[®] ND-8000). Un volume de 2 µl de l'échantillon est déposé directement à l'extrémité d'un câble de fibre optique. Lorsque celui-ci est mis en contact avec un second câble par fermeture de l'appareil, l'échantillon est maintenu par une tension de surface et traversé par un signal lumineux. Il est possible ainsi de mesurer et de quantifier les ADN double comme simple brin. L'analyse de l'absorbance se fait par un logiciel (Nanodrop[®] 8000 v3.7) installé sur un ordinateur relié à l'appareil.

L'absorption est mesurée à deux longueurs d'ondes différentes (260 et 280). Par la suite, le rapport 260/280 est établi pour évaluer la pureté de l'ADN en vérifiant une éventuelle contamination par les protéines ou par les ARN.

On considère que :

- L'ADN est suffisamment pure lorsque le rapport $R = DO\ 260/280$ est comprise entre 1,6 et 2 ($1,6 < R \leq 2$).

Patients et Méthodes

- L'ADN est contaminé par les protéines si $R < 1,6$.
- L'ADN est contaminé par les ARN si $R > 2$.

2.2. Génotypage de la *TP53* par PCR-RFLP :

La PCR est une technique de biologie moléculaire permettant l'amplification exponentielle d'une séquence cible d'un ADN donné par l'utilisation d'un ensemble de réactifs soumis à une série de cycles de température afin d'obtenir une quantité suffisante de la séquence d'ADN désirée [80].

Dans notre étude, les amorces suivantes ont été utilisées pour l'amplification de l'exon 6 du gène *TP53* :

Amorce sens : 5' CCCGGACGATATTGAACA 3'

Amorce anti sens : 5' GTTTCGGTCTGGGCTTCT 3'

Les réactifs utilisés pour la réalisation de l'amplification sont mentionnés dans le tableau suivant (**Tableau 01**) :

Tableau 01 : Composition du milieu réactionnel de PCR pour l'amplification de l'exon 6 du gène *TP53*.

Les Réactifs	Concentration initiale	Concentration finale	Volume (μ L)
Buffer	10X	1X	2,5
MgCl₂	25 mM	1,5 Mm	1,5
DNTPs	20 mM	200 μ M	0,15
Amorce sens	20 μ M	0,2 μ M	0,05
Amorce Anti sens	20 μ M	0,2 μ M	0,05
Taq polymérase	5 U/ μ l	1 U	0,02
H₂O			18
ADN	50 ng	50 ng	2
Totale			25

La réaction d'amplification a été réalisée dans des plaques de PCR avec un thermocycleur (MiniAmp Thermal Cycler) avec les conditions suivantes (**Tableau 02**) :

Patients et Méthodes

Tableau 02 : Programme du thermocycleur pour l'amplification de l'exon 6 du gène *TP53*.

Processus	Température (°C)	Temps	Nombre de cycle
Dénaturation Initiale	94	5 minutes	1
Dénaturation	94	2 minutes	
Hybridation	51	1 minute	35
Elongation	72	1 minute	
Elongation Finale	72	1 minute	1

Après l'amplification, vient l'étape du contrôle des produits PCR grâce à une électrophorèse sur un gel d'agarose 2%.

La préparation du gel se fait en mélangeant 2g d'agarose avec 100 ml de Tris Borate EDTA (TBE) 1X additionné de 0,8 µL de SYBR Green, Le tout est déposé sur une cuve d'électrophorèse.

Après polymérisation du gel, on a déposé dans chaque puits 5 µl du produit de PCR mélangé avec 1 µl de tampon de charge qui va s'intercaler entre les bases de l'ADN et permet de suivre le front de migration. Le dépôt se fait du côté cathode (-) et le système est soumis à une migration sous un courant de 120 volts pendant 20min.

Après la migration, le gel est déposé dans un système d'imagerie pour pouvoir visualiser les fragments amplifiés sous forme de bande fluorescente avec une taille de 203pb.

Les produits de PCR, sont ensuite soumis à une digestion enzymatique par l'ajout de 1 µl de l'enzyme de restriction « Bsh1236I » dans chaque tube contenant 5 µl du produits de PCR plus 2 µl de Buffer et 2 µl de l'eau ultra pure (grade bio-moléculaire). Le tout est incubé pendant 3h dans une étuve à 37°C.

Patients et Méthodes

Site de restriction de « Bsh1236I » :

5' C G ↓ C G 3'

3' G C ↑ G C 5'

Les fragments d'ADN digérés par l'enzyme de restriction sont séparés par électrophorèse sur gel d'agarose à 3%. Elle se fait exactement dans les mêmes conditions et de la même façon que l'électrophorèse effectuée pour le contrôle des produits de la PCR mais à un voltage plus faible (80V) pendant 35 min.

Lors de la visualisation du produit de la digestion dans le système d'imagerie, il y'a une possibilité d'observer 3 bandes de différentes tailles.

Le schéma ci-dessous représente les 3 profils attendus (**Figure 11**).

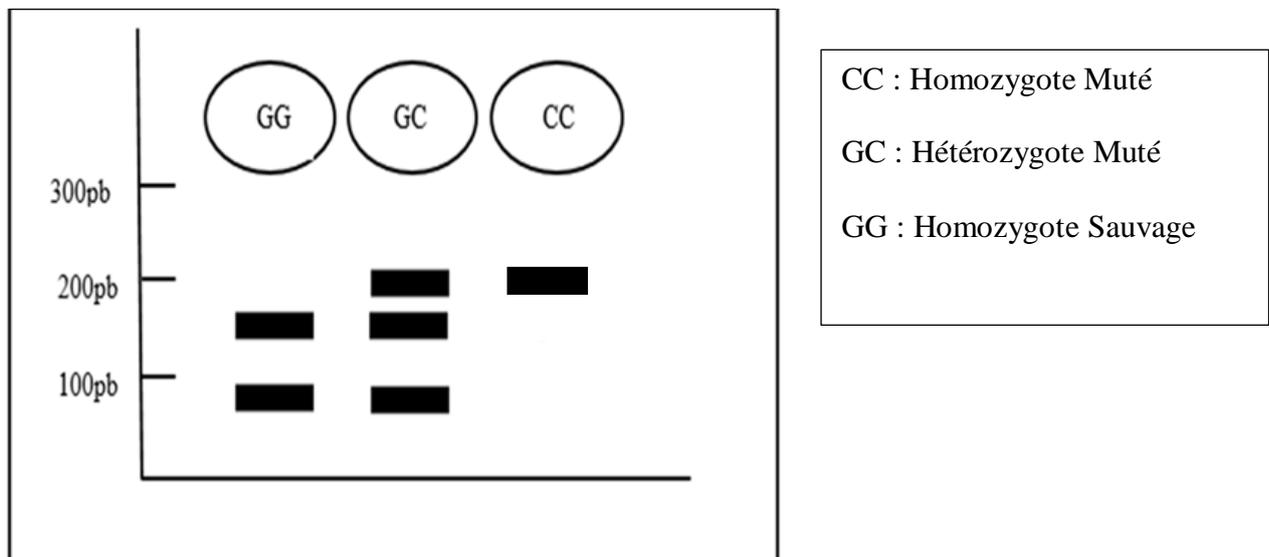


Figure 11 : Les profils attendus de la digestion enzymatique du *TP53*.

2.3. Le séquençage du gène *TP53* :

a. Amplification de l'exon 06 :

La première étape pour le séquençage de l'exon 6 du gène *TP53* est une amplification de la séquence cible par une PCR (les étapes et les conditions sont déjà décrites en haut)

b. Purification des produits de PCR :

Avant de pouvoir séquencer l'exon 6, il est indispensable de purifier les fragments amplifiés en enlevant les restes des dNTP et d'amorces non incorporées. Pour la purification des produits de PCR, la méthode utilisée est l'ExoSAP-IT[®], fonctionnant sur le principe de « nettoyage enzymatique ».

Le réactif ExoSAP-IT est composé de 2 enzymes hydrolytiques, Exonuclease I et Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP) et conçu pour le nettoyage simple et rapide de produits de PCR.

Dans un tube contenant 2-4 µl le produit de PCR (selon la qualité de ce dernier), on ajoute 1µl d'exonuclease (10units/ul) et 1 µl de l'exoSAP-IT[®]. On vortex le mélange et on incube dans un thermo-cycler pendant 30min à 37°C. Après traitement, le réactif ExoSAP-IT[®] est inactivé par un simple chauffage à 80 ° C pendant 15 minutes.

c. La réaction de séquençage :

Pour le séquençage, on prépare 2 plaques de séquences pour le (sens) et l' (anti-sens). La réaction de séquençage utilisée est une variante de la technique Sanger qui repose sur l'incorporation aléatoire par l'ADN polymérase de di-désoxyribo-Nucléotide Tri-Phosphates (ddNTP) dits « interrupteurs de chaîne » ou « Terminators » présents dans le milieu réactionnel. On a utilisé la technique de BigDye[®] Terminator version 3.1 (Applied Biosystems[®]) pour notre réaction de séquençage. En fait, Il s'agit d'une réaction de PCR standard qui se fait sur un thermocycleur avec un milieu réactionnel particulier.

Les réactifs utilisés pour la préparation du milieu réactionnel du séquençage sont mentionnés dans le tableau ci-dessous (**Tableau 03**).

Tableau 03: Composition du milieu réactionnel pour le séquençage de l'exon 6 du gène TP53.

Réactifs		Quantité
BigDye v.3.1		2 µl
Buffer 5X		2 µl
Amorces (2pmol/ µl)	Sens	2 µl
	Anti sens	2 µl
Produit de PCR purifié		1-4* µl
H2O ARN/ ADN free		-- µl
Total		10 µl
*La quantité dépend de la qualité de notre produit de PCR.		

Les conditions de cette manipulation sont :

Tableau 04 : Programme du thermocycleur pour la réaction de séquençage.

Processus	Température (°C)	Temps	Nombre de cycles
Dénaturation initiale	96	1 minute	1
Dénaturation	96	10 secondes	
Hybridation	50	05 secondes	35
Élongation	60	40 secondes	

d. Purification des produits de séquençage :

Une fois la réaction de séquençage terminée, on procède à la purification des produits de séquençage. Pour ce faire, à 10 µl du produit de PCR séquence (par puits) sont ajoutés 80 µl d'éthanol 76 %, en laissant les plaques sur paillasse ou sur glace pendant 15 à 30 min. Les plaques des séquences sont par la suite centrifugées pendant 15min à 4000 tpm à température ambiante et renversées rapidement afin de retirer le surnageant. Centrifuger à nouveau les plaques à l'envers sur papier absorbant (Wathman) pendant 1 min à 1000 tpm. Une fois

terminée, 10 µl d'H₂O (par puits) sont ajoutés aux échantillons à fin d'éviter l'évaporation de ces derniers une fois dans le séquenceur.

e. Séquençage des plaques sur l'appareil :

La dernière étape de notre séquençage est la lecture des séquences par électrophorèse capillaire qui se fait sur un séquenceur 3500/3500xL DNA Analyzer (Applied Biosystems®). Les résultats de l'analyse sont formulés dans des fichiers (ab1) et ce pour chaque séquence. L'analyse des résultats ainsi obtenus se fait en utilisant le logiciel CLC main workbench® V5.5 (QIAGEN Company).

Après lecture des séquences d'intérêt, la comparaison est effectuée avec une séquence de référence de la région d'intérêt tirée de banques de données sur internet : NCBI (National Center for Biotechnology Information) ou Ensembl Genome Browser.

