



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique Et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري  
كلية علوم الطبيعة والحياة

**Département :** Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire: قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie

**Filière :** Sciences Biologiques

**Spécialité :** Physiologie Cellulaire et Physiopathologie.

**N° d'ordre :**

**N° de série :**

**Intitulé :**

---

## **L'association entre le polymorphisme Ins/Del du gène HLA-G et les gliomes chez les patients de l'Est Algérien.**

---

**Présenté par :** Guerouache Anfel.

**Le :** 12/06/2024

Chergui Sandra Meriem.

**Jury d'évaluation :**

**Présidente:** ROUABAHLeila (Pr – UConstantine 1 Frères Mentouri).

**Encadrante :** DAHMANI Dahbia Ines (MCA - UFM Constantine 1).

**Encadrante:** AYACHI Sariyah (Dr- Centre de Recherche en Biotechnologie).

**Examinatrice :** ZEGHDAR Moufida(MCA - UFM Constantine 1).

**Année universitaire**

**2023 - 2024**

Nous souhaitons tout d'abord exprimer notre  
gratitude envers Dieu Tout-Puissant et  
Miséricordieux, qui nous a donné la force et la  
patience nécessaires pour accomplir ce  
modeste travail.

# Remerciement

*Nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à l'élaboration et à la réussite de ce mémoire.*

*Nous tenons à remercier chaleureusement notre directeur de mémoire, **Mme Dahmani Dahbia Ines**, pour son encadrement, ses précieux conseils et son soutien constant tout au long de cette recherche. Sa disponibilité, ses encouragements et son expertise ont été essentiels pour mener à bien ce travail.*

*Nous remercions **Dr. Ayachi Sariyah** qui nous a acceptées pour effectuer notre étude moléculaire dans le Centre de Recherche en Biotechnologie. Sans oublier l'équipe du laboratoire de Génétique et Biologie moléculaire.*

*Un grand merci à **Pr Rouabah Leila** responsable de la filière Biologie Moléculaire et Cellulaire pour l'orientation, la confiance, la patience qui a constitué un apport considérable et d'avoir accepté à présider ce jury.*

*Nous n'oublions pas tous les participants à nos recherches, ainsi que les professionnels et experts qui ont accepté de partager leur temps et leurs connaissances. Leur contribution a été inestimable pour la réalisation de cette étude.*

*Merci à tous de nous avoir accompagné dans cette aventure académique. Ce mémoire est le fruit de votre aide précieuse et de votre soutien inestimable.*

# Dédicace

*Avec tous mes sentiments de respect, avec l'expérience de ma reconnaissance, je dédie ma remise de diplôme et ma joie*

*A mon paradis, à la prunelle de mes yeux, ma boussole, ma lune et le fil d'espoir qui allumer mon chemin, ma moitié,*

*Maman.*

*A celui qui m'a fait une femme, ma source de vie, d'amour et d'affection, à mon support qui était toujours à mes cotés pour me soutenir et m'encourager, à*

*Mon princepapa.*

*A mes frères Anis, Louai, Radouane, ainsi ma petite sœur Rahef, merci pour votre soutien constant, votre humour contagieux et votre présence réconfortante. Vous êtes ma source de joie et de bonheur, je vous aime, et je suis fière de vous avoir dans ma vie.*

*A tous les membres de ma grande famille, mes oncles, mes tantes et mes cousines.*

*A mon ami d'enfance Hadil qui m'a soutenu.*

*A mes très chères amies Maya, Khouloud, Malak, Nessrine, et ma cousine Doha qui ont été mes piliers dans les moments difficiles et mes partenaires de fête dans les moments de joie, merci pour votre amitié sincère, votre soutien sans faille et votre amour inconditionnel.*

*Sans oublier mon binôme Sandra pour son soutien moral sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.*

*Anfel*

# Dédicace

*Je dédie ce travail à mes parents, mon cher père, qui, par ta sévérité et ton exigence, m'a permis de me surpasser.*

*À ma maman chérie, à qui aucun mot ne pourra jamais exprimer l'ampleur de l'amour et de la gratitude que j'ai pour toi. Tu m'as comblé de tendresse et de soutien tout au long de mon parcours. Maman, tu as toujours été là pour me reconforter et m'encourager, m'inculquant le sens des responsabilités, de l'optimisme et de la confiance en soi. Tes conseils m'ont guidé vers la réussite et je te dois tout ce que je suis aujourd'hui. Je t'aime.*

*À la mémoire de mes grands-pères, Baba Mustapha et Papi Ali, qu'ils reposent en paix,*

*À mes deux grands-mères, Mémé Bouba et Mami Daouia, à qui je souhaite une longue vie.*

*À une personne très chère à mes yeux qui m'a soutenu et encouragé dans les pires comme dans les bons moments. L.*

*À mon binôme Anfel qui, sans elle, ce projet n'aurait pas vu le jour.*

*En ce jour mémorable, je vous dédie ce mémoire comme un humble témoignage de ma reconnaissance et de mon amour profond. Que le Tout-Puissant vous accorde santé, bonheur et longue vie, afin que je puisse à mon tour vous combler de joie et de fierté.*

**Sandra**

# Tables des matières

## LISTE DES FIGURES

## LISTE DES TABLEAUX

## LISTE DES ABREVIATIONS

### CHAPITRE 1 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

#### Première partie : Système nerveux

<b>I. Système nerveux</b> .....	4
I.1. Anatomie du système nerveux.....	5
I.2 Histologie.....	5
<b>II. Tumeurs cérébrales</b> .....	7

#### Deuxième partie : Gliome

<b>I.</b>	
<b>Définition</b> .....	10
<b>Classification</b> .....	10
II.1. Astrocytome.....	10
II.2. Oligodendrogliome .....	10
II.3. Ependymome .....	10
II.4. Glioblastome .....	10
<b>III. Epidémiologie</b> .....	11
<b>IV. Diagnostic</b> .....	12
IV.1. Biopsie.....	12
IV.2. LCR.....	12
IV.3. IRM .....	12
<b>V. Traitement</b> .....	12
V.1. Chirurgie.....	12
V.2. Radiothérapie.....	13
V.3. Chimiothérapie.....	13

#### Troisième partie : Génétique des Gliomes

<b>I. Mutation de l'IDH</b> .....	17
<b>II. Mutation de l'EGFR</b> .....	17
<b>III. Mutation de PTEN</b> .....	18
<b>IV. Le gène HLA-G</b> .....	18
<b>V. Physiopathologie</b> .....	18

## **CHAPITRE 02 : PATIENTS ET METHODES**

<b>I. Patients</b> .....	23
I.1. Population de l'étude (cas index).....	23
I.2. Type d'étude.....	23
I.3. Questionnaire.....	23
<b>II. Méthodologie</b> .....	26
II.1 Recueilles des échantillons .....	26
II.2. Extraction de l'Acide Nucléique ADN.....	26
III. Analyses statistiques.....	29

## **CHAPITRE 03 : Résultats**

<b>I. Etude descriptive</b> .....	32
I.1. Répartition selon le sexe.....	32
I.2. Répartition selon l'âge.....	32
I.3. Répartition selon la wilaya d'origine .....	33
I.4 Répartition selon la localisation de la tumeur.....	34
I.5. Répartition selon le type histologique .....	34
<b>II. Résultats du génotypage du polymorphisme 14pb Ins/Del HLA-G</b> .....	35
II.1. Résultats de la PCR.....	35
II.2. Fréquence génotypique et allélique.....	35
II.3. Description du profil mutationnel de la cohorte.....	36

## **CHAPITRE 04 : Discussion**

<b>Discussion</b> .....	39
-------------------------	----

## **CHAPITRE 05 : Conclusion et perspective**

<b>Conclusion et perspective</b> .....	4
--	---

## **LISTE DES FIGURES**

**Figure.1** :Schéma du système nerveux.

**Figure.2** :Anatomie du système nerveux central.

**Figure.3** : Anatomie d'un neurone.

**Figure.4** : Cellules gliales.

**Figure.5** : Répartition de la population cancéreuse selon le sexe.

**Figure.6** : Répartition selon l'âge.

**Figure.7** : Répartition selon l'origine.

**Figure.8** : Répartition selon la localisation de la tumeur.

**Figure.9** : Répartition selon le type histologique.

## LISTE DES TABLEAUX

**Tableau.1** : Le mix du PCR.

**Tableau.2** : Fréquence génotypique et allélique du polymorphisme (Ins/Del) du gène HLA-G (sujets atteints gliome vs. Témoins sains).

**Tableau.3** :répartition desfréquences génotypique set alléliques selon le genre.

**Tableau.4** : répartition des fréquences génotypique selon les types histologique du gliome

## LISTE DES ABREVIATIONS

**ADN** :Acide Désoxyribonucléique

**ATRX** :Alpha Thalassemia/Mental Retardation Syndrome X-Linked

**ARNm** : Acide Ribonucléique messenger

**BCNU** :1,3-bis(2-chloroéthyl)-1-Nitrosurée : Carmustine.

**BHCG** :Beta-Human Chorionic Gonadotropin

**CASP9** :Caspase 9

**CCNU** :Chloroéthyl Cyclohexyl Nitroso-Urée : Lomustine.

**CMH** :Complexe majeur d'histocompatibilité.

**CRBT** :Centre de Recherche en Biotechnologie.

**CIC** :Capicua transcriptional repressor

**DNTP** :Désoxynucléosides-triphosphates.

**D-2HG** :D-2-Hydroxyglutarate.

**EDTA** :Ethylène Diamine Tetracetic Acid

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

**EUP** :Eau Ultra Pure.

**FUBP1**:Far upstream element-binding protein 1.

**GBM** :Glioblastome.

**HLA** :Antigène des Leucocytes Humains.

**HTIC** :Hypertension intracrânienne.

**IDH** :L'indice de développement humain.

**IRM** :Imagerie par Résonance Magnétique.

**LCR** :Liquide Céphalo-Rachidien.

**MEC** :Matrice Extra Cellulaire

**mTOR** :Mammalian target of rapamycin.

**NACL** :Chlorure de Sodium.

**NADPH** :Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.

**NK** :Cellule Natural Killer.

**OMS** :Organisation mondiale de la santé.

**OS** :Overall Survival

**PCR** :Réaction en chaine par Polymérase.

**PET** :Polyéthylène téréphalate.

**PTEN** :Phosphatase and Tensin homolog.

**P13K** :Phosphoinositide 3-kinase

**SNC** :Système Nerveux Central.

**SNP** :Système Nerveux Périphérique.

**TE** :Tris EDTA

**TERTP** :Promoteur de la télomérase transcriptase inverse.

**TP53** :Tumor protein 53.

**URR** :Région de régulation.

**UTR** :Région non traduite.

## **RÉSUMÉ :**

Les gliomes sont des tumeurs primitives du système nerveux central, issues d'astrocytes, d'oligodendrocytes ou de leurs acteurs. Les gliomes sont classés en différents groupes en fonction de leurs caractéristiques histologiques. Le but de ce travail est de décrire l'association entre le gliome et le polymorphisme Ins/Del du gène HLA-G à partir d'échantillons sanguins pris au niveau du CHU de Constantine.

**Matériel et méthodes :** Il s'agit d'une étude prospective, transversale de type cas-témoin portant sur des cas de gliomes diagnostiqués dans le service de neurochirurgie du CHU IBN BADISS Constantine (24 mars 2024- 16 mai 2024). Notre échantillon est de 100 patients par faute de réactifs le génotypage a été réaliser sur 20 patients. Le gène HLA-G est le paramètre qui a été analysé. Le polymorphisme a été déterminé par une extraction d'ADN, PCR, et une électrophorèse.

**Résultats :** 62% des patients étaient de sexe masculin. Concernant le type histologique le plus répondu est le glioblastome avec 56%. Il n'existe pas une différence significative entre le groupe témoin et le groupe des atteints en comparent les génotypes : II vs DD+ID (OR, 1,8889 ; IC à 95% de 0,3848 à 0,2709 ; P-value=0,4333), DD vs ID+II (OR,0,7500 ; IC à 95% de 0,1688 à 3,3332; P-value= 0,7054),ID vs DD+II(OR,0,8148 ; IC à 95% de 0,2322à 2,8598 ; P-value= 0,7492).