IV. Analyse statistique :

Les résultats obtenus ainsi que les critères biologiques des patients ont été analysée par des tests statistiques conventionnels qui permettent de déterminer une possible association entre les différents paramètres.

Les données ont été analysées en utilisant le programme statistique SPSS (version 20.0). Les paramètres quantitatifs sont présentés sous forme de moyenne et les paramètres qualitatifs par des pourcentages, le seuil de significativité statistique a été fixé à une valeur de $p < 0,05$.

Résultats et Discussion

I. Etude épidémiologique :

Nous avons mené une étude rétrospective en examinant les dossiers médicaux de 98 Patients atteints de gliomes primitifs traités au niveau du service d'oncologie-radiothérapie du CHUC entre 2017 et 2020 ; L'objectif était d'analyser les paramètres suivants :

1. Données démographiques :

1.1. Distribution selon l'âge :

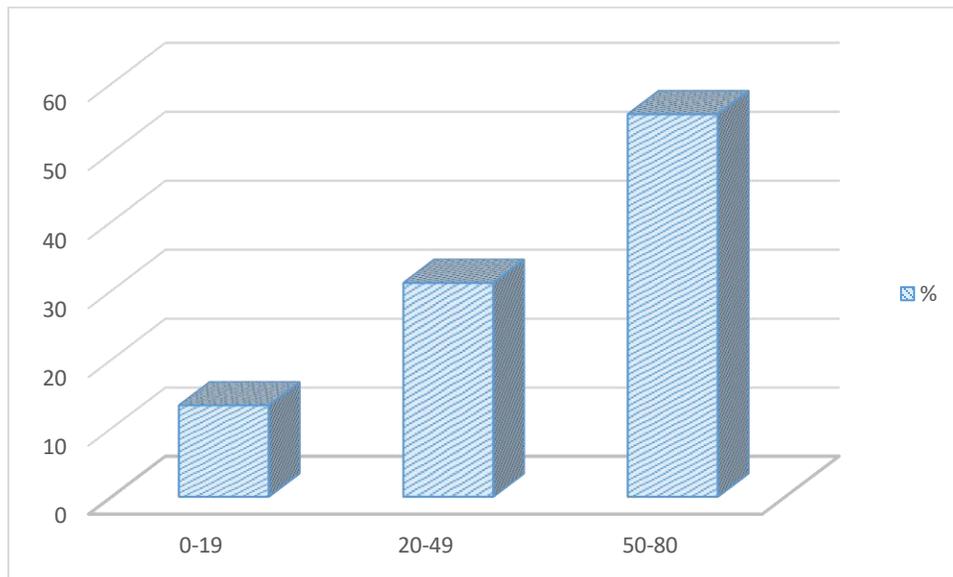


Figure 12 : La répartition des patients selon les tranches d'âge.

Dans notre population d'étude la moyenne d'âge est de $46,89 \pm 19,26$ ans et la médiane est de 52 ans avec des extrémités allant de 3 à 79 ans.

Nos résultats ont montré que la tranche d'âge des (50 à 80 ans) présente la plus grande prévalence des gliomes, représentant plus de la moitié de tous les cas avec une fréquence de 55,56%. Tandis que, la prévalence des gliomes pédiatriques est de 13,33% (**Figure 12**).

Notre population est plus jeune que la population suédoise avec une moyenne égale à 57 ans [81] et l'américaine qui a une moyenne de 51,9 ans [82], en revanche, elle est proche de la tunisienne (médiane = 48 ans) [82] et de la nigérienne (moyenne égale à 42 ans) [83] et plus âgée que la chinoise (médiane = 41 ans) [84].

Résultats et Discussion

Nos résultats rejoignent ceux de la population française qui indique que l'incidence des tumeurs cérébrales chez l'enfant est 4 fois inférieure à celle de l'adulte et qui au de-là de 40 ans, elle augmente de manière linéaire et significative [85].

1.2. Distribution selon le sexe :

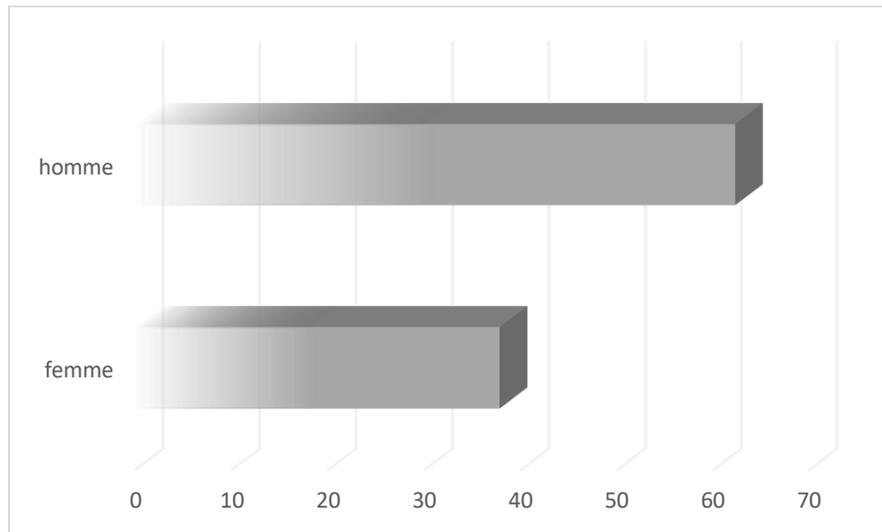


Figure 13 : La répartition des patients selon le sexe.

Concernant la distribution de notre cohorte selon le sexe, on remarque bien une prédominance des hommes avec un taux de 62,24%, par rapport aux femmes qui représentent un taux de 37,76%. Ce qui donne un sexe ratio homme/femme de 1,65 (**Figure13**). L'incidence des gliomes chez les hommes est plus fréquente au-delà de 50 ans.

La différence de la répartition des patients selon l'âge et le sexe (**Figure 14**) est statistiquement non significative ($p=0.74$).

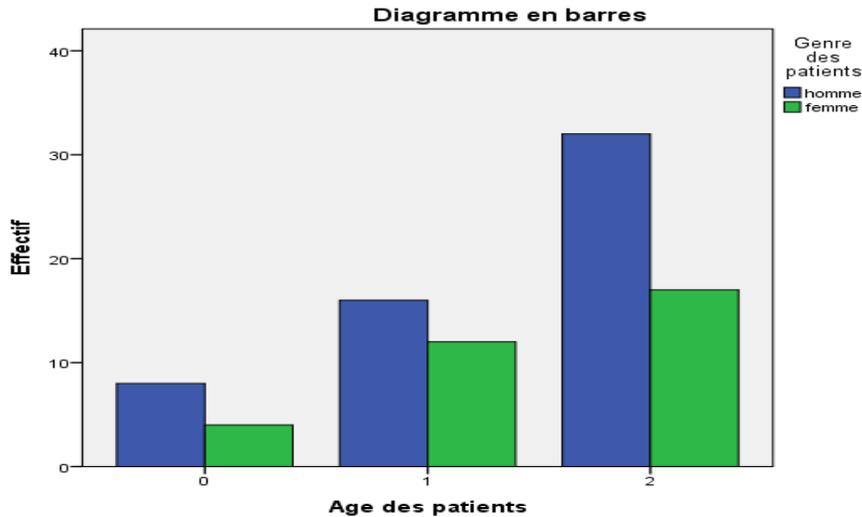


Figure 14 : Répartitions selon l'âge et le sexe.

Dans notre cohorte, nous avons observé des résultats cohérents avec ce qui est rapporté dans la littérature sur les gliomes, tels que décrits dans d'autres études menées dans différentes populations à travers le monde. Par exemple, au Nigéria, où le sexe ratio hommes-femmes était de 1,4 [86]. Pareil pour les Tunisiens, le sexe ratio était de 1,5 [87].

2. Données cliniques :

L'analyse des données cliniques de notre population comprend : la localisation de la tumeur, le type histologique et le grade.

2.1. Distribution selon localisation :

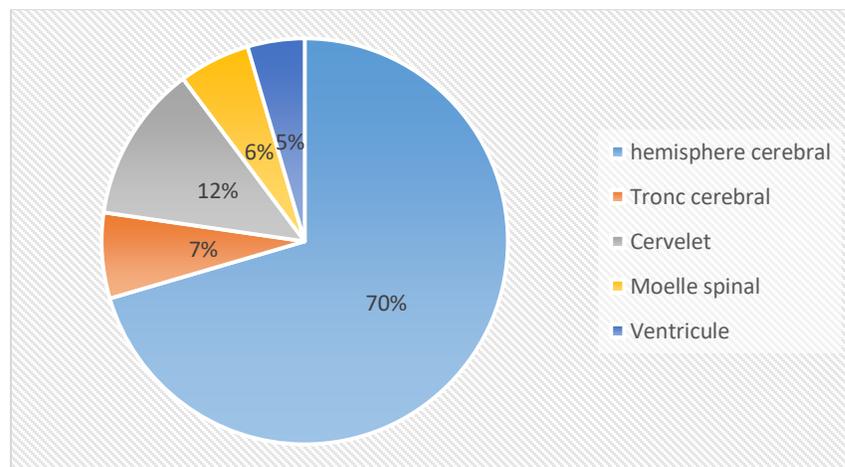


Figure 15 : La répartition des patients selon la localisation.

Résultats et Discussion

Le siège dominant des tumeurs est l'hémisphère cérébral avec 70% des cas, vient par la suite le cervelet qui représentent 12%, tandis que les autres localisations (moelle spinale avec un taux de 6%, tronc cérébral avec un taux de 7%, ventricule avec un taux de 5%) représentent les parties les moins touchées (**Figure 15**).

Les tests statistiques ont révélé que l'âge des patients était significativement associé à la localisation de la tumeur ($p=0.025$), cependant, aucune association n'a été détectée entre le sexe et la localisation ($p=0.174$).

La distribution de la localisation tumorale dans notre cohorte est comparable aux résultats de l'étude de Larjavaara et al. [88] en Finlande qui ont montré que les lobes cérébraux occupaient la première position avec 86% des lésions, suivis des structures profondes du cerveau, soit le tronc cérébral, les ventricules et le cervelet avec des proportions comparables.

2.2. Distribution selon le type histologique :

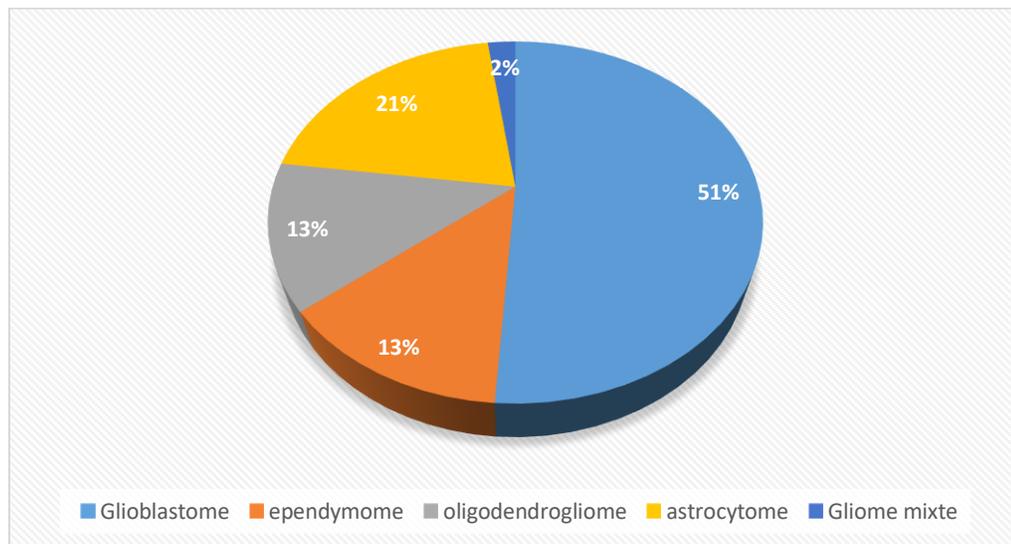


Figure 16 : La répartition des patients selon l'histologie.