**Conclusion :** nous avons trouvé une association positive avec le sexe masculin et le gliome. Le polymorphisme ins/Del 14pb du gène HLA-G semble jouer un rôle potentiel dans la modulation de l'expression de HLA-G et, par conséquent, dans l'échappement immunitaire et la progression des gliomes. Toutefois, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour élucider pleinement les mécanismes par lesquels ce polymorphisme influence le développement et la progression des gliomes, et pour déterminer s'il peut servir de cible thérapeutique ou de biomarqueur pour le traitement et le pronostic des gliomes.

**Mots clés :** Gliome, Polymorphisme, Gène HLA-G.

## **ABSTRACT :**

Gliomas are primary tumors of the central nervous system, originating from astrocytes, oligodendrocytes, or their precursors. Gliomas are classified into different groups based on their histological characteristics. The aim of this study is to describe the association between glioma and the Ins/Del polymorphism of the HLA-G gene using blood samples taken from the University Hospital of Constantine.

**Materials and Methods:** This is a prospective, cross-sectional, case-control study involving cases of gliomas diagnosed in the neurosurgery department of the IBN BADISS University Hospital, Constantine (March 24, 2024 - May 16, 2024). Our sample consists of 100 patients due to a shortage of reagents. Genotyping was performed on 20 patients. The HLA-G gene was the parameter analyzed. The polymorphism was determined by DNA extraction, PCR, and electrophoresis.

**Results:** 62% of the patients were male. Regarding the histological type, glioblastoma was the most common, accounting for 56%. There is no significant difference between the control group and the affected group when comparing the genotypes:

II vs DD+ID (OR, 1.8889; 95% CI, 0.3848 to 9.2709; P-value = 0.4333)

DD vs ID+II (OR, 0.7500; 95% CI, 0.1688 to 3.3332; P-value = 0.7054)

ID vs DD+II (OR, 0.8148; 95% CI, 0.2322 to 2.8598; P-value = 0.7492)

**Conclusion:** We found a positive association between male sex and glioma. The 14pb ins/Del polymorphism of the HLA-G gene appears to play a potential role in modulating HLA/G expression and, consequently, in the immune exhaust and progression of gliomas. However, further research is needed to fully clarify the mechanisms by which this polymorphism influences the development and progression of gliomas, and to determine whether it can serve as a therapeutic target or biomarker for the treatment and prognosis of glioma.

**Keywords :** Glioma, Polymorphism, Gene HLA-G.

## الملخص

الورم الدبقي هو نوع من الأورام الأولية في الجهاز العصبي المركزي، ينشأ من الخلايا النجمية أو الخلايا قليلة التغصن أو خلاياها الأصلية. يتم تصنيف الأورام الدبقية إلى مجموعات مختلفة بناءً على خصائصها النسيجية. هدف هذا العمل هو وصف العلاقة بين الورم الدبقي وتعدد الأشكال Ins/Del لجين HLA-G باستخدام عينات دم مأخوذة من مركز مستشفى جامعة قسنطينة. **المواد والأساليب:** هذه دراسة مستقبلية، مقطعية من نوع الحالة-الشاهد تشمل حالات الأورام الدبقية التي تم تشخيصها في قسم جراحة الأعصاب بمستشفى ابن باديس الجامعي بقسنطينة (24 مارس 2024 - 16 مايو 2024). حجم عينتنا هو 100 مريض، ولكن بسبب نقص المواد التفاعلية تم إجراء التنميط الجيني على 20 مريضاً. تم تحليل جين HLA-G، وتم تحديد تعدد الأشكال عن طريق استخراج الحمض النووي، وتفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR)، والتفريق الكهربائي.

**النتائج:** 62% من المرضى كانوا من الذكور. النوع النسيجي الأكثر شيوعاً كان الورم الأرومي الدبقي بنسبة 56%. ليس هناك فرق ذو دلالة إحصائية بين مجموعة الشاهد ومجموعة المصابين عند مقارنة الأنماط الجينية:

II (مقابل DD+ID نسبة الأرجحية، 1.8889؛ فترة الثقة 95% من 0.3848 إلى 0.2709؛ قيمة  $P = 0.4333$  ، DD مقابل ID+II نسبة الأرجحية، 0.7500؛ فترة الثقة 95% من 0.1688 إلى 3.3332؛ قيمة  $P = 0.7054$  ، ID مقابل DD+II (نسبة الأرجحية، 0.8148؛ فترة الثقة 95% من 0.2322 إلى 2.8598؛ قيمة  $P = 0.7492$  )

**الخلاصة:** وجدنا ارتباطاً إيجابياً بين الجنس الذكري والورم الدبقي وأن تعدد الأشكال ins/Del 14pb لجين HLA-G يلعب دوراً محتملاً في تعديل تعبير HLA-G وبالتالي في الهروب المناعي وتقدم الأورام الدبقية. ومع ذلك، هناك حاجة إلى مزيد من البحث لتوضيح الآليات التي يؤثر بها هذا التعدد الشكلي على تطور وتقدم الأورام الدبقية بشكل كامل، ولتحديد ما إذا كان يمكن أن يكون هدفاً علاجياً أو علامة بيولوجية لعلاج وتنبؤ الأورام الدبقية .

الورم الدبقي، تعدد الأشكال، جين الكلمات المفتاحية: HLA-G

# **INTRODUCTION**

## **Introduction :**

Les progrès récents en génomique du cancer ont considérablement approfondi notre compréhension des altérations moléculaires qui sous-tendent les tumeurs du système nerveux central (SNC). Ces tumeurs, caractérisées par une diversité de modifications génétiques telles que des substitutions de bases, des insertions et délétions, des variations du nombre de copies et des réarrangements génétiques[1]. ont vu leur étude révolutionnée par ces découvertes. Ces avancées ont permis de nouveaux horizons dans le diagnostic, la classification et le traitement des tumeurs cérébrales, ouvrant ainsi la voie à des thérapies plus précises et personnalisées.

La prolifération anormale des cellules gliales, incluant les astrocytes, les épendymocytes, les oligodendrocytes et les cellules de la microglie, est à l'origine de la formation des gliomes. Ces gliomes représentent 81 % des tumeurs cérébrales, faisant d'eux les tumeurs les plus fréquentes du SNC[2]. Leur prévalence souligne l'importance cruciale de déchiffrer les mécanismes sous-jacents à leur développement et leur progression.

Traditionnellement, le diagnostic et la classification des gliomes se basaient principalement sur l'histopathologie. La classification de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) de 2007 segmente les tumeurs gliales en différentes catégories : tumeurs astrocytaires, tumeurs oligodendrogiales, tumeurs oligoastrocytaires, tumeurs épendymaires, et tumeurs neuronales et mixtes neuronales-gliales (gangliogliomes)[3]. Cette méthodologie, reposant sur des critères morphologiques et immunohistochimiques, a constitué un cadre de référence pour les praticiens et les chercheurs.

Cependant, l'essor des technologies de séquençage à haut débit et d'autres techniques de biologie moléculaire permet désormais d'identifier des altérations génétiques spécifiques associées à différents sous-types de gliomes. Ces informations enrichissent non seulement la précision du diagnostic, mais orientent également les choix thérapeutiques, en ciblant les anomalies moléculaires propres à chaque tumeur.

Cette étude poursuit plusieurs objectifs ambitieux :

- Etablir une étude prospective sur les patients traités au service de neurochirurgie du CHU de Constantine entre le 24 mars et le 16 mai 2024. Cette recherche vise à

collecter des données cliniques et génétiques essentielles pour approfondir la compréhension des gliomes dans cette population spécifique.

- Déterminer les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme In/Del du gène HLA-G chez les patients atteints de gliome. Cette analyse, ciblant un échantillon de vingt patients, cherche à établir une possible corrélation entre ce polymorphisme et une susceptibilité accrue au gliome.
- Identifier le sexe le plus affecté par les gliomes. En analysant la répartition des cas selon le sexe, l'étude pourra fournir des informations précieuses sur les différences potentielles de susceptibilité et de progression de la maladie entre les hommes et les femmes.
- Définir la prévalence des différents types histologiques de gliomes. Cette donnée est cruciale pour déterminer quels types de gliomes prédominent et pourra orienter les recherches futures et les stratégies thérapeutiques.
- Évaluer la répartition géographique des patients selon leur wilaya d'origine. Cette analyse permettra de repérer d'éventuelles variations géographiques dans la prévalence des gliomes, révélant des facteurs environnementaux ou génétiques spécifiques à certaines régions.

En atteignant ces objectifs, cette étude enrichira notre compréhension des gliomes et pourrait potentiellement initier de nouvelles approches diagnostiques et thérapeutiques, mieux adaptées aux besoins des patients atteints de cette maladie complexe.

# **CHAPITRE 01**

## **Synthèse bibliographique**

# **La partie 1 :**

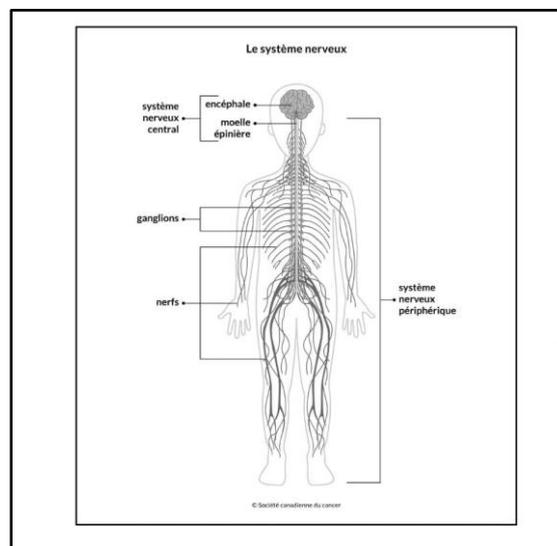
# **Systeme nerveux**

## Première partie : système nerveux

### I. Système nerveux :

Le système nerveux est un réseau de nerfs et de neurones qui transmettent des signaux et des messages du cerveau et de la moelle épinière à diverses parties du corps, et inversement. C'est le système nerveux central et le système nerveux périphérique qui le composent[4].

- **Système nerveux central (SNC) :**Le SNC, qui comprend l'encéphale et la moelle épinière, assure la gestion des fonctions corporelles en contrôlant la perception, les mouvements, les sensations, les pensées, la parole et la mémoire. Entourée de vertèbres, la moelle épinière transmet les signaux nerveux de l'encéphale aux autres nerfs du corps[4].
- **Système nerveux périphérique (SNP) :**Le SNP est l'élément du système nerveux situé en dehors du système nerveux central. Il est composé de nerfs et de ganglions qui envoient des signaux au système nerveux central et qui reçoivent des signaux du système nerveux central. Le système nerveux somatique et le système nerveux autonome forment le SNP[4].

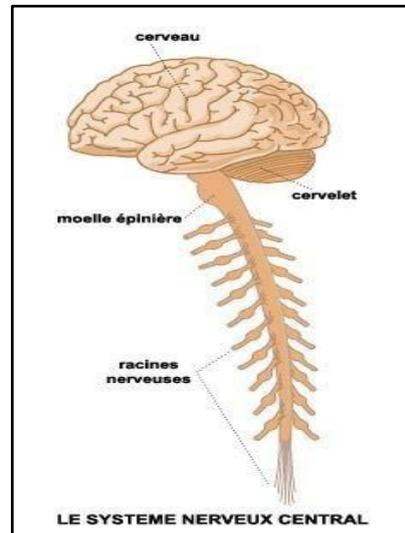


**Figure.1** : schéma du système nerveux[4].

Le sujet que nous abordons nécessite la focalisation sur le SNC.

### I.1. Anatomie du système nerveux :

Le SNC est constitué d'un cerveau, d'un tronc cérébral, d'un cervelet et d'une moelle épinière.



**Figure.2** : anatomie du système nerveux central[5].

- **L'encéphale :**

Le tronc cérébral, le cervelet et le cerveau forment la partie supérieure du système nerveux central, qui assure le contrôle de l'ensemble de l'organisme[6].

- **Le cerveau :**

Le cerveau est constitué d'une multitude de cellules nerveuses, appelées neurones, qui forment un réseau très étroitement lié. La myéline, qui se trouve le long des axones des neurones, est la structure protectrice qui facilite la transmission de l'influx nerveux. Le cortex ou substance grise est également présent dans le cerveau : c'est la partie la plus superficielle du cerveau, car elle renferme les corps cellulaires des neurones.

La substance blanche est également présente, où se trouvent les prolongements des neurones (axones) entourés d'une gaine de myéline. Il comprend aussi 4 ventricules cérébraux, des cavités dans lesquelles circule le liquide cébrospinal. Enfin, au milieu, les noyaux gris centraux, encore connus sous le nom de ganglions de la base, jouent un rôle dans la régulation du comportement et dans l'acquisition de connaissances[7].

- **Le cervelet :**

Entre le cerveau et la moelle du tronc cérébral se trouve le cervelet. Il est crucial pour la régulation des fonctions motrices, contribuant à la planification et à la régulation de l'activité motrice, y compris la coordination du corps en mouvement[8].

- **Le tronc cérébral :**

Le cerveau est constitué de la partie la plus caudale, le tronc cérébral. Le mésencéphale est constitué du pont et de la moelle allongée, également appelée bulbe rachidien ou encore medulla oblongata. On appelle communément le rhombencéphale (encéphale postérieur) le cervelet, le pont et la moelle allongée[8].

- **La moelle épinière :**

La moelle épinière, également connue sous le nom de moelle spinale, est une structure du système nerveux central qui se trouve dans la colonne vertébrale. Elle facilite la communication entre le cerveau et le corps.

Elle commence au bulbe rachidien du tronc cérébral, se poursuit dans le canal vertébral et se termine par le cône médullaire des vertèbres lombaires. La moelle épinière se compose de deux éléments :

- Une substance grise, située au centre, qui renferme les corps cellulaires des neurones.
- Une substance blanche, située à l'extérieur, qui renferme les axones, c'est-à-dire les continuités des neurones[9].

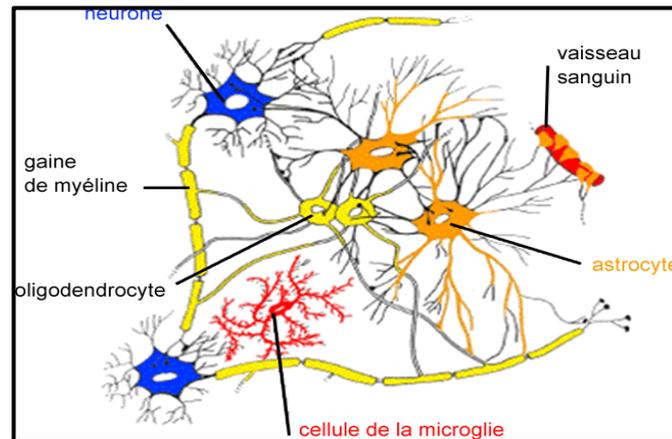
## **I.2. Histologie :**

Le système nerveux central est un tissu complexe composé de substance grise et de substance blanche. Le neurone est l'unité fonctionnelle principale (environ 1011 neurones

dans le cerveau de la personne). Celles gliales, capillaires sanguins et matrice extracellulaire (MEC) sont également présentes[10].

- **Les neurones :**

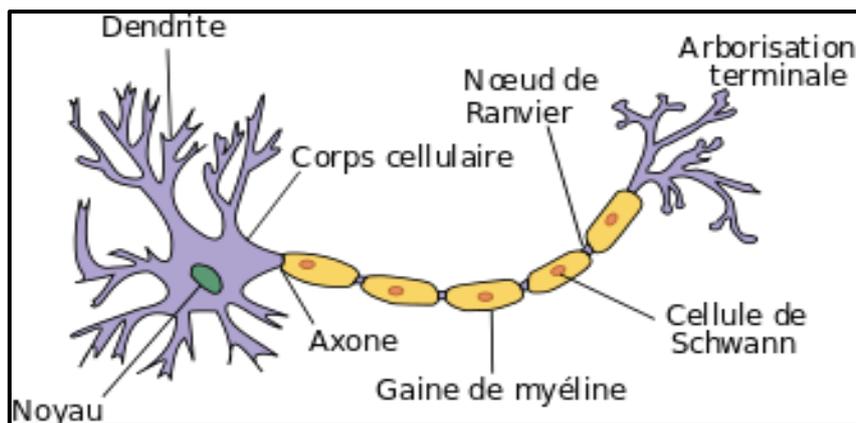
Le neurone, également appelé cellule nerveuse, représente l'élément essentiel du système nerveux. Il est capable de produire, transmettre ou recevoir des informations sous forme de signaux électriques (influx nerveux) grâce à sa structure cellulaire particulière[11].



**Figure.3** : anatomie d'un neurone[12]

- **Cellules gliales :**

Les cellules gliales ne peuvent pas déclencher ou transmettre des impulsions nerveuses, mais elles assurent la protection, l'alimentation et l'immunité du neurone. Dans l'ensemble, elles forment la neuroglie. Il existe quatre catégories de cellules gliales dans le système nerveux central[13].



**Figure.4** : cellules gliales [14].

– **Les astrocytes :**

Les astrocytes, étoiles avec des appendices de nodules, forment un réseau protecteur pour les neurones. Après les dommages aux tissus nerveux, ils créent un tissu cicatriciel de repositionnement (gliale cicatrice). Ils sont étroitement liés aux capillaires sanguins du SNC et jouent un rôle dans la prévention du passage de substances nocives vers les neurones à travers une barrière hémato-encéphalique[13].

– **Les oligodendrocytes :**

Un oligodendrocyte est une cellule gliale similaire à un astrocyte, mais avec moins de protubérances, qui est responsable de la production des segments de gaines de myéline dans les neurones du système nerveux central (SNC). Les axones nécessitent des oligodendrocytes pour assurer leur fonction et leur survie. Ce sont des cellules progénitrices qui les produisent[15].

– **Les cellules épendymaires :**

L'épendyme est une cellule gliale qui constitue l'épendyme, une membrane fine qui recouvre les ventricules du cerveau et la colonne centrale de la moelle épinière. Ils ont pour principale fonction la production, la circulation et la régulation du liquide céphalo-rachidien qui remplit les ventricules du système nerveux central. En agissant ainsi, les cellules épendymaires (cellules supports) jouent un rôle essentiel dans le maintien d'une fonction neuronale normale et dans la préservation du cerveau et de la moelle épinière[16].

– **Les cellules microgliales :**

Les microglies ou macrophages du SNC sont les cellules gliales les plus petites et se spécialisent dans la consommation d'agents pathogènes et de débris. Elles préservent le système nerveux central contre les agents infectieux et les toxines, tout en élague les synapses lors de leur évolution. Malgré le fait que les microglies soient des cellules gliales, elles ont une origine unique et différente de celle d'autres cellules gliales[17].

## **II. Les tumeurs cérébrales :**

Une tumeur cérébrale est une prolifération incontrôlée de cellules anormales dans le cerveau. On distingue deux grandes catégories de tumeurs cérébrales en fonction de leur nature cancéreuse ou non[18].

- **Les tumeurs bénignes (non tumorales) :**

Elles se développent relativement lentement et sont généralement isolées des tissus cérébraux environnants. Elles ne se propagent pas à d'autres parties du cerveau ni à d'autres organes et sont la plupart du temps plus faciles à extraire par chirurgie que les tumeurs malignes. Toutefois, certaines tumeurs, bien que bénignes, restent inextirpables en raison de leur emplacement[18].

- **Les tumeurs malignes (tumorales) :**

Elles désignent certaines tumeurs primaires ainsi que toutes les lésions métastatiques du cerveau. Les cellules qui les composent se divisent assez rapidement. Ainsi, ces tumeurs se développent rapidement et peuvent envahir et causer des dommages à des structures cérébrales essentielles[19].

# **La partie 2 : Gliome**

## **Deuxième partie : Gliome**

### **I. Définition :**

Les gliomes C'est l'une des tumeurs les plus courantes du cerveau (environ un tiers des cas), sont un groupe de tumeurs plus ou moins infiltrantes qui se forment au sein du cerveau à partir des cellules gliales (astrocytes ou oligodendrocytes). Les gliomes composés d'astrocytes sont connus sous le nom d'astrocytomes, tandis que ceux composés d'oligodendrocytes sont connus sous le nom d'oligodendrogliomes. Des gliomes mixtes peuvent également se produire lorsque les deux types de cellules sont affectés[20].

### **Classification :**

#### **I.1. Astrocytome :**

L'astrocytome est une tumeur du cerveau ou de la moelle épinière. Il s'agit d'un gliome qui se développe dans les cellules gliales, connues sous le nom d'astrocytes. Les neurones, les cellules nerveuses du cerveau, sont soutenus et protégés par ces cellules.L'astrocytome a des conséquences différentes selon sa localisation et sa vitesse de croissance[21].

#### **I.2. Oligodendrogliome :**

Il s'agit d'un gliome qui se développe dans les cellules gliales connues sous le nom d'oligodendrocytes. Elles sont responsables de la synthèse de la myéline, qui isole les fibres des nerfs. L'oligodendrogliome est une tumeur agressive, c'est-à-dire qui se développe rapidement[22].

#### **I.3. Ependymome :**

L'épendymome est un cancer du cerveau ou de la moelle épinière qui se développe. Il s'agit d'un gliome. Il se forme dans les tissus gliaux qui entourent les orifices du liquide céphalo-rachidien, le liquide qui alimente le cerveau[23].

#### **I.4. Glioblastome :**

Le glioblastome est une tumeur cérébrale ou de moelle épinière qui se propage. Il s'agit de la plus violente forme de l'astrocytome. L'astrocytome est un gliome qui se forme dans les cellules gliales connues sous le nom d'astrocytes. Les neurones, les cellules nerveuses du cerveau, sont soutenus et protégés par ces cellules[24].

## I. Epidémiologie :

Les gliomes constituent un ensemble varié de tumeurs qui commencent dans les cellules gliales du système nerveux central (SNC). Ces tumeurs sont assez rares, mais extrêmement agressives. Selon les dernières données mondiales concernant le cancer (GLOBOCAN 2018), les tumeurs du cerveau et du système nerveux central (SNC) représentent 1,6 % des cas de cancer nouveaux et 2,5 % des décès causés par le cancer. Il y a environ 26,5 % de tumeurs primitives du cerveau et du système nerveux central, tandis que 80,7 % des tumeurs malignes sont des gliomes[25].

- **En Europe**, les cancers primitifs du SNC ont une prévalence standardisée (mondiale) de 4,5 à 11,2 cas pour 100 000 hommes et de 1,6 à 8,5 cas pour 100 000 femmes. Le gliome de haut grade et les métastases cérébrales sont les deux cancers du SNC les plus fréquents, qui se manifestent plus souvent à l'âge adulte et surtout chez les personnes âgées. L'incidence maximale est de 18,5/100 000 en Europe chez les 65 ans et plus. Cependant, l'enfance est la période où les tumeurs du SNC sont les plus fréquentes, représentant 23% de tous les cancers diagnostiqués[26].
- **En Algérie**, où l'épidémiologie des gliomes est peu connue. En se basant sur le registre du cancer de Sétif (Est de l'Algérie), Hamdi Cherif et ses collègues ont observé une augmentation des taux d'incidence globale du cancer chez les deux sexes. Les taux standardisés selon l'âge pour 100 000 habitants (par rapport à la population standard mondiale) sont de 106,4 chez les hommes et de 110,3 chez les femmes. Cependant, aucun chiffre n'est donné concernant les tumeurs du cerveau et du système nerveux central[25].

## II. Diagnostic :

### II.1. Biopsie :

Il est crucial de réaliser une biopsie de la plupart des tumeurs du système nerveux central, notamment intracrânienne, afin de diagnostiquer et de décider du traitement. On l'effectue lorsque la chirurgie n'est pas effectuée immédiatement ou est impossible et qu'un diagnostic anatomopathologique est nécessaire. L'incidence de cet acte a considérablement diminué, notamment grâce à l'évolution de la technique de biopsie en conditions stéréotaxiques[27].

## **II.2.LCR :**

Il est préférable d'éviter l'étude du LCR par ponction lombaire ou atlo-occipitale en cas d'HTIC évidente. Toutefois, dans d'autres situations, elle peut être utilisée pour étudier mythologiquement les cellules éventuellement desquamées dans les cavités épendymaires ou mesurer des marqueurs tumoraux tels que l'afetoprotéine ou la B-HCG[27].