En ce qui concerne la distribution selon le type histologique, on observe que les Glioblastomes représentent la moitié des atteints (51%) et donc, ils sont les plus fréquents. Suivis des astrocytomes (21%), puis les ependymomes et les oligodendrogliomes représentent un faible pourcentage (**Figure 16**).

Résultats et Discussion

Nos données statistiques ont montré une forte corrélation entre le type histologique et l'âge ($p < 0.0001$), et le sexe ($p = 0.015$) où les hommes sont les plus touchés par le glioblastome, ainsi que la localisation de la tumeur ($p = 0.038$).

Nos résultats sont presque concordants avec ceux trouvés par Crocetti et son équipe ; dans leurs études, les glioblastomes et les tumeurs astrocytaires étaient majoritaires avec 86% suivis par les oligodendrogliomes avec 6,4%, les ependymomes avec 3,6% [89].

2.3. Distribution selon le grade :

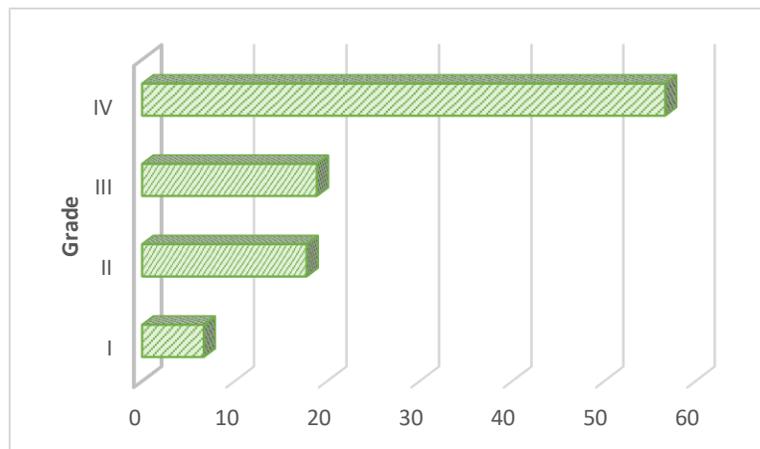


Figure 17 : La répartition des patients selon le grade.

Selon le grade, le grade IV est dominant avec un taux de 56,67% par rapport au grade III avec un taux de 18,89% ; ces grades représentant les gliomes de hautes grades. Suivi des gliomes de bas grades qui regroupent le grade I (6,66%) et le grade II (17,78 %) qui sont moins fréquents (**Figure 17**). Le grade de la tumeur et le type histologique sont fortement et significativement liés avec une $p < 0.0001$.

Nos résultats sont en accord avec la littérature et les études faites dans différentes régions à l'instar d'une étude danoise, qui a enregistré 85% des gliomes de haut grade contre 15% des gliomes de bas grade [90].

II. Etude moléculaire :

L'étude moléculaire a concerné 25 malades atteints des gliomes, l'extraction d'ADN a été réalisée à partir de tissus FFPE (15 échantillons) et de prélèvements sanguins (10 échantillons). 5 échantillons ont donné des ADN avec de mauvaises qualités et une faible

Résultats et Discussion

concentration, par conséquent, ils n'ont pas fait partie de l'étude moléculaire. Il est à noter que ces échantillons sont des FFPE. En fait, l'ADN extrait des tissus FFPE présente certaines limites pour l'analyse génomique en raison de la possibilité de la fragmentation de l'ADN et l'obtention d'ADN dégradé et des liaisons croisées par modifications chimiques entre les différentes solutions utilisées pour la fixation du tissu et la molécule d'ADN [91].

1. Résultats de la PCR-RFLP :

Le but de cette étude était d'identifier le polymorphisme Arg72pro (*rs1042522*) de l'exon 6 du gène *TP53*. Pour cela, on a procédé en premier temps à une PCR pour amplifier la séquence cible qui comprend l'altération. Ensuite, on a réalisé une migration des produits de PCR sur gel d'électrophorèse 2% pour confirmer la réussite de la PCR.

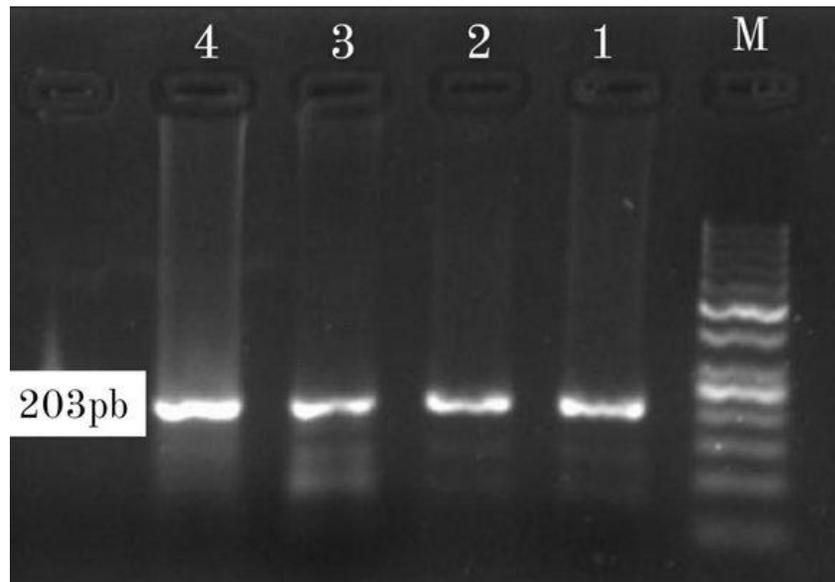


Figure 18 : Le profil du contrôle de la PCR.

M : marqueur de taille de 50pb.

1-4 : produits de la PCR.

La figure au-dessous (**Figure 18**) représente le profil de contrôle de la PCR, Ceci est confirmé par l'apparition d'une seule bande fluorescente dans le gel d'électrophorèse, indiquant la présence d'un fragment d'ADN d'une taille de 203pb (le marqueur de taille qui détermine la

Résultats et Discussion

taille de notre fragments amplifié est de 50pb). L'absence de la bande signifiera que l'amplification de l'échantillon en question n'a pas réussi.

Après la confirmation de produits de PCR, on a procédé à une digestion enzymatique par l'enzyme de restriction « Bsh1236I ». Les résultats sont représentés par la figure ci-dessous (**Figure 19**).

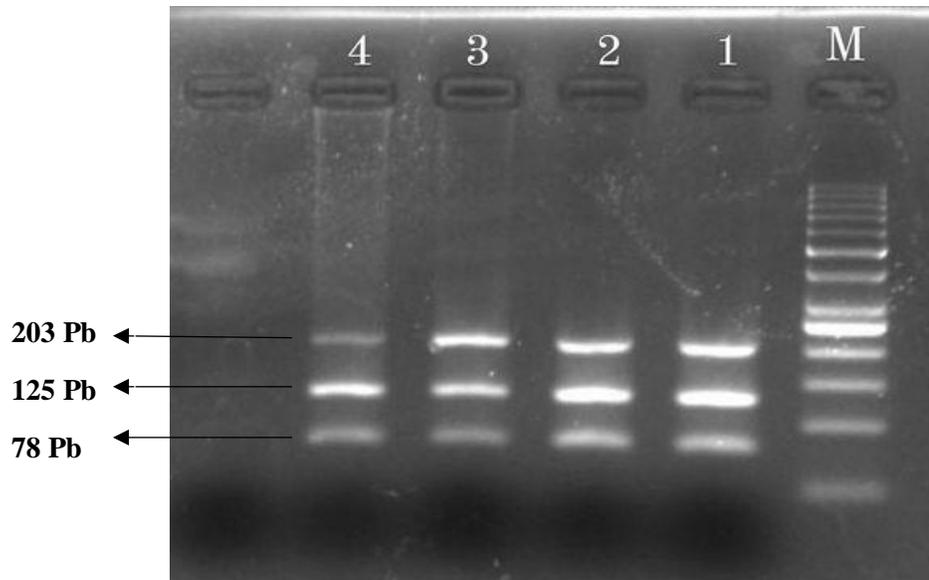


Figure 19 : Le profil de la digestion enzymatique.

M : marquer de taille de 50 pb.

1-4 : résultat de la digestion.

L'enzyme de restriction coupe entre C et G à l'état normal et donne deux bandes de tailles 78pb et 125pb. La présence de mutation dans la séquence cible, se traduira par la disparition du site de restriction et par conséquent, on obtiendra une seule bande de 203bp.

Les produits de digestion sont représenté par la (**Figure 19**), en effet, les 4 échantillons mutés étaient hétérozygotes, d'où la présence de trois bandes de tailles différents (78pb et 125pb et 203pb).

2. Résultats du séquençage :

On a réalisé un séquençage pour 5 échantillons pour confirmer les résultats de la PCR-RFLP. Au total, on a pris deux échantillons mutés et trois non mutés. Après avoir analyser les

Résultats et Discussion

résultats du séquençage avec le logiciel CLC Genome Workbench, on a obtenu les résultats suivants (**Figure 20, 21**) :

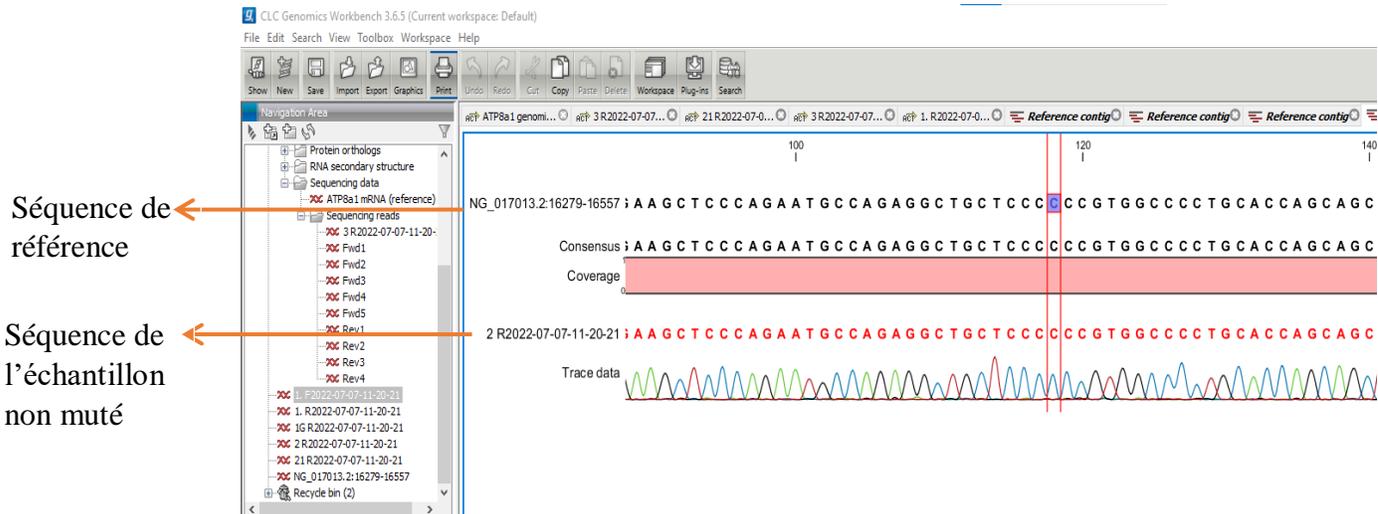


Figure 20 : Résultat du séquençage d'un échantillon non muté.

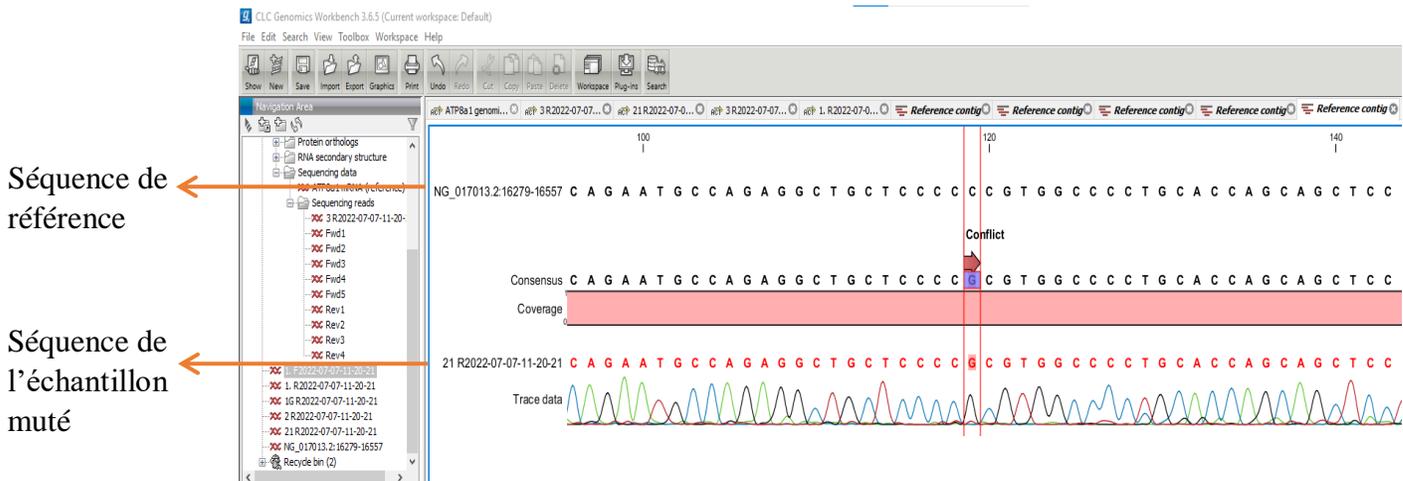


Figure 21 : Résultat du séquençage d'un échantillon muté.

Les résultats du séquençage, ont permis de confirmer le polymorphisme recherché, à savoir le polymorphisme Arg72pro, **c.215C>G**, où on peut observer dans la (**Figure 21**) le changement du nucléotide.

Dans une cohorte comportant 20 échantillons, 4 d'entre eux étaient porteurs du polymorphisme recherché. Il est important de mentionner que les 4 échantillons mutés faisaient

Résultats et Discussion

partie des échantillons de tissus FFPE ; tandis que, les ADNs leucocytaires n'ont présentés aucune mutation.

Il est important de noter que la détection des mutations génétiques dans le sang peut être plus complexe pour les tumeurs cérébrales que pour d'autres types de cancer. Étant donné que la barrière hémato-encéphalique limite la libération de l'ADN tumoral dans la circulation sanguine, les niveaux de ctDNA peuvent être plus faibles pour les tumeurs cérébrales par rapport à d'autres tumeurs solides.

La présence de la mutation du gène *TP53* dans notre cohorte représente 20%, 3 sont des glioblastomes et 1 est un astrocytome. Nos résultats sont différents de la littérature. En fait, les études ont montré que les mutations du *TP53* sont présentes dans environ 30 à 40 % des glioblastomes, ~60% des astrocytomes.

Les fréquences d'incidence des mutations du gène *TP53* dans les gliomes peuvent varier selon les populations étudiées. Des études ont rapporté des taux des mutations du *TP53* dans les gliomes allant de 20 à 40 % dans différentes populations. Par exemple, une analyse réalisée sur des échantillons de gliomes provenant de patients américains a révélé que près de 30 % des tumeurs présentaient des mutations du *TP53*. Une autre étude menée en Chine a montré que ces mutations étaient présentes dans environ 25 % des gliomes [92]

Ces variations peuvent être attribuées à des facteurs génétiques, environnementaux spécifiques à chaque population. Il convient également de noter que les fréquences de mutations du *TP53* peuvent différer selon le type de gliome. Par exemple, les glioblastomes ont tendance à présenter des taux de mutations du *TP53* plus élevés par rapport aux gliomes de bas grade [93].

Les mutations du *TP53* dans les gliomes sont associées à une progression tumorale plus agressive et à une résistance aux traitements [94]. Pollack et al. [95] ont trouvé une relation significative entre la surexpression de gène *TP53* et la survie sans progression à cinq ans ($P < 0,001$). Alors que, Newcomb et al. [96] ont démontré que l'expression altérée de ce gène n'influçait pas la survie des patients atteints de glioblastome. Par ailleurs, Mokhtari et al. [97] ont montré que l'expression de la *TP53* pourrait être utilisée dans la classification actuelle des gliomes pour les études cliniques. Antonelli et al. [98] ont identifié que les mutations *TP53*, pourraient être corrélées avec les gliomes pédiatriques de haut grade.

Résultats et Discussion

Ces données soulignent l'importance des mutations du *TP53* dans la pathogenèse des gliomes et mettent en évidence leur rôle significatif dans la biologie de ces tumeurs cérébrales. Comprendre les fréquences d'incidence spécifiques des mutations du *TP53* dans les différentes populations peut avoir des implications cliniques, en aidant à orienter les décisions de traitement et à développer des approches thérapeutiques personnalisées pour les patients atteints de gliomes.

*Conclusion
et Perspectives*

Conclusion et Perspectives

L'objectif du présent travail était la réalisation d'une étude épidémiologique en examinant les différents paramètres cliniques trouvés dans les dossiers des malades traités au service d'oncologie radiothérapie (CAC) dans la période 2017 – 2021 pour essayer d'établir non seulement une description de la cohorte Algérienne mais également une corrélation significative entre ces différents paramètres. Quant au deuxième objectif, c'était d'effectuer une étude moléculaire sur les patients atteints des gliomes afin d'identifier la présence du polymorphisme Arg72pro du gène *TP53*.

Les résultats épidémiologiques, ont montrés que notre cohorte était relativement jeune par rapport à d'autres études. Cette pathologie est plus fréquentes chez les adultes représentant plus de la moitié de la cohorte. En outre, le sexe masculin est le plus prédominant par rapport au féminin avec un sexe ratio de 1,65. Toutefois, une corrélation entre ces deux paramètres n'était pas statistiquement significative.

Par ailleurs, le siège tumoral le plus fréquent était l'hémisphère cérébral, ainsi que le type histologique le plus dominant étaient le glioblastome, tandis que les gliomes de haut grade sont plus fréquents que ceux de bas grade. Les tests statistiques ont montré des relations significatives entre ces paramètres.

En ce qui concerne la partie moléculaire, l'étude des tissus FFPE et des prélèvements sanguins a révélé des différences entre la technique d'extraction et la qualité des ADN dans les différents types d'échantillons. De même pour la PCR-RFLP et le séquençage utilisés pour le génotypage du polymorphisme Arg72pro (*rs1042522*) de l'exon 6 du gène *TP53* qui a révélé que la mutation a été détectée uniquement dans les tissus et pas dans les ADN leucocytaires. La mutation du *TP53* était présente avec une fréquence de 20% dans notre cohorte, majoritairement dans les glioblastomes.

Les résultats préliminaires de notre étude de recherche ne peuvent être considérés comme définitifs. Pour mieux comprendre l'impact de ce polymorphisme, des recherches génétiques supplémentaires doivent être menées afin d'évaluer les interactions entre les gènes, ce qui permettrait d'approfondir la compréhension de la susceptibilité génétique aux gliomes et le processus de tumérogénèse. Il reste encore beaucoup de travail à faire dans ce domaine, car la plupart des études se limitent actuellement aux liens entre les gènes et la pathologie.

Conclusion et Perspectives

A la lumière de ce travail, les résultats obtenus laissent entrevoir plusieurs perspectives :

- La nécessité d'élargir la taille de la population d'étude pour pouvoir tirer des conclusions sur le profil mutationnel de la population Algérienne.
- Une étude plus approfondie sur les gliomes et les gènes tels que l'*IDH1* et la *TP53* est nécessaire pour apporter plus de lumière sur la fréquence de ces mutations dans notre population et leurs impacts dans le diagnostic, le pronostic et la réponse au traitement.
- L'urgence d'introduire le diagnostic moléculaire dans le diagnostic des gliomes (classification OMS 2016) et ne pas se contenter des critères morphologiques (classification OMS 2007), une approche qui pourra aider à une stratification plus précise de la pathologie et orienter les cliniciens sur quelle voie thérapeutique à adopter.

Références
Bibliographiques

Références Bibliographiques

- 1- Ostrom QT, Gittleman H, Liao P, et al (2017) CBTRUS Statistical Report: Primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2010-2014. *Neuro-oncology* 19:v1–v88. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nox158>
- 2- Bondy ML, Scheurer ME, Malmer B, et al (2008) Brain tumor epidemiology: consensus from the Brain Tumor Epidemiology Consortium. *Cancer* 113:1953–1968. <https://doi.org/10.1002/cncr.23741>
- 3- Ostrom QT, Bauchet L, Davis FG, et al (2014) The epidemiology of glioma in adults: a “state of the science” review. *Neuro-oncology* 16:896–913. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nou087>
- 4- Carlberg M, Hardell L (2014) Decreased survival of glioma patients with astrocytoma grade IV (glioblastoma multiforme) associated with long-term use of mobile and cordless phones. *Int J Environ Res Public Health* 11:10790–10805. <https://doi.org/10.3390/ijerph111010790>
- 5- de Vocht F (2016) Inferring the 1985-2014 impact of mobile phone use on selected brain cancer subtypes using Bayesian structural time series and synthetic controls. *Environ Int* 97:100–107. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.10.019>
- 6- Lehrer S, Green S, Rendo A, et al (2015) Measles may be a Risk Factor for Malignant Brain Tumors. *Brain Tumor Res Treat* 3:65–67. <https://doi.org/10.14791/btrt.2015.3.2.65>
- 7- Johnson KJ, Hainfellner JA, Lau CC, et al (2016) Immune factors and viral interactions in brain cancer etiology and outcomes, The 2016 Brain Tumor Epidemiology Consortium Meeting report. *Clin Neuropathol* 35:280–286. <https://doi.org/10.5414/NP300985>
- 8- Martín-Durán, J. M., & Hejnol, A. (2021) A developmental perspective on the evolution of the nervous system. *Developmental biology*, 475, 181–192. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2019.10.003>
- 9- Liborio Neto, Adail Orrith.(2017) Histologie du système nerveux: la diversité mobile et leur emplacement. Magazine scientifique multidisciplinaire du Centre du savoir. Numéro 8. Année 02, vol. 05. pp 74-93. ISSN:2448-0959
- 10- Galli R, Gritti A, Bonfanti L, Vescovi AL.(2003) Neural stem cells: an overview. *Circ Res.* 2003 04;92(6):598-608.
- 11- Kennea NL, Mehmet H. (2002) Neural stem cells. *J Pathol.*197(4):536-50.