## **II.3.IRM :**

Résonance magnétique Imagerie L'imagerie par résonance magnétique (IRM) est la technique la plus récente pour étudier le système nerveux central. L'examen de référence pour la majorité des tumeurs du système nerveux central. L'IRM permet d'obtenir des explorations sagittales particulièrement efficaces pour l'étude de la moelle épinière et de la fosse postérieure, en étant un examen atraumatique. Elle fournit des informations différentes de celles de la tomodensitométrie, particulièrement précieuses pour les tumeurs de bas grade. L'utilisation de gadolinium dans les différentes séquences d'exploration, appelées T1 et T2, permet une analyse morphologique très précise des lésions expansives du système nerveux central[27].

## **III. Traitement :**

### **III.1. Chirurgie :**

Il est conseillé de procéder à une exérèse chirurgicale d'une manière aussi complète que possible, tout en préservant les fonctions neurologiques. La chirurgie est possible en fonction de :

- ✓ De la taille de la tumeur, de sa position dans le parenchyme normal.
- ✓ De l'opérabilité future du sujet.

Bien que les nouvelles techniques d'imagerie aient apporté d'importantes avancées techniques, il est souvent impossible de réaliser une chirurgie d'exérèse à but curatif dans les grades III-IV. Mortalité de 2% ; taux de maladie compris entre 15 et 30% [28].

### **III.2. Radiothérapie :**

La radiothérapie, une technique utilisée pour traiter les tumeurs cérébrales, est généralement recommandée pour les tumeurs de grade III et IV. Cependant, il a des limites

en raison du parenchyme cérébral normal et de la vascularisation cérébrale normale. La dose de radiothérapie varie selon l'emplacement, la structure histologique et l'exérèse initiale de la tumeur.

La dose varie de 55 à 60 Gy, avec une marge de sécurité de 1 à 2 cm. Il est important de réduire les doses chez les enfants pour éviter de dépasser 40 Gy dans l'encéphale. Certains syndromes de petite taille, bénins ou de faible malignité peuvent être traités avec des irradiations sur des volumes très réduits. L'œdème intracérébral peut être aggravé par l'irradiation cérébrale, nécessitant une corticothérapie par radiothérapeutique.

L'épilation du cuir chevelu est temporaire pour les doses élevées et peut être évitée techniquement. Le principal risque est la radionécrose, qui peut simuler une tumeur et compliquer le diagnostic différentiel[28].

### **III.3. Chimiothérapie :**

À l'heure actuelle, aucun protocole de chimiothérapie n'a démontré une certaine efficacité dans le traitement des tumeurs primitives du SNC chez les adultes.

L'endothélium capillaire présente une barrière hémato-encéphalique qui peut permettre la diffusion de molécules de chimiothérapie vers l'encéphale. Cependant, des médicaments tels que les nitroso-urées (CCNU, BCNU), les sels de platine, la procarbazine et la vincristine montrent une efficacité réelle (35-50 % des réponses) seul ou en combinaison avec d'autres médicaments.

Des études cliniques sont en cours sur les associations à doses multiples ou l'utilisation de nouvelles molécules comme la témozolomide, qui a montré son efficacité dans le traitement des astrocytomes anaplastiques et des oligodendrogliomes. Les corticostéroïdes sont incomparables en termes d'effets anti-dématoires et d'effets antitumoraux directs[28].

- **Suivi post-thérapeutique :**

Une fois la chirurgie terminée, un traitement antalgique est recommandé si nécessaire.

Ce n'est que chez les patients ayant fait une crise qu'on prescrit systématiquement un traitement antiépileptique postopératoire.

La maladie thromboembolique, plus courante en cas de gliome, nécessite une surveillance, une prévention et un traitement. Lorsqu'une aggravation clinique ou radiologique est observée après une radiothérapie, il n'est pas nécessairement question d'un échappement. L'analyse PET peut permettre de différencier une récurrence d'une radionécrose. L'âge (> 50 ans) et/ou un terrain vasculaire (diabète, hyperlipidémie, hypertension) sont des facteurs déterminants de complications neurologiques tardives (leuco-encéphalopathie radique).

Enfin, il est nécessaire de considérer les difficultés auxquelles le patient est confronté : rééducation, retour à la maison[28].

# **La partie 3 :**

# **Génétiques**

# **Gliomes**

## Troisième partie : Génétique des Gliomes

Les gliomes sont les tumeurs du cerveau les plus courantes chez l'adulte. La connaissance des fondements génétiques de ces tumeurs revêt une importance capitale afin d'améliorer le diagnostic, le traitement et la survie des patients. Des progrès importants ont été réalisés ces dernières années dans l'identification des modifications génétiques liées aux gliomes[29].

Plusieurs altérations génétiques fréquentes dans les gliomes ont été identifiées par les études génomiques. Le gène *IDH1* (isocitrate déshydrogénase 1) est l'une des mutations les plus courantes, représentant environ 80 % des gliomes de bas grade, selon la classification de l'OMS. La délétion du chromosome 1p/19q est une autre altération fréquente, principalement dans les oligodendrogliomes. Ce transfert est lié à une réponse plus efficace au traitement et à une durée de vie plus longue des patients[30].

De plus, des mutations dans les gènes de la famille des récepteurs du facteur de croissance épidermique (EGFR) ont également été assimilés dans les gliomes. Les mutations du gène EGFR et les amplifications peuvent provoquer une augmentation de la prolifération cellulaire et une résistance aux traitements. Les gliomes présentent également des altérations du gène TP53, un gène qui supprime les tumeurs, ce qui favorise la progression tumorale et la résistance aux traitements conventionnels[31].

Grâce aux progrès récents dans le séquençage de nouvelle génération, des altérations génétiques moins fréquentes mais significatives ont été identifiées dans les gliomes. Par exemple, la découverte des mutations dans les gènes *ATRX*, *CIC* et *FUBP1* dans les astrocytomes, qui sont liées à une augmentation de la prolifération cellulaire et à une progression tumorale agressive. En outre, la signalisation des mutations dans les gènes de la voie de signalisation mTOR dans les glioblastomes, la forme la plus agressive de gliomes.

La mutation *CASP9* n'a été signalée que dans le cas d'un astrocytome anaplasique de grade III, qui se transforme fréquemment en glioblastome secondaire. La présence d'autres mutations, comme celle du gène *PTEN*, du promoteur de la télomérase (*TERTp*) et des anomalies chromosomiques +7, -10, est plus courante dans les glioblastomes primitifs. Les oligodendrogliomes de grade II ont également présenté la mutation *TERTp*. Il convient de noter que les gliomes sont des tumeurs génétiquement complexes, souvent constituées de

multiples altérations interconnectées. Les méthodes d'analyse intégrative, qui associent des informations génomiques, transcriptomiques et épigénomiques, sont capables de donner une vision globale des modifications génétiques observées dans les gliomes[32].

### **I. Mutation de l'*IDH* :**

Pendant le cycle de Krebs, la déshydrogénase isocitrate (*IDH*) intervient dans la décarboxylation oxydative de l'isocitrate en alpha-ketoglutarate et est la principale source de NADPH cytosolique dans le cerveau humain et d'autres tissus. Ces mutations entraînent une diminution de l'alpha-ketoglutarate, le produit normal, à D-2-hydroxyglutarate (D2HG) afin de consommer le NADPH et de contribuer à la genèse de tumeurs. L'oncometabolite D2HG peut être un inhibiteur compétitif des enzymes alpha-ketoglutarate-dépendantes, qui jouent un rôle crucial dans la régulation des gènes et l'équilibre des tissus[33].

Toutefois, le mécanisme par lequel le D-2HG entraîne la tumeur reste inconnu, mais il est probablement associé aux effets du D2HG sur les déméthylases d'ADN, ce qui entraîne la méthylation de l'ADN et de l'histone. De plus, les concentrations d'alpha-ketoglutarate ont un impact sur le facteur de transcription hypoxie-inductible HIF-1 $\alpha$ , qui encourage la croissance tumorale à faible taux d'oxygène[33].

### **II. Mutation de l'*EGFR* :**

Les GBM possèdent une caractéristique moléculaire commune appelée EGFR, qui promeut un signal pro-prolifératif. Dans le GBM primaire (30 %-70 %), l'amplification de l'EGFR à 7 p12 est le gène le plus fréquemment amplifié et surexprimé, avec EGFRvIII étant le récepteur de la tyrosine kinase réceptrice mutée le plus important. Cette surexpression se produit dans environ 5 % des cas de GBM qui expriment l'EGFR. Le chemin EGFR-PI3 K est activement activé par EGFRvIII[34].

Les GBM contenant des récepteurs EGFRvIII actifs constitutifs ont été signalés pour avoir un phénotype plus invasif que ceux qui ont un EGFR de type sauvage. Cependant, l'efficacité des inhibiteurs de l'EGFR reste discutée dans le cas des GBM récemment diagnostiqués. Malgré la nécessité de définir correctement l'utilisation prédictive et préventive de l'EGFR, il a été rapporté que les patients atteints de GBM traités par la temozolomide présentaient une augmentation du EGFR, un maintien du PTEN et des p53 et p16 de type sauvage comme des indicateurs de survie globale solides[34].

### III. Mutation du *PTEN* :

Situé sur le chromosome 10q23.3, l'homologue de la phosphatase et de la tensine (*PTEN*) est l'un des gènes les plus fréquemment perdus ou dérégulés dans le cancer du cerveau. Le *PTEN* est un gène responsable de la suppression de la tumeur, qui joue un rôle crucial dans la régulation de la prolifération cellulaire, de l'adhésion et de l'invasion, de l'apoptose et de la réparation des dommages à l'ADN[33].

Les mutations du *PTEN* ont été signalées comme un événement précoce dans le gliome, avec des mutations observées dans 5 % à 40 % des cas de gliome. D'autres recherches ont montré que le *PTEN* a un impact sur la croissance des tissus et le nombre de cellules. De plus, *PTEN* a été démontré de manière autonome pour jouer un rôle dans la neurogenèse et la gliogenèse. Lors de l'embryogenèse, la libération de *PTEN* dans les cellules progénitures neuronales perturbe la migration et la formation adéquate de la structure laminaire du cerveau. La diminution du *PTEN* entraîne une altération de la régulation de la taille des cellules ou du nombre de cellules dans le cerveau, mettant en évidence l'importance du *PTEN* dans le développement et le maintien normal du système nerveux central. Selon les rapports, les mutations du *PTEN* ont été associées à la progression maligne du gliome. On les associe donc à un OS plus court dans le gliome. Cependant, l'importance du *PTEN* dans la prédiction du gliome demeure un sujet de controverse[33].

### IV. Le gène *HLA-G* :

Le groupe de gènes codant les protéines de surface cellulaires qui régulent la réponse immunitaire est appelé complexe d'histocompatibilité majeur (CMH). Le complexe de l'antigène des leucocytes humains (*HLA*) est également connu sous le nom de CMH humain. Le gène *HLA* se trouve sur le bras court du chromosome humain 6, dans la région 6p21.31. Il s'agit d'un complexe génétique de 4000 Kb qui comprend plusieurs centaines de gènes. Ses polymorphismes alléliques maximaux sont bien connus et sont étroitement liés à la régulation du système immunitaire humain. Selon la séquence des gènes, il est classé en trois catégories: *HLA-I* (par exemple, *HLA-A*, *HLA-B*, *C*, *E* et *G*), *HLA II* (par exemple, *DR*, *DP* et *DQ*) et *HLA III*. L'altération de l'expression du gène *HLA-G* a été observée dans différentes variations inflammatoires ou malignes[35].

*HLA-G* se distingue des antigènes classiques *HLA-A*, *-B*, *-C*, par un polymorphisme faible, une expression très limitée et strictement contrôlée, ainsi que des propriétés immunomodulatrices. Dans les cellules tumorales, l'expression de l'*HLA-G* et la

libération d'un soluble *HLA-G* permettent d'échapper à la surveillance immunitaire hôte. Cela souligne la possibilité d'utiliser *HLA-G* comme un nouveau biomarqueur diagnostique et préventif, ainsi que comme cible thérapeutique [36].

Étant donné que l'*HLA-G* est essentiel pour préserver la tolérance fœtale, sa surexpression a été liée à la progression des tumeurs. Les variations génétiques dans la région régulatrice 5'upstream (5' URR) jouent un rôle essentiel dans la régulation des niveaux de *HLA-G* [37].