Références Bibliographiques

- 12- Arley, A., Johnstone, C., Hendry, C., & McLafferty, E. (2014) Nervous system: part 1. *Nursing standard (Royal College of Nursing (Great Britain) : 1987)*, 28(31), 46–51.
- 13- Pukenas B. (2011) Normal brain anatomy on magnetic resonance imaging. *Magnetic resonance imaging clinics of North America*, 19(3), 429–vii.
- 14- Claisse, Caroline. (2017). Etudes des mécanismes de régulation émotionnelle chez les individus alcool-dépendants abstinents à l'alcool à court et à long terme.
- 15- Tortora G et Grabowski S .(1994) Principes d'anatomie et de physiologie P1204, P1210.
- 16- Ishibashi, T., Dakin, K. A., Stevens, B., Lee, P. R., Kozlov, S. V., Stewart, C. L., & Fields, R. D. (2006). Astrocytes promote myelination in response to electrical impulses. *Neuron*, 49(6), 823–832. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.02.006>
- 17- Nilsson S. (2011) Comparative anatomy of the autonomic nervous system. *Autonomic neuroscience : basic & clinical*, 165(1), 3–9. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2010.03.018>
- 18- Young B, Heath JW, Livingston C. (2000) traduction de la 4ème édition anglaise: wheather's functional histology. Harcourt publishers limited.
- 19- Poirier J. (2008) le système nerveux, Central et périphérique formation, fonction et rôle
- 20- Poirier J, Catala D, Morere N. (2008) Histologie : les tissus
- 21- Ludwig, P. E., Reddy, V., & Varacallo, M. (2022). Neuroanatomy, Neurons. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- 22- Brinkmann BG, Agarwal A, Sereda MW, et al. (2008) Neuregulin-1/ErbB signaling serves distinct functions in myelination of the peripheral and central nervous system. *Neuron*. 59(4):581-95.
- 23- Lovinger DM. (2008) Communication networks in the brain: neurons, receptors, neurotransmitters, and alcohol. *Alcohol Res Health*.31(3):196-214.
- 24- Bradl M, Lassmann H.(2019) Oligodendrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol*.119(1):37-53
- 25- Hausman D. M. (2019) What Is Cancer?. *Perspectives in biology and medicine*, 62(4), 778–784
- 26- Steven A Goldman (2021) Présentation des tumeurs du système nerveux. Le manuel MSD.

Références Bibliographiques

- 27- Weller M, Wick W, Aldape K, Brada M, Berger M, Pfister SM, Nishikawa R, Rosenthal M, Wen PY, Stupp R, Reifenberger G. Glioma. *Nat Rev Dis Primers*. 2015 Jul 16;1:15017. doi: 10.1038/nrdp.2015.17. PMID: 27188790.
- 28- Hanahan, D. et Weinberg, R. A. (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5), 646-674
- 29- Wirsching HG, Galanis E, Weller M. (2016) Glioblastoma. *Handb Clin Neurol*.134:381-97. doi: 10.1016/B978-0-12-802997-8.00023-2.
- 30- Herholz, K., Langen, K. J., Schiepers, C., & Mountz, J. M. (2012) Brain tumors . *Seminars in nuclear medicine*, 42(6), 356–370.
- 31- Weller, M., Wick, W., Aldape, K. *et al.* (2015) Glioma. *Nat Rev Dis Primers* **1**, 15017. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.17>
- 32- Brouland, J., P., Hottinger, A., F. (2017) Nouvelle classification OMS 2016 des gliomes : quels changements ?, *Rev Med Suisse*, 3, no. 579, 1805–1809.
<https://doi.org/10.53738/REVMED.2017.13.579.1805>
- 33- Gilbert MR, lang ff. Management of patients with low-grade gliomas. *neurolog clin*, 2007.25:1073–88.
- 34- Smith JS, Chang EF, Lamborn KR, et al. (2008) Role of extent of resection in the long- term outcome of low-grade hemispheric gliomas. *j clin oncol*.26:1338–45.
- 35- van den Bent MJ. (2007) Anaplastic oligodendroglioma and oligoastrocytoma. *Neurol Clin*; 25:1089–109.
- 36- Sathornsumetee S, Rich JN, Reardon DA. Diagnosis and treatment of high-grade astrocytoma. *neurolog clin*, 2007.25.1111–39.
- 37- Brouland, J., P., Hottinger, A., F. (2017) Nouvelle classification OMS 2016 des gliomes : quels changements ?, *Rev Med Suisse*, 3, no. 579, 1805–1809.
<https://doi.org/10.53738/REVMED.2017.13.579.1805>
- 38- KOMORI T (2017) The 2016 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System: The Major Points of Revision. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 57:301–311.
<https://doi.org/10.2176/nmc.ra.2017-0010>
- 39- Louis, D.N., Perry, A., Reifenberger, G., et al (2016) The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 131, 803–820.

Références Bibliographiques

- 40- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al (2018) Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 68:394–424.
<https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- 41- Miranda-Filho A, Piñeros M, Soerjomataram I, et al (2017) Cancers of the brain and CNS: global patterns and trends in incidence. *Neuro Oncol* 19:270–280.
<https://doi.org/10.1093/neuonc/now166>
- 42- <https://gco.iarc.fr/today/online-analysis>
- 43- Bondy ML, Scheurer ME, Malmer B, et al. (2008) Brain Tumor Epidemiology Consortium. Brain tumor epidemiology: consensus from the Brain Tumor Epidemiology Consortium. *Cancer*.1;113:1953-68. doi: 10.1002/cncr.23741
- 44- Bauchet L, Ostrom QT (2019) Epidemiology and Molecular Epidemiology. *Neurosurgery Clinics* 30:1–16.
<https://doi.org/10.1016/j.nec.2018.08.010>
- 45- Leece R, Xu J, Ostrom QT, et al (2017) Global incidence of malignant brain and other central nervous system tumors by histology, 2003–2007. *Neuro Oncol* 19:1553–1564.
<https://doi.org/10.1093/neuonc/nox091>
- 46- Gu J, Liu Y, Kyritsis AP, Bondy ML (2009) Molecular epidemiology of primary brain tumors. *Neurotherapeutics* 6:427–435.
<https://doi.org/10.1016/j.nurt.2009.05.001>
- 47- Ostrom QT, Cioffi G, Gittleman H, et al (2019) CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2012-2016. *Neuro-oncology* 21:v1–v100.
<https://doi.org/10.1093/neuonc/noz150>
- 48- Carlberg M, Hardell L (2017) Evaluation of Mobile Phone and Cordless Phone Use and Glioma Risk Using the Bradford Hill Viewpoints from 1965 on Association or Causation. *Biomed Res Int* 2017:.
<https://doi.org/10.1155/2017/9218486>
- 49- Karipidis K, Elwood M, Benke G, et al (2018) Mobile phone use and incidence of brain tumour histological types, grading or anatomical location: a population-based ecological study. *BMJ Open* 8:e024489.
<https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-024489>
- 50- Olsson A, Bouaoun L, Auvinen A, et al (2019) Survival of glioma patients in

Références Bibliographiques

- relation to mobile phone use in Denmark, Finland and Sweden. *J Neurooncol* 141:139–149.
<https://doi.org/10.1007/s11060-018-03019-5>
- 51- Li X, Cao H, Liu Y (2018) Genetic epidemiology and risk factors for brain tumors. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 43:345–353.
- 52- McNeill KA (2016) Epidemiology of Brain Tumors. *Neurol Clin* 34:981–998.
<https://doi.org/10.1016/j.ncl.2016.06.014>
- 53- Wiedmann MKH, Brunborg C, Di Ieva A, et al (2017) The impact of body mass index and height on the risk for glioblastoma and other glioma subgroups: a large prospective cohort study. *Neuro-oncology* 19:976–985.
<https://doi.org/10.1093/neuonc/now272>
- 54- Ahn S, Han K-D, Park Y-M, et al (2020) Cigarette Smoking Is Associated with Increased Risk of Malignant Gliomas: A Nationwide Population-Based Cohort Study. *Cancers (Basel)* 12:
<https://doi.org/10.3390/cancers12051343>
- 55- Malmer B, Adatto P, Armstrong G, et al (2007) GLIOGENE an International Consortium to Understand Familial Glioma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 16:1730–1734.
<https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-07-0081>
- 56- Diwanji TP, Engelman A, Snider JW, et al. (2017) Epidemiology, diagnosis, and optimal management of glioma in adolescents and young adults. *Adolesc Health Med Ther* 8:99–113.
<https://doi.org/10.2147/AHMT.S53391>
- 57- Ahmed R, Oborski MJ, Hwang M, et al (2014) Malignant gliomas: current perspectives in diagnosis, treatment, and early response assessment using advanced quantitative imaging methods. *Cancer Management and Research* 6:149.
<https://doi.org/10.2147/CMAR.S54726>
- 58- IJzerman-Korevaar, M., Snijders, T. J., de Graeff, A., Teunissen, S. C. C. M., & de Vos, F. Y. F. (2018). Prevalence of symptoms in glioma patients throughout the disease trajectory: a systematic review. *Journal of neuro-oncology*, 140(3), 485–496.
- 59- Jiang H, Cui Y, Wang J, Lin S. (2017) Impact of epidemiological characteristics of supratentorial gliomas in adults brought about by the 2016 world health organization

Références Bibliographiques

- classification of tumors of the central nervous system. *Oncotarget*. 8(12):20354-20361. doi: 10.18632/oncotarget.13555.
- 60- Chen, R., Smith-Cohn, M., Cohen, A. L., & Colman, H. (2017) Glioma Subclassifications and Their Clinical Significance. *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 14(2), 284–297. <https://doi.org/10.1007/s13311-017-0519->
- 61- Bush NAO, Chang SM, Berger MS. (2017) Current and future strategies for treatment of glioma. *Neurosurg Rev* 40:1–14. <https://doi.org/10.1007/s10143-016-0709-8>
- 62- Li T, Li J, Chen Z, Zhang S, et al. (2022) Glioma diagnosis and therapy: Current challenges and nanomaterial-based solutions. *J Control Release*. 352:338-370. doi: 10.1016/j.jconrel.2022.09.065
- 63- . Khosla D (2016) Concurrent therapy to enhance radiotherapeutic outcomes in glioblastoma. *Ann Transl Med* 4:54. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2305-5839.2016.01.25>
- 64- Uhm JH, Porter AB (2017) Treatment of Glioma in the 21st Century: An Exciting Decade of Postsurgical Treatment Advances in the Molecular Era. *Mayo Clinic Proceedings* 92:995–1004. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2017.01.010>
- 65- Goldbrunner R, Ruge M, Kocher M, et al (2018) The Treatment of Gliomas in Adulthood. *Dtsch Arztebl Int* 115:356–364. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2018.0356>
- 66- Xiong L, Wang F, Qi Xie X (2019) Advanced treatment in high-grade gliomas. *J BUON* 24:424–430
- 67- Berger TR, Wong ET (2020) Tumor treating fields in neuro-oncology: integration of alternating electric fields therapy into promising treatment strategies. *Chin Clin Oncol*. <https://doi.org/10.21037/cco.2020.02.04>
- 68- iang, J., Lv, X., Lu, C. *et al.* (2020) Prognostic factors of patients with Gliomas – an analysis on 335 patients with Glioblastoma and other forms of Gliomas. *BMC Cancer* 20, 35. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-6511-6>
- 69- Weller M, Wick W, Aldape K, et al. (2015) Glioma. *Nat Rev Dis Primers*.16;1:15017

Références Bibliographiques

- 70- B. W. Kristensen, L. P. Priesterbach-Ackley, J. K. Petersen, et al (2019) Molecular pathology of tumors of the central nervous system. *Annals of Oncology* 30: 1265–1278.
- 71- Vigneswaran K, Neill S, Hadjipanayis CG.(2015) Beyond the World Health Organization grading of infiltrating gliomas: advances in the molecular genetics of glioma classification. *Ann Transl Med.*;3(7):95. doi: 10.3978/j.issn.2305-5839.2015.03.57. PMID: 26015937; PMCID: PMC4430738.
- 72- Verhaak RG, Hoadley KA, Purdom E, et al. (2010) Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1. *Cancer Cell.*17(1):98– 110. doi:10.1016/j.ccr.2009.12.020.
- 73- Yan H, Parsons DW, Jin G, et al. (2009) IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N Engl J Med.*360(8):765–73. doi:10.1056/NEJMoa0808710
- 74- Karsy M, Guan J, Cohen AL, Jensen RL, Colman H. (2017) New Molecular Considerations for Glioma: IDH, ATRX, BRAF, TERT, H3 K27M. *Curr Neurol Neurosci Rep.* Feb;17(2):19. doi: 10.1007/s11910-017-0722-5. PMID: 28271343.
- 75- Appin CL, Brat DJ (2015) Molecular Pathways in Gliomagenesis and Their Relevance to Neuropathologic Diagnosis: Advances In Anatomic Pathology 22:50–58.
<https://doi.org/10.1097/PAP.0000000000000048>
- 76- Soomro SH, Ting LR, Qing YY, Ren M. (2017) Molecular biology of glioblastoma: Classification and mutational locations. *J Pak Med Assoc.* Sep;67(9):1410-1414. PMID: 28924284.
- 77- Hatanpaa KJ, Burma S, Zhao D, et al. (2010) Epidermal growth factor receptor in glioma: signal transduction, neuropathology, imaging, and radioresistance. *Neoplasia.*12(9):675-84. doi: 10.1593/neo.10688.
- 78- Krabchi, Kada & Lavoie, Josée & Bronsard, et al (2006) Activité dominante négative des protéines p53. *médecine/sciences.* 22. 10.1051/medsci/2006223301.
- 79- Nieder C, Petersen S, Petersen C, Thames H (2000) The challenge of p53 as prognostic and predictive factor in gliomas. *Cancer Treat Rev* 26:67–73
- 80- Analytical Methods Committee Amctb No. PCR - the polymerase chain reaction. *Anal Methods.* 2013 Dec 19;6(2):333-336.
- 81- Hafner A, Bulyk ML, Jambhekar A, Lahav G. (2019) The multiple mechanisms that regulate p53 activity and cell fate. *Nat Rev Mol Cell Biol.*20(4):199–210.

Références Bibliographiques

- 82- Bergqvist J, Iderberg H, Mesterton J, Henriksson R (2018) The effects of clinical and sociodemographic factors on survival, resource use and lead times in patients with high-grade gliomas: a population-based register study. *J Neurooncol* 139:599–608. <https://doi.org/10.1007/s11060-018-2899-0>
- 83- Deb S, Pendharkar AV, Schoen MK, et al (2017) The effect of socioeconomic status on gross total resection, radiation therapy and overall survival in patients with gliomas. *J Neurooncol* 132:447–453.
<https://doi.org/10.1007/s11060-017-2391-2>
- 84- Ndubuisi CA, Ohaegbulam SC, Chikani MO, et al (2017) Some characteristics of gliomas managed at a Neurosurgery centre in Nigeria. *Niger Postgrad Med J* 24:44–47. https://doi.org/10.4103/npmj.npmj_2_17
- 85- Yang P, Wang Y, Peng X, et al (2013) Management and survival rates in patients with glioma in China (2004-2010): a retrospective study from a single-institution. *J Neurooncol* 113:259–266.
<https://doi.org/10.1007/s11060-013-1103-9>
- 86- Ndubuisi CA, Ohaegbulam SC, Chikani MO, et al (2017) Some characteristics of gliomas managed at a Neurosurgery centre in Nigeria. *Niger Postgrad Med J* 24:44–47.
- 87- Trabelsi S, Brahim DH-B, Ladib M, et al (2014) Glioma epidemiology in the central Tunisian population: 1993-2012. *Asian Pac J Cancer Prev* 15:8753–8757
- 88- Larjavaara S, Mäntylä R, Salminen T, et al (2007) Incidence of gliomas by anatomic location. *Neuro-oncology* 9:319–325.
<https://doi.org/10.1215/15228517-2007-016>
- 89- Crocetti, E., Trama, A., Stiller, C., et al. (2012) Epidemiology of glial and non-glial brain tumours in Europe. *European journal of cancer*, 48(10), 1532–1542. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2011.12.013>.
- 90- Rasmussen BK, Hansen S, Laursen RJ, Kosteljanetz M, Schultz H, Nørgård BM, Guldberg R, Gradel KO. Epidemiology of glioma: clinical characteristics, symptoms, and predictors of glioma patients grade I-IV in the the Danish Neuro-Oncology Registry. *J Neurooncol*. 2017 Dec;135(3):571-579. doi: 10.1007/s11060-017-2607-5. Epub 2017 Aug 31. PMID: 28861666.
- 91- Rasmussen BK, Hansen S, Laursen RJ, et al (2017). Epidemiology of glioma: clinical characteristics, symptoms, and predictors of glioma patients grade I-IV in

Références Bibliographiques

- the the Danish Neuro-Oncology Registry. *J Neurooncol.* 135(3):571-579. doi: 10.1007/s11060-017-2607-5.
- 92- H. Ohgaki et P. Kleihues, « Genetic pathways to primary and secondary glioblastoma », *Am. J. Pathol.*, vol. 170, no 5, p. 1445-1453, mai 2007, doi: 10.2353/ajpath.2007.070011.
- 93- H. Noor, N. E. Briggs, K. L. McDonald, J. Holst, et al « TP53 Mutation Is a Prognostic Factor in Lower Grade Glioma and May Influence Chemotherapy Efficacy », *Cancers*, vol. 13, no 21, p. 5362, oct. 2021, doi: 10.3390/cancers13215362.
- 94- Do H, Dobrovic A. Sequence artifacts in DNA from formalin-fixed tissues: causes and strategies for minimization. *Clin Chem.* 2015; 61(1): 64–71.
- 95- Pollack IF, Finkelstein SD, Woods J, et al (2002) Expression of p53 and prognosis in children with malignant gliomas. *N Engl J Med* 346:420–427.
- 96- Newcomb EW, Cohen H, Lee SR, et al (1998) Survival of patients with glioblastoma multiforme is not influenced by altered expression of P16, P53, EGFR, MDM2 or Bcl-2 genes. *Brain Pathol* 8:655–667.
- 97- Mokhtari K, Paris S, Aguirre-Cruz L, et al (2005) Olig2 expression, GFAP, p53 and 1p loss analysis contribute to glioma subclassification. *Neuropathol Appl Neurobiol* 31:62–69.
- 98- Antonelli M, Buttarelli FR, Arcella A, et al (2010) Prognostic significance of histological grading, p53 status, YKL-40 expression, and IDH1 mutations in pediatric high-grade gliomas. *J Neurooncol* 99:209–215.

Les Sites Web:

- 1- Web1: <https://cancer.ca/fr/cancer-information/cancer-types/neuroblastoma/what-is-neuroblastoma/the-nervous-system>
- 2- Web2 : neuromedia.ca
- 3- Web3 : <https://www.docteurlic.com/encyclopedie/moelle-epiniere.aspx>

La Classification histologique des gliomes :

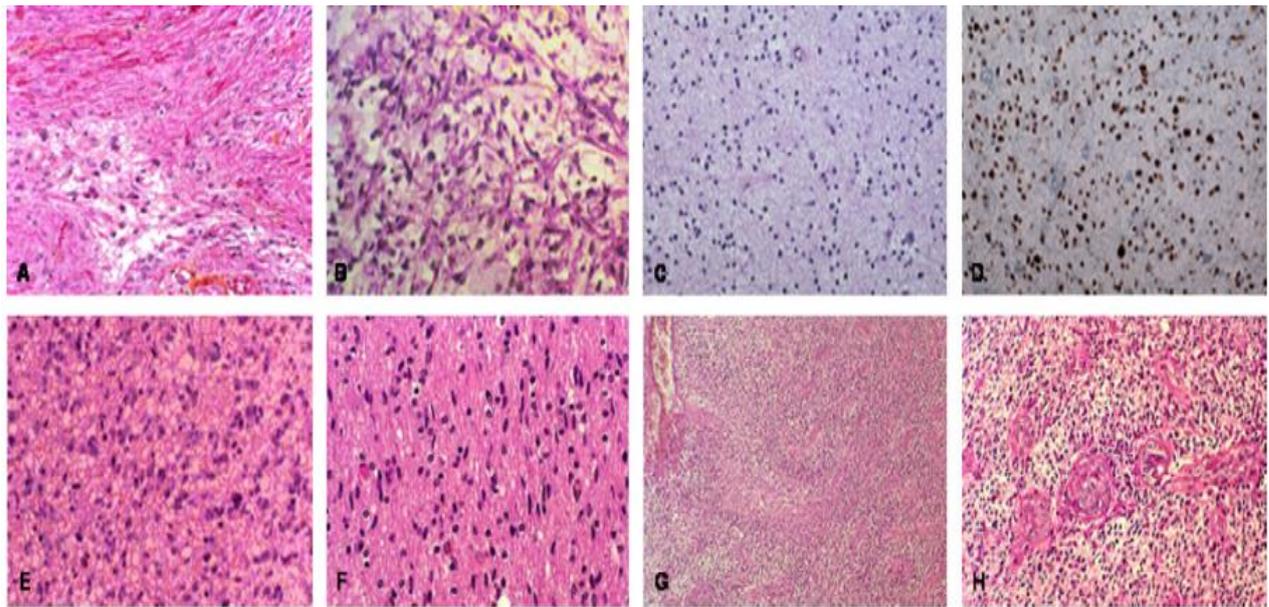


Fig. 1 – Les tumeurs astrocytaires selon l’OMS : A : astrocytome pilocytique dans sa forme classique, biphasique (OMS, grade I) (coloration HPS – hématoxyline, phloxine, safran, X216) ; B : astrocytome pilocytique de type pilomyxoïde (OMS, grade II) (coloration HPS – X216) ; C : astrocytome diffus de type fibrillaire (OMS, grade II) (coloration HPS – X216) ; D : OLIG2 est exprimé dans de nombreuses cellules tumorales dans les astrocytomes fibrillaires (OMS, grade II) (immunopéroxydase, anticorps anti-OLIG2, X180) ; E : astrocytome anaplasique ; présence de mitoses et d’atypies nucléaires (OMS, grade III) (coloration HPS – X180) ; F : parenchyme cérébral infiltré par des cellules tumorales isolées (périphérie d’un glioblastome (OMS, grade IV) (coloration HPS – X180) ; G et H : la présence de palissades périnécrotiques (G) (coloration HPS – X40) et d’une prolifération microvasculaire (H) caractérisent le glioblastome (OMS, grade IV) (coloration HPS – X75).