## V. Physiopathologie :

Dans le gène *HLA-G*, la mutation de 14 paires de bases (14 pb) Ins/Del a un impact sur la Région 3 non traduite (3 UTR) de l'ARNm, ce qui peut avoir un impact sur la stabilité de l'ARNm, son transport et sa traduction en protéine [38]. Les conséquences spécifiques de cette mutation sur la protéine *HLA-G* comprennent habituellement une altération de l'expression de *HLA-G* : La mutation peut entraîner des changements dans la quantité de protéine *HLA-G* exprimée à la surface des cellules. Selon certaines recherches, la présence de l'allèle (Ins) est liée à une diminution de l'expression de la protéine *HLA-G*, tandis que l'allèle (Del) pourrait accroître cela. L'évolution de l'expression du *HLA-G* a un impact sur ses fonctions immunorégulatrices à différents niveaux physiologiques et pathologiques [39]. Les effets de la mutation de 14 pb Ins/Del dans le gène *HLA-G* sont importants dans le domaine du cancer. La molécule *HLA-G* joue un rôle essentiel dans la régulation de la réponse immunitaire, favorisant ainsi l'immunotolérance [40].

Les conséquences de cette mutation dans le domaine du cancer sont les suivantes :

- **Évasion Immunitaire** : La mutation de 14 pb Ins/Del a la capacité de modifier l'expression de *HLA-G* dans les cellules cancéreuses. En présence d'une forte expression de *HLA-G* sur les cellules tumorales, elles peuvent échapper à la surveillance immunitaire en inhibant l'activité des cellules NK (Natural Killer) et des lymphocytes T cytotoxiques [38].
- **Tolérance Immunitaire** : La tolérance immunitaire permet aux tumeurs exprimant *HLA-G* de ne pas être reconnues et détruites par le système immunitaire, ce qui favorise leur croissance et leur survie [41].

- **Association avec le Pronostic** : Dans certains types de cancers, la présence de la délétion (Del) dans la mutation 14 pb Ins/Del a été liée à un pronostic plus négatif. Par exemple, une augmentation des niveaux de *HLA-G* a été associée à une augmentation de la progression tumorale et à une diminution de la survie chez les patients souffrant de cancers tels que le cancer colorectal, le mélanome et le cancer du sein [42].
- **Invasion et Métastase** : *L'HLA-G* a la capacité de stimuler l'invasion et la métastase des cellules tumorales en altérant le microenvironnement tumoral afin de favoriser la croissance et la propagation des tumeurs [43].

# **Chapitre 02 :**

## **Patients et méthodes**

## **I. Patients:**

La collecte des échantillons a été faite au sein du Centre Hospitalo-universitaire IBN Badis Constantine au niveau du service de neurochirurgie, sur des 100 patients atteints de gliome, 20 d'entre eux ont servi à réaliser le génotypage. Cependant l'étude moléculaire a été réalisée au niveau de Centre de Recherche de Biotechnologie (CRBT), entre le 24 mars 2024 et le 16 mai 2024.

### **I.1. Population de l'étude (cas index) :**

- **Critères d'inclusion :**

Dans cette étude nous avons inclus les sujets présentant des tumeurs primaires des deux sexes, connus d'au moins d'un an lors du recrutement, avoir déjà reçu un diagnostic de gliome

- **Critères d'exclusion :**

Ils n'ont pas été inclus dans l'étude, les personnes qui participaient à une autre étude, ainsi que tous les patients présentant tout autre cancer cérébral.

### **I.2. Type d'étude :**

Il s'agit d'une étude prospective, transversale de type cas-témoin.

### **I.3. Questionnaire :**

Les patients ont été soumis à un questionnaire, ce questionnaire comporte des questions sur leur :

- Service.
- Nom.
- Prénom.
- Sexe.
- Age.
- Antécédents personnels et familiaux.
- Le type histologique et le grade.
- Les résultats de la biopsie.

- Les traitements administrés aux patients.
- Leur état actuel.
- Origine.

## II. Méthodologie :

### II.1. Recueilles des échantillons :

Les échantillons sont de types sanguins, ce dernier était prélevé dans un environnement stérile à l'aide d'une ponction veineuse, contenant de l'EDTA comme anticoagulant, en quantité de 4 à 8 ml.

### II.2. Extraction de l'Acide Nucléique ADN :

L'extraction d'ADN s'est faite par la technique du salting-out qui repose sur la précipitation des protéines grâce aux sels (NaCl), selon les étapes suivantes :

#### ➤ Préparation des Leucocytes :

- Dans un tube Falcon 15ml, mettre le sang.
- Compléter à 13 ml avec Tris EDTA (20:5), pour la lyse des GR.
- Agitation manuel (forte agitation).
- Laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger 10 min à 3900g (3800 rpm).
- Aspirer le surnageant avec la trompe à vide.
- Ajouter quelques ml de TE (20:5) au culot et le remettre en suspension avec une pastille stérile.
- Compléter à 13 ml avec du TE (20:5) et laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger dans les mêmes conditions que la première fois.
- Aspirer le surnageant avec la trompe à vide : Obtention d'un culot des leucocytes.

#### ➤ Extraction d'ADN :

- Ajouter 3 ml de Tampon de Lyse en dilacérant le culot avec une palette stérile.
- Ajouter 200 µl de SDS à 10 %.
- Ajouter 10 µl de protéinase K à 04mg/ml.
- Agiter le tube sur une roue à 56°C pendant 03h.
- Refroidir le tube dans la glace.

- Ajouter 1ml de NaCl 4M et agiter vigoureusement à la main.
- Remettre 5 min dans la glace (précipitation des protéines).
- Centrifuger 15 min à 2500 rpm.
- Transvaser le surnageant dans un tube Falcon de 15 ml, ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi (environ 8 ml) et agiter en retournant le tube plusieurs fois: la pelote d'ADN se forme.
- Si la pelote d'ADN ne se forme pas, laisser éventuellement 30 min à - 20°C.
- Récupérer la pelote d'ADN avec une pipette pasteur et la rincer 02 fois dans éthanol à 70%.
- Mettre la pelote d'ADN dans un tube nue.
- **Solubilisation d'ADN :**
- Ajouter 400 µl de l'eau ultra pure (EUP).

➤ **Mesure de la concentration et la qualité d'ADN**

La pureté et la concentration de l'ADN sont déterminées par spectrophotométrie UV en utilisant un Nanodrop. Pour l'analyse, 2 µL de l'échantillon est déposé directement sur l'extrémité d'un câble de fibre optique. Lorsque cet l'échantillon est mis en contact avec un second câble par fermeture de l'appareil, il est maintenu.

Par tension de surface et traversé par un signal lumineux, permettant ainsi la mesure et la Quantification de l'ADN double brin et simple brin. L'absorbance est analysée à l'aide du logiciel Nanodrop 8000 v3.7, installé sur un ordinateur. Connecté à l'appareil. La mesure de l'absorption se fait à deux longueurs d'onde distinctes (260et 280 nm).

Le rapport 260/280 est ensuite calculé pour évaluer la pureté de l'ADN Permettant de détecter une éventuelle contamination par des protéines ou des ARN. On considère que :

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

– L'ADN est contaminé par les protéines si  $R < 1,6$ .

– L'ADN est contaminé par les ARN si  $R > 2$ .

❖ **Génotypage du polymorphisme HLA-G 14pb Ins/Del par PCR :**

Dans cette étude, les amorces suivantes ont été utilisées pour l'amplification de La région

3'UTR du gène *HLA-G* :

<b>HLA-G F</b>	<b>3'TGACTATGAGGCCACCCTGA5'</b>	<b>210 pb</b>
<b>HLA-G R</b>	<b>3'CGCTGCCAGGTCAAGTATGAT5'</b>	

Le mix comporte les réactifs suivants :

**Tableau.1** : Le mix du PCR.

Réactifs	C1	C2	V
<b>Tampon</b>	10X	1X	2,5 µl
<b>dNTP</b>	10 µM	20 µM	0,5 µl
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	25 µM	1,5 µM	2,25 µl
<b>Taq polymérase</b>	/	/	0,5 µl
<b>Amorce sens</b>	20 µM	0,24 µM	0,25 µl
<b>Amorce anti-sens</b>	20 µM	0,24 µM	0,25 µl
<b>H<sub>2</sub>O</b>	/	/	17,25 µl
<b>ADN</b>	/	/	2 µl
<b>Total</b>	/	/	25 ml

Les tubes contenant 24 µl du mix et 1 µl d'ADN chacun. Par la suite, le thermocycleur a assuré le déroulement des cycles de la PCR, et les conditions d'amplification étaient les suivantes :

- La dénaturation initiale : 95°C pendant 5 minutes.
- L'hybridation 30 cycles de PCR : chaque cycle comprend 3 étapes : dénaturation à 95°C pendant 30 sec, une hybridation à 55°C pendant 45 sec et une élongation à 72°C pendant 30 sec.
- L'élongation finale : 72°C pendant 5 minutes.

Une fois l'amplification terminée, il est temps de vérifier les produits PCR en utilisant une électrophorèse sur un gel d'agarose à 2 %. Le gel est préparé en combinant 2 g d'agarose avec 25 ml de Tris Borate EDTA (TBE) 1 X et en ajoutant 0,8 µl de SYBR Green. Le mélange est ensuite déposé dans une cuve d'électrophorèse. Après polymérisation du gel, un 1 µl du produit de PCR est déposé dans chaque puits mélangé

avec 1  $\mu$ l de tampon de charge. Le dépôt se fait du côté cathode (-) et le système est soumis à une migration sous un courant de 100 volts pendant 30 min. Suite à la migration terminée, le gel est placé dans un système d'imagerie afin de pouvoir observer les fragments amplifiés sous forme de bande fluorescente. Lorsque le produit de la PCR est visualisé dans le système d'imagerie, deux bandes de tailles différentes peuvent être visualisées avec trois options.

### **III. Analyses statistiques :**

Les données ont été analysées en utilisant le programme statistique SPSS (version 22.0). Pour l'analyse statistique de nos paramètres biologiques, nous avons utilisé le test de khi deux utilisé pour déterminer s'il existe une relation statistiquement significative entre les génotypes du gène *HLA-G* et la présence de gliome, en comparant les fréquences observées de chaque génotype entre les groupes de patients et de témoins. Le p-value est 0,05 et le IC à 95%

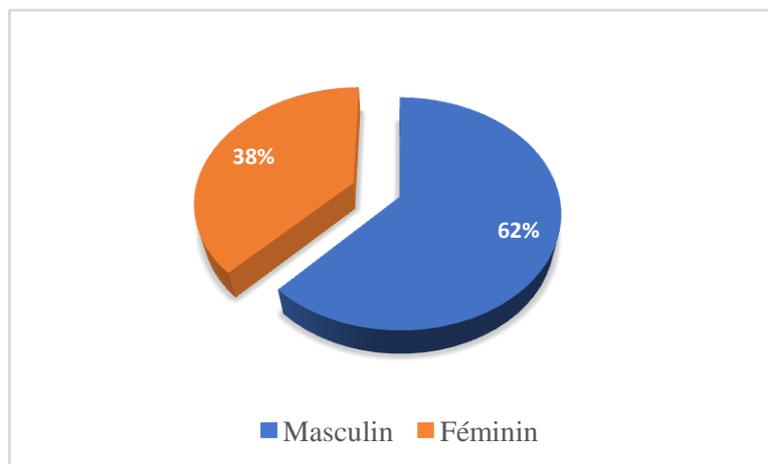
# *Chapitre 03 :*

## *Résultats*

## Etude descriptive :

### I.1. Répartition selon le sexe :

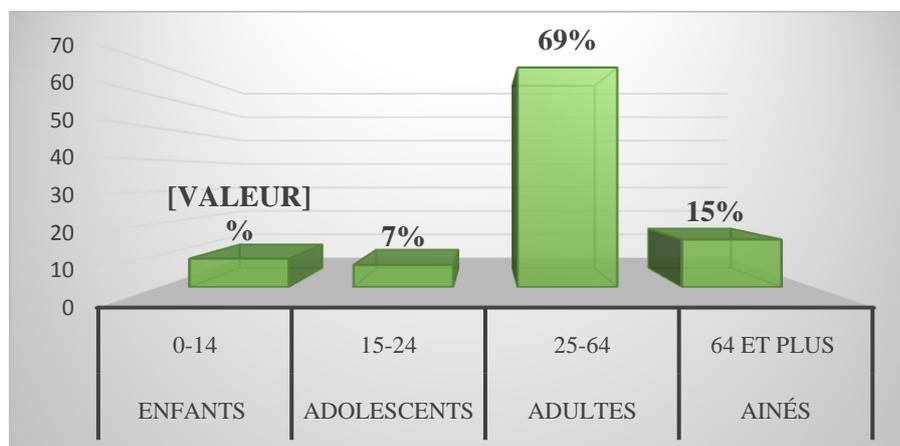
La **figure. 5** représente la répartition de notre population d'étude selon le sexe dont nous révélons que les hommes sont plus susceptibles à développer un gliome que les femmes avec une fréquence 62% chez les hommes contre 38% chez les femmes, avec un  $p\_value = 0.01$ .