Astrocytic tumors according to the WHO: A: pilocytic astrocytoma showing typical biphasic pattern (WHO, grade I) (hematoxylin, phloxin, saffran – HPS coloration, X216); B: pilomyxoid astrocytoma (WHO, grade II) (HPS coloration, X216); C: diffuse astrocytoma, fibrillary subtype (WHO, grade II) (HPS coloration, X216); D: OLIG2 expression in fibrillary astrocytoma (immunoperoxidase with anti-OLIG2 antibody, X180); E: anaplastic astrocytoma with nuclear atypia and mitotic figures (WHO, grade III) (HPS coloration, X180); F: brain parenchyma infiltrated by isolated tumor cells (periphery of a glioblastoma, WHO grade IV) (HPS coloration, X180); G and H: high-cellular density, palisadic necrosis (G, HPS coloration, X40) and microvascular proliferation (H, HPS coloration, X75) characterize glioblastoma (WHO, grade IV).

La classification selon l’OMS 2016 des tumeurs gliales :

Grades	Tumeurs diffuses astrocytaires et oligodendrogiales
II	Astrocytome diffus, IDH-muté
II	Astrocytome gémistocytaire, IDH-muté
II	Astrocytome diffus, IDH-non muté
II	Astrocytome diffus, NOS
III	Astrocytome anaplasique, IDH-muté
III	Astrocytome anaplasique, IDH-non muté
III	Astrocytome anaplasique, NOS
IV	Glioblastome, IDH-non muté Glioblastome à cellules géantes Gliosarcome Glioblastome épithélioïde
IV	Glioblastome, IDH-muté
IV	Glioblastome, NOS
IV	Gliome diffus de la ligne médiane, H3 K27M-muté
II	Oligodendrogliome, IDH-muté et codélétion 1p-19q
II	Oligodendrogliome, NOS
III	Oligodendrogliome anaplasique, IDH-muté et codélétion 1p-19q
III	Oligodendrogliome anaplasique, NOS
II	Oligoastrocytome, NOS
III	Oligoastrocytome anaplasique, NOS
Grades	Autres tumeurs astrocytaires
I	Astrocytome pilocytique
I	Astrocytome pilomyxoïde

Annexe 02

II	Astrocytome subépendymaire à cellules géantes
III	Xanthoastrocytome pléomorphe
	Xanthoastrocytome pléomorphe anaplasique
Grades	Tumeurs épendymaires
I	Subépendymome
I	Ependymome myxopapillaire
I	Ependymome
	Ependymome papillaire
	Ependymome à cellules claires
	Ependymome tanacytique
II ou III	Ependymome, RELA fusion-positif
III	Ependymome anaplasique
Grades	Autres gliomes
II	Gliome chordoïde du 3 ^e ventricule
I	Gliome angiocentrique
--	Astroblastome

Brouland, J., P., Hottinger, A., F. (2017) Nouvelle classification OMS 2016 des gliomes : quels changements ?, *Rev Med Suisse*, 3, no. 579, 1805–1809. <https://doi.org/10.53738/REVMED.2017.13.579.1805>

Les aberrations génétiques des gliomes :

Table 1. Genetic aberrations presented in alphabetical order for gliomas

Genetic aberration	Diagnostic (D), prognostic (P) and therapeutic/predictive (T) value
<i>ATRX</i> mutation (Alpha-thalassemia/mental retardation syndrome X)	D Frequently present in IDH-mutant astrocytic tumors
<i>BRAF</i> V600E mutation (B-raf)	D Present in 65%–75% of pleomorphic xanthoastrocytomas, 25%–60% of gangliogliomas, and ~50% of epithelioid glioblastomas D Also found in dysembryoplastic neuroepithelial tumors, SEGAs, pilocytic astrocytomas T Possible therapeutic target
<i>CDKN2A/B</i> homozygous deletion (Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A/B)	D Frequent feature in pleomorphic xanthoastrocytomas D Occurs in IDH-wildtype astrocytic tumors with piloid features P Associated with aggressive course in IDH-mutant diffuse astrocytic tumors
<i>CIC</i> mutation (Homolog of <i>capicua</i> drosophila)	D Present in majority of (but not specific for) oligodendroglial tumors
<i>EGFR</i> amplification/ <i>EGFR</i> III (Epidermal growth factor receptor)	D High copy number amplification common in IDH-wildtype glioblastomas (~40%) D <i>EGFR</i> III present in about half of <i>EGFR</i> -amplified glioblastomas T Possible therapeutic target
<i>FUBP1</i> mutation (Far upstream element binding protein)	D Present in a subset of oligodendrogliomas
H3 G34 mutation [H3 Histone Family Member 3A (H3F3A)]	D Occurs most often in high-grade, IDH-wildtype tumors in the cerebral hemisphere in young patients with glial or embryonal histology
H3 K27M mutation [H3 Histone Family Member 3A (H3F3A) or Histone Cluster 1 H3 Family Member B/C (HIST1H3B/C)]	D Required for the diagnosis 'diffuse midline glioma (DMG), H3 K27M-mutant' D Occasionally also found in other tumors such as posterior fossa ependymomas, gangliogliomas, pilocytic astrocytomas. P Signifies poor prognosis in DMG, H3 K27M-mutant (mean survival of +/- 9 months for both pediatric and adult patients); prognostic meaning in other tumors less clear T Potentially predictive of effect of EZH2 inhibitors
<i>IDH1/IDH2</i> mutation (Isocitrate dehydrogenase1/2)	D Frequent in WHO grade II and III astrocytomas (>80%), oligodendrogliomas and 'secondary' glioblastomas P IDH-mutant status of astrocytic tumor signifies better prognosis compared with that of IDH-wildtype astrocytic tumor with the histologically same WHO grade T <i>IDH1</i> R132H mutation may represent a promising target for mutation specific vaccination
<i>KIAA1549-BRAF</i> gene fusion (<i>KIAA1549</i> , uncharacterized; abbreviation for <i>BRAF</i> listed above)	D Present in ~70% of pilocytic astrocytomas D Also found in diffuse DLGNT, pilomyxoid astrocytoma and ganglioglioma D Rare in other gliomas
<i>MGMT</i> promoter hypermethylation (O-6-methylguanine–DNA methyltransferase)	P Reported as independent favorable prognostic factor in glioblastomas (irrespective of treatment) T Predictive for response to temozolomide
<i>RELA</i> fusion to <i>C11orf95</i> (V-rel avian reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A) (<i>C11orf95</i> , uncharacterized)	D Defining feature for the diagnosis 'ependymoma, <i>RELA</i> fusion-positive' T <i>C11orf95-RELA</i> fusion protein potential therapeutic target
<i>TERT</i> promoter mutation (Telomerase reverse transcriptase)	D Present in almost all IDH-mutant, 1p/19q-codeleted oligodendrogliomas D Frequent in IDH-wildtype GBM D/P <i>TERT</i> promoter mutation in histologically lower-grade, IDH-wildtype astrocytoma indicates aggressive behavior ('molecular glioblastoma')
<i>TP53</i> mutation (Tumor protein p53)	D Frequent in IDH-mutant astrocytic tumors (>80%), but also quite frequent in IDH-wildtype diffuse gliomas; very infrequent in oligodendrogliomas
<i>YAP1</i> fusion (Yes-associated protein 1)	D Present in some supratentorial ependymomas, primarily in children P Generally favorable prognosis T Potential therapeutic target
1p/19q codeletion [Short arm of chromosome 1 (1p)] [Long arm of chromosome 19 (19q)]	D Required for diagnosis of 'canonical' oligodendroglioma (as it is the complete codeletion of these arms that counts, ideally the molecular test allows for discriminating complete from partial loss of 1p and 19q)

B. W. Kristensen, L. P. Priesterbach-Ackley, J. K. Petersen, et al (2019) Molecular pathology of tumors of the central nervous system. *Annals of Oncology* 30: 1265–1278.



ETUDE GENETIQUE SUR LES GLIOMES

Fiche de consentement

Je soussigné(e), , reconnais avoir été informé par le chercheur indiqué ci-dessus sur les examens génétiques concernant ***les gliomes*** et donne mon consentement pour un prélèvement sanguin afin d'effectuer ou de faire effectuer les études génétiques sur ADN qui peuvent aider au diagnostic ou à la prévention de la maladie.

- sur moi-même
- sur mon enfant mineur : Nom et Prénom-----
- sur la personne placée sous ma tutelle : Nom et Prénom-----

-Je donne mon accord pour que la partie de mon prélèvement non utilisée soit à la disposition de la communauté scientifique à des fins de **recherche biomédicale**.

-Je m'oppose à ce que la partie de mon prélèvement non utilisée soit à la disposition de la communauté scientifique.

Signature

Questionnaire sur les tumeurs cérébrales

Information générale :

Service :

Numéro du dossier : Date :

Nom : Prénom : Sexe : Féminin masculin

Date de naissance : Age :

Adresse actuelle :

Origine :

Poids : (Kg) Taille : (Cm)

Situation familiale : Marié (e) Célibataire Divorcé Autres

Niveau d'étude : Jamais d'étude Primaire Moyen Secondaire Universitaire

Profession :

Antécédents personnels :

Antécédents familiaux : cas similaire dans la famille : Oui Non

Si oui précisez le membre de la famille atteint :

Autre tumeurs : Oui Non

Si oui, précisez les membres de la famille atteint :

Autres antécédents familiaux :

Mode de vie :

Usage du téléphone portable : Fréquent Modéré Jamais

Tabagisme actif : Oui Non

Tabagisme passif : Oui Non

Usage de plastique : Oui Non

Radiothérapie antérieure : Oui Non

Diagnostic de la maladie :

Découverte en : (Mois)/..... (Année)

Type histologique : Stade :

Résultat biopsie :

Traitement : Chirurgie : Oui Non si oui, précisez le type de la chirurgie :

Chimiothérapie : Oui Non si oui, précisez le protocole :

Radiothérapie : Oui Non si oui, précisez le nombre de séance :

Autres traitement : Oui Non

Etat actuel du patient : décédé(e) : maladie actuelle autres

Vivant(e) : stationnaire rechute rémission guérison

Préparation des tissus FFPE :

Prélèvement :

Le matériel est prélevé de différentes façons :

- Biopsie (directe comme pour la peau, le muscle ou avec endoscopie pour les organes des appareils respiratoire, digestif, urinaire).
- Ponction à l'aiguille (comme pour le liquide pleural, péritonéal, articulaire, pour les ganglions, les seins, la moelle osseuse).

Le matériel histologique peut aussi provenir :

- D'une pièce opératoire
- D'une autopsie
- Ou de la dissection d'organe en expérimentation animale.

Conservation :

Afin de conserver l'échantillon dans un état le plus proche possible de l'état in vivo, deux moyens de conservation peuvent être utilisés :

- La congélation, utilisée pour les prélèvements dont le diagnostic doit être connu rapidement ;
- La fixation par un produit chimique comme le formol ou le Bouin, qui a pour effet de polymériser les protéines présentes dans l'organe.

Fixation :

- La conservation des structures et le durcissement des pièces.
- Immédiatement après le prélèvement
- Par immersion du matériel dans un grand volume de liquide fixateur.
- Les liquides fixateurs les plus utilisés sont le formol ou le liquide de Bouin (mélange de formol et d'acide picrique).
- La durée de la fixation varie selon le volume des prélèvements:
 - quelques heures pour un petit fragment biopsique
 - plusieurs semaines pour un cerveau humain entier.



Déshydratation :

L'eau tissulaire est remplacée par de la paraffine.