**Figure.5 :** Répartition de la population cancéreuse selon le sexe.

### I.2. Répartition selon l'âge :

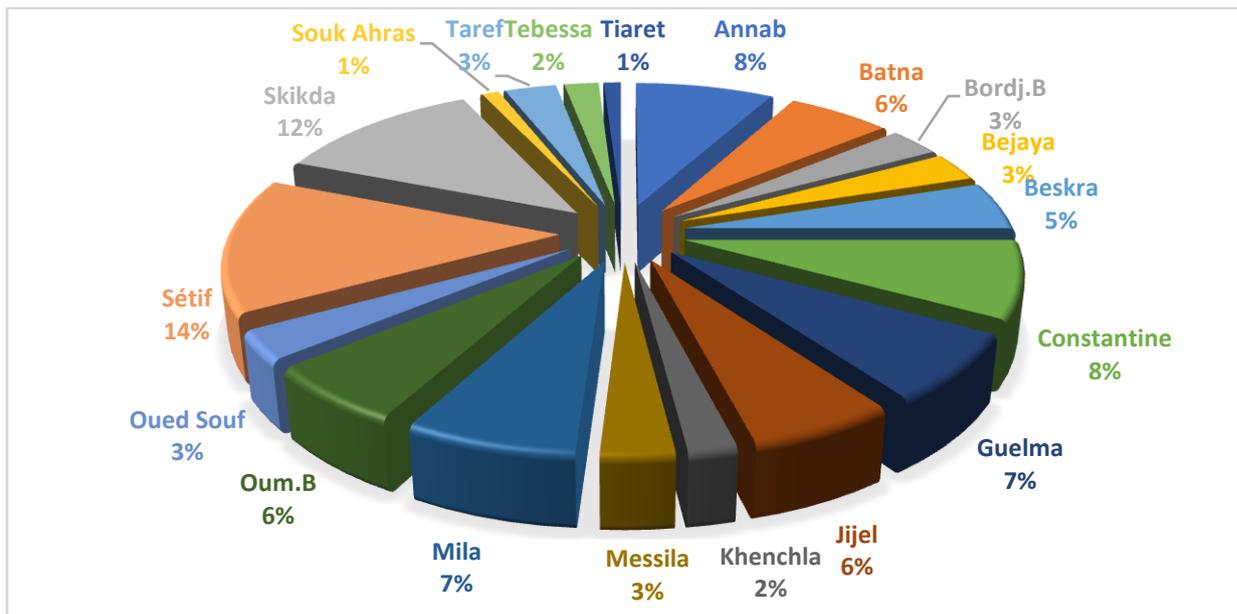
Notre population constituée de 100 malades avec une moyenne d'âge de 46 ans et un écart type de 18,73. La répartition a été faite selon des tranches selon l'OMS. La **figure. 6** montre que la tranche d'âge la plus touchée est celle regroupant les individus de 24 à 64 ans avec une fréquence de 69% suivie par celle regroupant les individus de 64 et plus avec une fréquence de 15%, avec une différence très hautement significatif avec un  $P < 0.0001$ .



**Figure.6** :Répartition selon l'âge.

**I.3. Répartition selon la wilaya d'origine :**

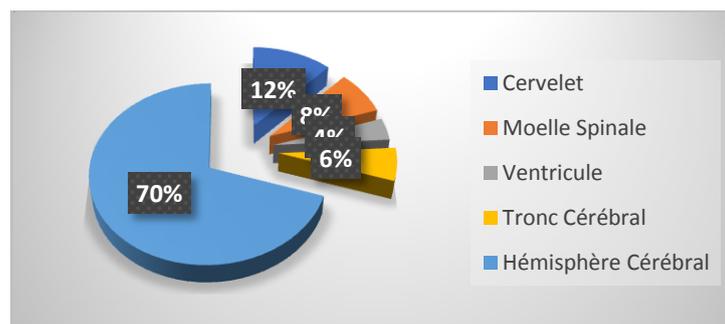
Le service de la neurochirurgie du CHU reçoit la majorité des patients atteints de gliomes de l'Est algérien. Le graphe révèle la répartition de la population de malades en regard de la wilaya d'origine, néanmoins, nous pouvons constater que les patients qui sont de Sétif, Skikda et Constantine sont les plus dominants.



**Figure.7** : Répartition selon l'origine

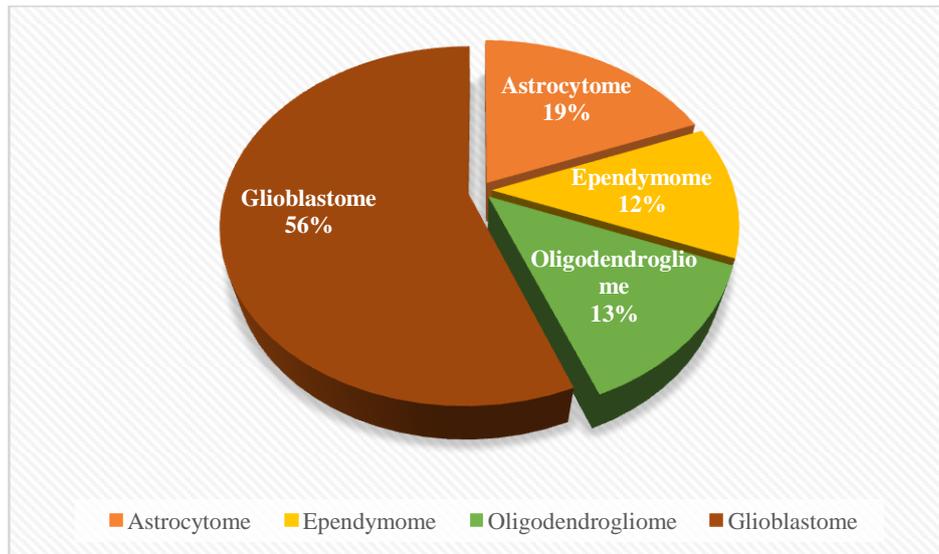
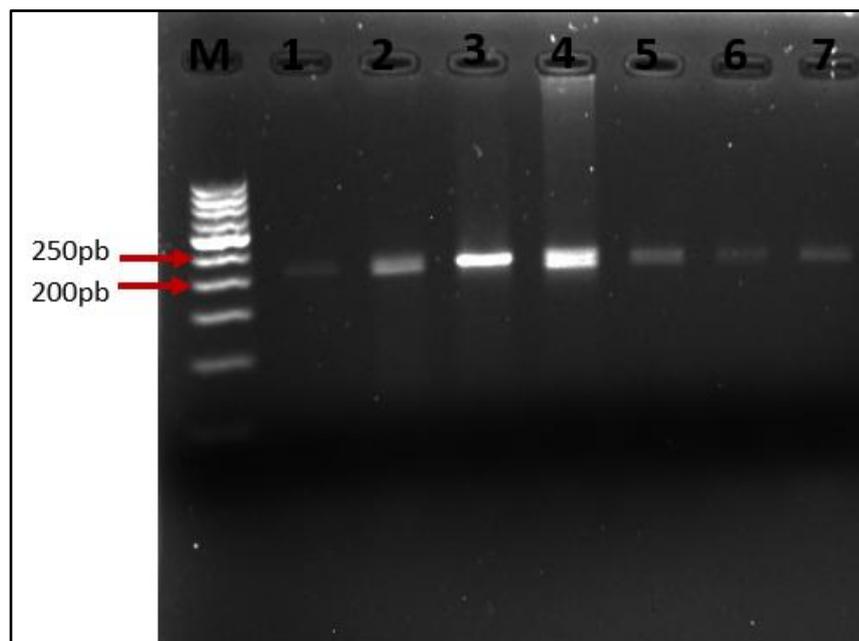
**I.4. Répartition selon la localisation de la tumeur :**

Dans la répartition selon la localisation de la tumeur nous pouvons constater que l'hémisphère cérébral est le plus touché avec 70% contre uniquement 12% des atteintes dans le cervelet, 8% dans la moelle spinale, 6% dans le tronc cérébral, et 4% dans le ventricule ( $P < 0.0001$ ).



**Figure.8** :Répartition selon la localisation de la tumeur.**I.5. Répartition selon le type histologique :**

En ce qui concerne la répartition selon le type histologique, selon la figure. 9 nous remarquons que les Glioblastomes représentent plus que la moitié des atteintes et sont donc les plus fréquents des types histologiques avec 56%. Ils sont suivis des Astrocytomes (19%) et des Oligodendrogliomes (13%) et des Ependymomes (12%). (  $P < 0,0001$ ).

**Figure.9**: Répartition selon le type histologique.**II. Résultats du génotypage du polymorphisme 14pb Ins/Del *H1A-G* :****II.1. Résultats de la PCR :**

**Figure. :** Profil d'électrophorèse de la PCR.

**M** : marqueur de taille de 50pb.

**1** : taille 210pb représente un homozygote sauvage.

**2,4 et 5** : représentent des hétérozygotes de 2 bandes : 210pb et 224pb.

**3,6 et 7** : représentent des homozygotes mutés avec une seule bande de 224pb.

Les fragments de 224 pb visualiser sur le profil électrophorétique contiennent le polymorphisme d'intérêt. L'apparition d'une seule bande de 210pb, correspond à un homozygote sauvage, non muté (bande 1). Concernant l'apparition de deux bandes, l'une de 210 pb et l'autre de 224 pb correspond à un hétérozygote muté (bande 4). Également l'apparition de deux bandes de 224 pb est synonyme d'une mutation, homozygote muté (bande 6).

**II.2.Fréquence génotypique et allélique :**

**Tableau.2 :** Fréquence génotypique et allélique du polymorphisme (Ins/Del) du gène HLA-G (sujets atteints gliome vs. Témoins sains).

		Malade	Témoin	OR IC à 95%	P-value
Fréquences Alléliques	L'allèle I (%)	21 (52,5%)	18 (45%)	1,3509 0,56 à 3,25	0,5026
	L'allèle D (%)	19 (47,5%)	22 (55%)		
Fréquences Génotypiques	ID vs DD+II n (%)	11 (55%) vs. 9 (45%)	12 (60%) vs. 8 (40%)	0,8148 0,23à 2,85	0,7492
	II vs ID+DD	5 (25%) vs. 15 (75%)	3 (15%) vs. 17 (85%)	1,8889 0,38 à 9,27	0,4333
	DD vs ID+II n (%)	4 (20%) vs. 16 (80%)	5 (20%) vs. 15 (75%)	0,7500 0,16 à 3,33	0,7054

L'analyse des résultats du génotypage du gène HLA-G pour le polymorphisme étudié selon les modèles de comparaison génétique utilisés n'a révélé aucune différence statistiquement significative dans la distribution des génotypes entre patients et témoins.

En effet, pour les modèles de comparaison ; dominant (II vs ID + DD), hétérozygote (ID vs II+ DD) ; récessif (DD vs ID + II) et allélique (I vs D), toutes les valeurs de p obtenues étaient respectivement de 0,4333 ; 0,7492 ; 0,7054 ; 0,5026 ; toutes supérieures au seuil de significativité de 0,05 ce qui indique l'absence d'association statistiquement significative entre le variant génique et pathologie étudiée dans notre série.

### II.3.Description du profil mutationnel de la cohorte :

**Tableau.3** : répartition des fréquences génotypique set alléliques selon le genre.

		DD	DI	II	D	I
<b>Malade</b>	<b>F</b>	2 (10%)	6 (30%)	2 (10%)	10 (50%)	10 (50%)
	<b>M</b>	2 (10%)	5 (25%)	3 (15%)	9 (45%)	11 (55%)
<b>Témoin</b>	<b>F</b>	4 (20%)	6 (30%)	0 (0%)	14 (70%)	6 (30%)
	<b>M</b>	1 (5%)	6 (30%)	3 (15%)	8 (40%)	12 (60%)
<b>OR</b>		0,250	1,20	5	0,63	1,81
<b>IC 95%</b>		0,013 à 4,72	0,23 à 6,18	0,17 à 146,65	0,18 à 2,21	0,49 à 6,68
<b>P-value</b>		0,3554	0,8275	0,3505	0,4767	0,3679

**Tableau.3** représente répartition des fréquences génotypique set alléliques selon le genre. Nous avons observé que la mutation II (Ins/Ins) est présente chez 10% femmes malades et aucune femme témoin. Cela pourrait suggérer que la mutation II est associée à la maladie chez les femmes, ou du moins, qu'il y a une différence notable dans la prévalence de cette mutation entre les femmes malades et les témoins.

La mutation II (Ins/Ins) est présente 15% chez hommes malades et également chez 15% hommes témoins. Contrairement aux femmes, il n'y a pas de différence apparente dans la prévalence de la mutation entre les hommes malades et les témoins.

**Tableau.4** :répartition des fréquences génotypique selon les types histologique du gliome.

	<b>DD</b>	<b>ID</b>	<b>II</b>
<b>Astrocytome</b>	2 (28,57%)	4 (57,14%)	1 (14,29)
<b>Oligodendrogliome</b>	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)
<b>Ependymome</b>	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)
<b>Glioblastome</b>	2 (18,18%)	6 (54,55%)	3 (27,27%)

**Tableau.4** révèle la répartition des fréquences génotypique selon les types histologique du gliome. Pour cela nous avons observé que la mutation II (Ins/Ins) apparaît trois fois dans le glioblastome, ce qui pourrait indiquer une corrélation entre cette mutation et la sévérité de la maladie, car le glioblastome est généralement considéré comme le type de gliome le plus sévère.

# **Chapitre 04 :**

## **Discussion**

**Discussion :**

Les gliomes représentent un groupe de tumeurs cérébrales primaires souvent agressives, dérivées des cellules gliales du système nerveux central. Leur incidence et leur gravité en font un domaine de recherche crucial en oncologie et en neurologie. Comprendre les mécanismes sous-jacents à la formation et à la progression des gliomes est essentiel pour améliorer les stratégies de diagnostic, de traitement et de prévention de cette maladie dévastatrice.

La génétique joue un rôle crucial dans la biologie des gliomes, influençant leur développement, leur comportement clinique et leur réponse aux traitements. Des avancées récentes dans le séquençage du génome ont permis d'identifier des altérations génétiques spécifiques associées aux gliomes, fournissant ainsi des pistes précieuses pour mieux comprendre leur physiopathologie.

Ce mémoire vise à explorer l'interrelation complexe entre les gliomes et la génétique, en examinant les principaux facteurs génétiques impliqués dans la susceptibilité aux gliomes, ainsi que leur impact sur la biologie tumorale et la réponse au traitement. En analysant les données actuelles et en examinant les perspectives futures de la recherche dans ce domaine, ce travail cherche à contribuer à l'avancement des connaissances sur les gliomes et à ouvrir de nouvelles avenues pour la prise en charge clinique de cette maladie.

Dans une première phase de notre étude, nous avons entrepris d'examiner la propension au développement des gliomes en fonction du sexe. Nos investigations ont révélé une prévalence significativement plus élevée chez les individus de sexe masculin, avec une incidence observée de 62 % chez les hommes, comparativement à 38 % chez les femmes, comme mis en évidence dans la figure 5. Cette observation soulève la question de l'influence potentielle des hormones sexuelles sur la pathogenèse et la progression des glioblastomes multiformes (GBM). Des études à grande échelle ont corroboré cette tendance, mettant en lumière une corrélation notable entre les œstrogènes, reconnus pour leur rôle neuroprotecteur chez les femmes, et la prévalence des gliomes. Parallèlement, l'intérêt accru porté récemment au potentiel tumorigénique de la testostérone dans le contexte des GBM

suggère une contribution significative de cette hormone sexuelle à la prédominance observée chez les individus de sexe masculin. [44].

Nos résultats sont semblables à ceux des études menées en 2021 par Carrano et al qui ont trouvé que l'incidence du GBM est plus élevée chez les hommes que chez les femmes.

Dans notre étude nous avons sélectionné une cohorte de 100 patients, présentant une moyenne d'âge de 46 ans. La répartition des âges a été effectuée en différentes tranches, avec une prédominance observée chez les individus âgés de 24 à 64 ans, représentant 84 % de la population étudiée, suivie par celle des enfants âgés de 0 à 14 ans, avec une fréquence de 9 %.

Globalement, l'âge estimé moyen au moment du diagnostic des tumeurs du SNC est de 56 ans (55 pour les hommes et 57 pour les femmes) aux États-Unis et de 53 ans (53 pour les hommes et 54 pour les femmes) en Europe. Avec l'âge, l'incidence globale augmente, avec les valeurs les plus élevées chez les individus âgés de 60 ans et plus[26].

Les taux d'incidence sont très différents à travers le monde, les plus élevés étant dans les pays occidentaux développés (Europe et Amérique du Nord) et de type occidental (Australie/Nouvelle-Zélande). Les taux d'incidence standardisés en Europe sont également variables selon l'âge : les valeurs les plus élevées ont été montrées au Royaume-Uni, en Irlande et en Europe du Nord, les plus faibles en Europe orientale[26].

Nos résultats sont en parfaite harmonie avec ceux menée dans les études précédentes avec une dominance des patients atteint de gliomes âgés de plus de 50 ans.

L'analyse de la répartition des gliomes selon leur localisation révèle une prépondérance marquée au niveau de l'hémisphère cérébral, représentant 70 % des cas observés. En contraste, le cervelet affiche une incidence bien moindre, n'étant touché que dans 12 % des cas, suivi de la moelle spinale avec 8 %, du tronc cérébral avec 6 % et des ventricules avec 4 %.

Ces résultats sont cohérents avec d'autres études de population, où l'hémisphère gauche est signalé comme étant le site le plus fréquemment affecté, représentant 48,9 % des cas étudiés. Les autres sites présentent des taux d'incidence relativement plus faibles, tels que le cervelet dans 6 cas, le tronc cérébral chez 5 patients et les ventricules chez 4 patients.

Cette distribution asymétrique des gliomes selon leur localisation soulève des questions quant aux mécanismes sous-jacents de la pathogenèse tumorale dans différentes régions du système nerveux central, ainsi que sur l'impact potentiel de cette localisation sur la présentation clinique et le pronostic des patients atteints de gliomes[25].

Nos résultats sont en accord avec les constatations de Touati Sabrina et al mené en 2020 qui ont pu également trouver une dominance de l'atteinte de l'hémisphère cérébral[25].

En ce qui concerne la répartition par type histologique, une prédominance significative des glioblastomes est observée, représentant plus de la moitié des cas étudiés, ce qui en fait le type histologique le plus fréquent. Les astrocytomes viennent ensuite en deuxième position, représentant 19 % des cas, suivis des oligodendrogliomes à 13 % et des épendymomes à 10 %.

Ces résultats corroborent les conclusions de l'étude menée par Sabrina Touati entre 2008 et 2016, où les glioblastomes étaient également le type histologique le plus courant, représentant 55 % des cas étudiés.

La prédominance des glioblastomes parmi les types histologiques de gliomes peut être expliquée par plusieurs facteurs. L'une des explications réside dans la biologie intrinsèque de cette tumeur, caractérisée par une prolifération rapide des cellules tumorales, une angiogenèse accrue et une résistance aux traitements. Cette agressivité tumorale est souvent attribuée à un large éventail de mutations génétiques et d'altérations moléculaires, notamment des mutations du gène EGFR, des perturbations du cycle cellulaire et des altérations du réseau de signalisation des voies oncogéniques. Une référence valable pour étayer cette explication est l'étude de [45] Cette étude a effectué une analyse exhaustive du génome des glioblastomes, mettant en évidence les altérations génétiques fréquentes associées à cette tumeur, telles que les mutations de l'EGFR, la perte de la fonction de TP53 et les mutations du gène IDH1. Ces altérations contribuent à la croissance tumorale incontrôlée, à la résistance aux traitements et à la mauvaise réponse aux thérapies standard[25].

En ce qui concerne la répartition géographique des patients en fonction de leur wilaya d'origine, une prédominance est clairement observée chez ceux provenant de Sétif, Skikda et

Constantine. Il est notable que la majorité des cas de gliomes dans l'Est algérien sont pris en charge par le service de neurochirurgie du Centre Hospitalier Universitaire (CHU).

Une comparaison avec les données du projet de fin d'études de 2015 dans l'est de l'Algérie révèle des variations significatives dans la répartition par wilaya d'origine des patients. Cette observation témoigne d'une grande disparité dans la distribution géographique des cas de gliomes selon la wilaya d'origine. Parmi les zones les plus touchées, on retrouve notamment Mila, Constantine et Jijel.

Il est intéressant de noter que Constantine figure parmi les wilayas les plus affectées dans l'étude suggérant une prévalence continue de la maladie dans cette région. Cependant, il est également pertinent de souligner que les taux de cas varient entre les deux études pour les autres wilayas, soulignant l'importance de surveiller et d'analyser de manière continue l'incidence des gliomes dans différentes régions géographiques[46].

En ce qui concerne la distribution génétique du polymorphisme 14pb Ins/Del HLA-G, nos résultats sont en accord avec une étude faite par Bucova et al. en 2022 [47].

Nos données montrent une prévalence plus élevée du génotype II dans les tumeurs de haut degré de malignité, ce qui pourrait suggérer que ce génotype est associé à un rôle potentiel dans la progression ou la gravité des tumeurs.

De nombreuses études ont établi une corrélation entre l'expression du HLA-G et un mauvais pronostic dans divers cancers. L'expression élevée du HLA-G causée par ce polymorphisme est associée à une progression tumorale plus agressive, une résistance accrue aux traitements et une survie globale réduite chez les patients atteints de cancer, ce qui explique le fait que ce polymorphisme soit fréquent chez les patients atteints de glioblastome[48][49].

# **Chapitre 05 :**

## **Conclusion et Perspective**

## **Conclusion :**

Les gliomes, ces tumeurs cérébrales surgissant des cellules gliales, constituent un défi majeur dans le domaine de la neurochirurgie. Représentant près de 30 % de toutes les tumeurs cérébrales et environ 80 % des tumeurs malignes du cerveau, leur impact sur la santé est considérable. Notre recherche s'est penchée sur une étude prospective transversale, menée au sein du service de neurochirurgie du CHU de Constantine, visant à comprendre les facteurs de risque associés aux gliomes, notamment en examinant l'association du polymorphisme 14pb Ins/Del du gène HLAG.

Les résultats de notre investigation ont révélé une tendance marquée : une prédisposition accrue des hommes à développer des gliomes par rapport aux femmes, une observation qui pourrait être en partie attribuée à des facteurs hormonaux masculins. De plus, les glioblastomes ont émergé comme le type histologique prédominant, représentant une proportion significative des cas étudiés, soit 56 %.

Bien que les différences statistiquement significatives dans la distribution des génotypes du gène HLA-G entre les patients atteints de gliome et les témoins n'aient pas été observées, cette exploration génétique demeure cruciale pour élucider les mécanismes étiologiques sous-jacents à cette pathologie complexe. Il convient de souligner que ces conclusions reposent sur un échantillon de patients limité. Ainsi, afin d'obtenir des résultats plus représentatifs et fiables, une étude sur un échantillon plus vaste et diversifié est impérative.

En conclusion, notre étude offre une contribution éclairante à la compréhension des gliomes et de leur architecture génétique. Néanmoins, ces découvertes ne représentent qu'un premier pas dans la quête de solutions cliniques innovantes. Nous aspirons à ce que nos résultats inspirent de nouvelles recherches et stimulent des avancées substantielles dans la prise en charge et le traitement des patients atteints de gliomes.