Mais ces milieux ne sont pas miscibles entre eux.

On procède donc par étapes en remplaçant :

- l'eau par un alcool (70°,95°,100°)
- l'alcool par un solvant organique (Toluène),
- Toluène par la paraffine

Élimination de l'eau permettant ensuite l'inclusion dans la paraffine

INCLUSION :

Le prélèvement est imprégné de paraffine fondue afin de le rigidifier pour pouvoir le couper ensuite



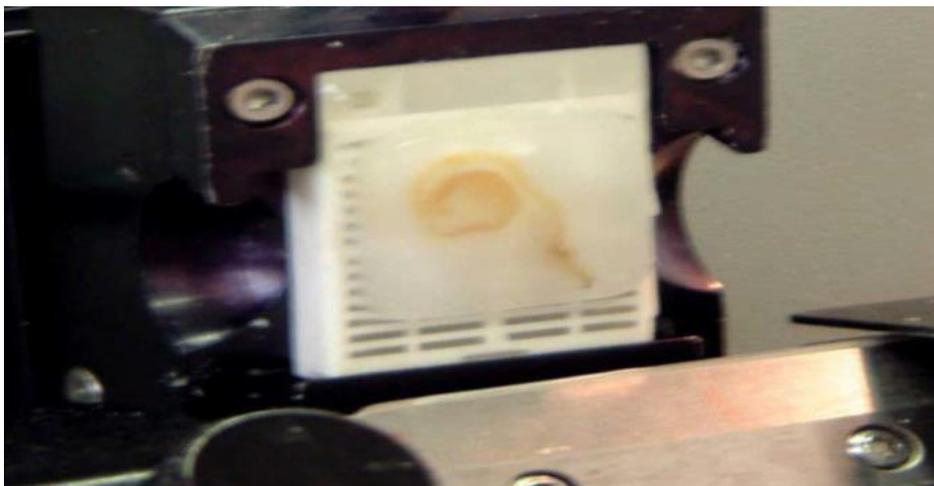
Un moule est rempli de paraffine liquide.



Le prélèvement est mis en place et le bloc mis à refroidir.



Démoulage, après refroidissement.



Mise en place du bloc sur le microtome.



Confection des coupes : le ruban

A partir du Centre de Recherche en Biotechnologie CRBt

Protocole d'extraction d'ADN :

La technique d'extraction d'ADN employée sur un prélèvement de sang total utilise un solvant inorganique, le NaCl, dite méthode de *Miller*. L'extraction se fait en trois étapes ; la préparation des leucocytes, l'extraction de l'ADN proprement dite et enfin la solubilisation (Miller *et al.*, 1988). Après réalisation d'un prélèvement sanguin de 5 à 10 ml dans des tubes vacutainer EDTA, l'extraction de l'ADN est lancée immédiatement ou si les conditions ne le permettent pas dans les 3 à 5 jours qui suivent la réalisation du prélèvement conservé à +4°C (dans un simple réfrigérateur). L'extraction de l'ADN se fait en 3 étapes :

- **Préparation des leucocytes** : les leucocytes sont séparés du sang par lyse hypotonique dans un tampon Tris-EDTA (Tris 20 mM, EDTA 5 mM, pH 7,5) (TE) 20:5 pendant 10 minutes dans la glace. Après lavage, le culot est remis en suspension dans le TE 20:5.
- **Extraction de l'ADN** : se fait par ajout d'un tampon de lyse (NaCl 400 mM, EDTA 2 mM, Tris 10 mM, pH 8,2), du Sodium Dodecyle Sulfate (SDS) à 10% et de la protéinase K à 10 mg/ml. Les tubes sont mis en rotation sur une roue, à 27°C, pendant une nuit, et sont refroidi le lendemain dans la glace pendant 5 minutes. On ajoute ensuite 1 ml de NaCl 4M pour la libération de l'ADN nucléaire dans le lysat ainsi que la digestion et l'élimination des protéines qui lui sont associées par précipitation avec ce solvant inorganique. La pelote d'ADN est formée dans le surnageant par précipitation avec l'éthanol pur. Une fois la pelote d'ADN récupérée avec une pipette Pasteur, elle est rincée deux fois dans l'éthanol à 70% et mise ensuite dans un tube Nunc® de 1,5 ml.
- **Solubilisation** : l'ADN ainsi obtenu est solubilisé en phase aqueuse, et ce en ajoutant entre 300 et 1000 µl d'eau bidistillée selon la grosseur de la pelote. On laisse une nuit sur un agitateur-rotateur à 37°C, puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète. Cette opération dure entre 1 et 2 jours.

Résumé

Les gliomes représentent le plus agressif et fréquent groupe de tumeurs de système nerveux central, elles représentent plus de la moitié de tous les cas. Les recherches épidémiologiques, démographiques et cliniques ont pu éclaircir notre compréhension de ces tumeurs. Cependant, les données sur les populations des pays en voie de développement restent très insuffisantes, surtout du fait de la rareté de ces tumeurs et le manque de la régularité des enregistrements médicaux.

Le but de notre étude était de réaliser un profil épidémiologique et génétique des patients atteints de gliomes dans la population est-Algérienne et la réalisation d'une étude moléculaire sur le polymorphisme Arg72Pro du gène *TP53*.

La partie épidémiologique est basée sur l'étude des dossiers de patients admis au niveau du service d'oncologie-radiothérapie du Centre Hospitalo-Universitaire de Constantine entre 2017 et 2021, au total 98 dossiers ont été examinés, ce qui nous a permis d'avoir quelques résultats significatifs entre les différents paramètres, à savoir l'âge, le sexe, le type histologique et le grade. Pour la partie moléculaire, elle a concerné 15 échantillons à partir des tissus FFPE, ainsi que 10 à partir de prélèvements sanguins. Nous avons analysé le polymorphisme Arg72pro (rs1042522) de l'exon 6 du gène, par PCR-RFLP et séquençage capillaire pour établir sa présence dans la population de gliomes ainsi que sa fréquence.

Les résultats ont montré une corrélation significative entre les différents paramètres épidémiologiques et cliniques, et la mutation était présente avec une fréquence de 20% majoritairement chez les patients de glioblastome.

Mots clés : gliome, mutation génétique, *TP53*, épidémiologie.

Abstract

Gliomas are the most aggressive and frequent group of central nervous system tumors, accounting for more than half of all cases. Epidemiological, demographic and clinical research has helped in our understanding of these tumors. However, data on populations in developing countries remain very limited, especially because of the low incidence of these tumors and the lack of epidemiological data. The purpose of our study was to establish an epidemiological and genetic profile of patients with glioma in the East Algerian population and to carry out a molecular study on the polymorphism Arg72Pro of the *TP53* gene.

The epidemiological part based on the study of patient records admitted to the oncology-radiotherapy department of the Hospitalo-University of Constantine between 2017 and 2021. In total, 98 files were reviewed, allowing us to have some significant results between the different parameters, namely age, gender, histological type and grade. Regarding the molecular study, it concerned 15 samples from FFPE tissues, as well as 10 from blood samples. Arg72pro (rs1042522) polymorphism of the gene exon 6 was analyzed by PCR-RFLP and capillary sequencing to establish its presence and frequency in the glioma population.

The results showed a significant correlation between the various epidemiological and clinical parameters, and the mutation was present with a frequency of 20% mostly in glioblastoma patients.

Keywords: glioma, genetic mutation, *TP53*, epidemiology.

ملخص

الأورام الدبقية هي المجموعة الأكثر عدوانية وتكرارًا من أورام الجهاز العصبي المركزي، وتمثل أكثر من نصف جميع الحالات. تمكنت الأبحاث الوبائية والديموغرافية والسريرية من إلقاء الضوء على فهمنا لهذه الأورام. بيد أن البيانات المتعلقة بسكان البلدان النامية لا تزال غير كافية إلى حد كبير، لا سيما بسبب ندرة هذه الأورام وعدم انتظام التسجيل الطبي.

كان الغرض من دراستنا هو تحقيق صورة وبائية وجينية لمرضى الورم الدبقي في سكان شرق الجزائر *TP53* لجين *Arg72Pro* وإجراء دراسة جزيئية حول تعدد الأشكال.

يعتمد الجزء الوبائي على دراسة سجلات المرضى المقبولين في قسم الأورام والعلاج الإشعاعي بمركز جامعة قسنطينة بين عامي 2017 و2021، وتم مراجعة ما مجموعه 98 ملفًا، مما سمح لنا بتحقيق بعض النتائج الهامة بين المعايير المختلفة، أي العمر والجنس والنوع النسيجي والدرجة، بالنسبة للجزء الجزيئي، تم (*Arg72pro* (rs1042522)، و10 عينات من عينات الدم FFPE وهي تتعلق بـ 15 عينة من أنسجة والتسلسل الشعري لتحديد وجوده وتواتره في PCR-RFLP بواسطة exon 6 تحليل تعدد أشكال الجين مجموعة الورم الدبقي.

أظهرت النتائج ارتباطًا كبيرًا بين مختلف المعايير الوبائية والسريرية، وكانت الطفرة موجودة بتواتر 20% في الغالب في مرضى الورم الأرومي الدبقي.

الكلمات الرئيسية: الورم الدبقي، الطفرة الجينية، علم الأوبئة، *TP53*

Année universitaire : 2022-2023

Présenté par : KHIROUNIA Cheima
DAHMRI Nour El-Houda

Etude du profil mutationnel du gène *TP53* chez les patients atteints de gliome dans l'Est Algérien.

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique Moléculaire

Résumé

Les gliomes représentent le plus agressif et fréquent groupe de tumeurs de système nerveux central, elles représentent plus de la moitié de tous les cas. Les recherches épidémiologiques, démographiques et cliniques ont pu éclaircir notre compréhension de ces tumeurs. Cependant, les données sur les populations des pays en voie de développement restent très insuffisantes, surtout du fait de la rareté de ces tumeurs et le manque de la régularité des enregistrements médicaux.

Le but de notre étude était de réaliser un profil épidémiologique et génétique des patients atteints de gliomes dans la population est-Algérienne et la réalisation d'une étude moléculaire sur le polymorphisme Arg72Pro du gène *TP53*.

La partie épidémiologique est basée sur l'étude des dossiers de patients admis au niveau du service d'oncologie-radiothérapie du Centre Hospitalo-Universitaire de Constantine entre 2017 et 2021, au total 98 dossiers ont été examinés, ce qui nous a permis d'avoir quelques résultats significatifs entre les différents paramètres, à savoir l'âge, le sexe, le type histologique et le grade. Pour la partie moléculaire, elle a concerné 15 échantillons à partir des tissus FFPE, ainsi que 10 à partir de prélèvements sanguins. Nous avons analysé le polymorphisme Arg72pro (rs1042522) de l'exon 6 du gène, par PCR-RFLP et séquençage capillaire pour établir sa présence dans la population de gliomes ainsi que sa fréquence.

Les résultats ont montré une corrélation significative entre les différents paramètres épidémiologiques et cliniques, et la mutation était présente avec une fréquence de 20% majoritairement chez les patients de glioblastome.

Mots-clefs : gliome, mutation génétique, TP53, épidémiologie.

Laboratoire de recherche : Centre de Recherche en Biotechnologie.

Président du jury : CHAOUI Naouel (Professeur - UFMC 1).

Encadrant : AYACHI Sariyah (Maitre de Recherche -Centre de Recherche en Biotechnologie- CRBt).

Examineur : ZIADA Hadia (Maitre de conférence classe B - UFMC 1).