# Références Bibliographiques

- [1] **S. Gritsch, T. T. Batchelor, et L. N. GonzalezCastro**, « Diagnostic, therapeutic, and prognostic implications of the 2021 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system », *Cancer*, vol. 128, n° 1, p. 47- 58, 2022, doi: 10.1002/cncr.33918.
- [2] **Mme DONTENWILL Monique**, « Les cellules initiatrices de tumeurs à l'origine de l'hétérogénéité d'expression de l'intégrine  $\alpha 5\beta 1$  dans les glioblastomes ». 2 octobre 2019. [En ligne]. Disponible sur: <https://theses.hal.science/tel-02303810>
- [3] **R. Chen, M. Smith-Cohn, A. L. Cohen, et H. Colman**, « Glioma Subclassifications and Their Clinical Significance », *Neurotherapeutics*, vol. 14, n° 2, p. 284- 297, avr. 2017, doi: 10.1007/s13311-017-0519-x.
- [4] C. C. S. / S. canadienne du cancer, « Anatomie et physiologie du système nerveux », Société canadienne du cancer. Consulté le: 22 avril 2024. [En ligne]. Disponible sur: <https://cancer.ca/fr/cancer-information/cancer-types/neuroblastoma/what-is-neuroblastoma/the-nervous-system>
- [5] **H. Boccon-Gibod**, « Système nerveux Central ». Consulté le: 22 avril 2024. [En ligne]. Disponible sur: [http://democritique.org/Cerveau/Syst%C3%A8me\\_nerveux\\_Central.svg.xhtml](http://democritique.org/Cerveau/Syst%C3%A8me_nerveux_Central.svg.xhtml)
- [6] É. Larousse, « encéphale - LAROUSSE ». Consulté le: 22 avril 2024. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/enc%C3%A9phale/12760>
- [7] « Anatomie du cerveau : Comment fonctionne le cerveau humain ? », Institut du Cerveau. Consulté le: 22 avril 2024. [En ligne]. Disponible sur: <https://institutducerveau-icm.org/fr/actualite/comprendre-le-cerveau-et-son-fonctionnement/>
- [8] « Neuroanatomie », Kenhub. Consulté le: 22 avril 2024. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.kenhub.com/fr/library/anatomie/neuroanatomie-fr>
- [9] « Moelle épinière : anatomie, rôle, pathologies, traitements », <https://www.passeportsante.net/>. Consulté le: 22 avril 2024. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.passeportsante.net/fr/parties-corps/Fiche.aspx?doc=moelle-epiniere>
- [10] « Histologie du système nerveux centrale ». [En ligne]. Disponible sur: [https://www.histologistes.org/CHEC/images/pedago/ECN/HISTOLOGIE\\_DU\\_SYSTE\\_ME\\_NERVEUX\\_CENTRAL.pdf](https://www.histologistes.org/CHEC/images/pedago/ECN/HISTOLOGIE_DU_SYSTE_ME_NERVEUX_CENTRAL.pdf)
- [11] É. Larousse, « neurone - LAROUSSE ». Consulté le: 23 avril 2024. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.larousse.fr/encyclopedie/divers/neurone/73210>
- [12] « Neuromorphologie », *Wikipédia*. 28 janvier 2024. Consulté le: 23 avril 2024. [En ligne]. Disponible sur: <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Neuromorphologie&oldid=211928699>
- [13] **K. Soini**, « Histologie (étude des tissus) », *H Istol.*.
- [14] « Figure 6.1: Schéma représentant des neurones parmi la matrice... », ResearchGate. Consulté le: 23 avril 2024. [En ligne]. Disponible sur: [https://www.researchgate.net/figure/Schema-representant-des-neurones-parmi-la-matrice-extracellulaire-environnante-Ces\\_fig54\\_281984607](https://www.researchgate.net/figure/Schema-representant-des-neurones-parmi-la-matrice-extracellulaire-environnante-Ces_fig54_281984607)

- [15] « Oligodendrocyte : définition et explications », AquaPortail. Consulté le: 25 avril 2024. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/14764/oligodendrocyte>
- [16] « Cellule épendymaire : définition et explications », AquaPortail. Consulté le: 25 avril 2024. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/11803/cellule-ependymaire>
- [17] « Cellules gliales : astrocytes, oligodendrocytes et microglies | Biologie | Jupiter ». Consulté le: 25 avril 2024. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.jove.com/science-education/10843/glia-cells-astrocytes-oligodendrocytes-and-microglia>
- [18] « Tumeur cérébrale : symptômes, prévention et traitements », <https://www.passeportsante.net/>. Consulté le: 25 avril 2024. [En ligne]. Disponible sur: [https://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=tumeur-cerebrale-cancer-cerveau\\_pm](https://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=tumeur-cerebrale-cancer-cerveau_pm)
- [19] « Tumeurs cérébrales », CHUV. Consulté le: 25 avril 2024. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.chuv.ch/fr/neurologie/nlg-home/patients-et-familles/maladies-traitees/tumeurs-cerebrales>
- [20] « Qu'est-ce qu'un cancer du cerveau ? | Fondation ARC pour la recherche sur le cancer ». Consulté le: 22 avril 2024. [En ligne]. Disponible sur: <https://fondation-arc.org/cancer/cancer-cerveau/quest-ce-quun-cancer-du-cerveau->
- [21] « Astrocytome – Centres interdisciplinaires d'oncologie ». Consulté le: 22 avril 2024. [En ligne]. Disponible sur: <https://centrescancer.chuv.ch/maladie/astrocytome/>
- [22] « Oligodendrogliome – Centres interdisciplinaires d'oncologie ». Consulté le: 22 avril 2024. [En ligne]. Disponible sur: <https://centrescancer.chuv.ch/maladie/oligodendrogliome/>
- [23] « Ependymome – Centres interdisciplinaires d'oncologie ». Consulté le: 22 avril 2024. [En ligne]. Disponible sur: <https://centrescancer.chuv.ch/maladie/ependymome/>
- [24] « Glioblastome – Centres interdisciplinaires d'oncologie ». Consulté le: 22 avril 2024. [En ligne]. Disponible sur: <https://centrescancer.chuv.ch/maladie/glioblastome/>
- [25] **S. Touati, R. Djekkoun, M. E.-H. El-Okki, et D. Satta**, « Epidemiology and survival analyses of 333 adult glioma patients from Eastern Algeria (2008–2016) », *Afr. Health Sci.*, vol. 20, n° 3, p. 1250- 1258, sept. 2020, doi: 10.4314/ahs.v20i3.29.
- [26] **E. Crocetti et al.**, « Epidemiology of glial and non-glial brain tumours in Europe », *Eur. J. Cancer*, vol. 48, n° 10, p. 1532- 1542, juill. 2012, doi: 10.1016/j.ejca.2011.12.013.
- [27] **N. N. Daly-Schveitzer et E. Cabarrot**, « Cancérologie clinique », in MASSON, no. 2 éme. , 2004, p. 370.
- [28] **F. SCOTTE et P.COLONNA**, « Cancérologie », Nouvelle édition., in Réussir L'ECN. , ellipses, p. 316.
- [29] **B. W. Kristensen, L. P. Priesterbach-Ackley, J. K. Petersen, et P. Wesseling**, « Molecular pathology of tumors of the central nervous system », *Ann. Oncol.*, vol. 30, n° 8, p. 1265- 1278, août 2019, doi: 10.1093/annonc/mdz164.
- [30] **K. Vigneswaran, S. Neill, et C. G. Hadjipanayis**, « Beyond the World Health Organization grading of infiltrating gliomas: advances in the molecular genetics of glioma classification », *Ann. Transl. Med.*, vol. 3, n° 7, Art. n° 7, mai 2015, doi: 10.3978/j.issn.2305-5839.2015.03.57.
- [31] **Diogo S. Castro, Ph.D et Carlos Matos, Ph.D**, « FUNCTIONAL STUDIES ON ZEB TRANSCRIPTION FACTORS IN GLIOBLASTOMA ». 2020. [En ligne]. Disponible sur: <file:///C:/Users/pc%20taj/Downloads/Master%20Thesis%20Nuno.pdf>

- [32] **M. Karsy, J. Guan, A. L. Cohen, R. L. Jensen, et H. Colman**, « New Molecular Considerations for Glioma: IDH, ATRX, BRAF, TERT, H3 K27M », *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.*, vol. 17, n° 2, p. 19, mars 2017, doi: 10.1007/s11910-017-0722-5.
- [33] **N. Senhaji, A. Squalli Houssaini, S. Lamrabet, S. Louati, et S. Bennis**, « Molecular and Circulating Biomarkers in Patients with Glioblastoma », *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 23, n° 13, p. 7474, juill. 2022, doi: 10.3390/ijms23137474.
- [34] **A. Oprita et al.**, « Updated Insights on EGFR Signaling Pathways in Glioma », *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 22, n° 2, Art. n° 2, janv. 2021, doi: 10.3390/ijms22020587.
- [35] **X. Fan, Y. Wang, C. Zhang, X. Liu, Z. Qian, et T. Jiang**, « Human leukocyte antigen-G overexpression predicts poor clinical outcomes in low-grade gliomas », *J. Neuroimmunol.*, vol. 294, p. 27- 31, mai 2016, doi: 10.1016/j.jneuroim.2016.03.015.
- [36] **S. Jasinski-Bergner, D. Schmiedel, O. Mandelboim, et B. Seliger**, « Role of HLA-G in Viral Infections », *Front. Immunol.*, vol. 13, févr. 2022, doi: 10.3389/fimmu.2022.826074.
- [37] **V. Durmanova et al.**, « HLA-G 5'URR regulatory polymorphisms are associated with the risk of developing gliomas », *Int. J. Neurosci.*, vol. 133, n° 4, p. 365- 374, avr. 2023, doi: 10.1080/00207454.2021.1922401.
- [38] « Les polymorphismes de délétion de 14 pb dans le gène HLA-G jouent un rôle important dans l'expression du HLA-G soluble dans le plasma - **Chen** - 2008 - Tissue Antigens - Wiley Online Library ». Consulté le: 23 mai 2024. [En ligne]. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1399-0039.2008.01107.x>
- [39] **C. Ribeyre et al.**, « HLA-G Haplotypes Are Differentially Associated with Asthmatic Features », *Front. Immunol.*, vol. 9, févr. 2018, doi: 10.3389/fimmu.2018.00278.
- [40] **P. Rousseau, M. Le Discorde, G. Mouillot, C. Marcou, E. D. Carosella, et P. Moreau**, « The 14 bp Deletion-Insertion polymorphism in the 3' UT region of the HLA-G gene influences HLA-G mRNA stability », *Hum. Immunol.*, vol. 64, n° 11, p. 1005- 1010, nov. 2003, doi: 10.1016/j.humimm.2003.08.347.
- [41] **C. S. Ramos et al.**, « Analysis of HLA-G gene polymorphism and protein expression in invasive breast ductal carcinoma », *Hum. Immunol.*, vol. 75, n° 7, p. 667- 672, juill. 2014, doi: 10.1016/j.humimm.2014.04.005.
- [42] **Y. Jiang, J. Lu, Y.-E. Wu, X. Zhao, et L. Li**, « Genetic variation in the HLA-G 3'UTR 14-bp insertion/deletion and the associated cancer risk: evidence from 25 case-control studies », *Biosci. Rep.*, vol. 39, n° 5, p. BSR20181991, mai 2019, doi: 10.1042/BSR20181991.
- [43] **L. Yaghi et al.**, « Hypoxia inducible factor-1 mediates the expression of the immune checkpoint HLA-G in glioma cells through hypoxia response element located in exon 2 », *Oncotarget*, vol. 7, n° 39, p. 63690- 63707, août 2016, doi: 10.18632/oncotarget.11628.
- [44] **A. Carrano, J. J. Juarez, D. Incontri, A. Ibarra, et H. Guerrero Cazares**, « Sex-Specific Differences in Glioblastoma », *Cells*, vol. 10, n° 7, Art. n° 7, juill. 2021, doi: 10.3390/cells10071783.
- [45] **C. W. Brennan et al.**, « The Somatic Genomic Landscape of Glioblastoma », *Cell*, vol. 155, n° 2, p. 462- 477, oct. 2013, doi: 10.1016/j.cell.2013.09.034.
- [46] « Etude épidémiologique et moléculaire des gliomes dans l'Est Algérien ». 2015. [En ligne]. Disponible sur: <https://fac.umc.edu.dz/snv/bibliotheque/biblio/mmf/2015/95-2015.pdf>
- [47] **M. Bucova et al.**, « HLA-G 14bp Ins/Del Polymorphism, Plasma Level of Soluble HLA-G, and Association with IL-6/IL-10 Ratio and Survival of Glioma Patients », *Diagnostics*, vol. 12, n° 5, Art. n° 5, mai 2022, doi: 10.3390/diagnostics12051099.

- [48] **F. Morandi, R. Rizzo, E. Fainardi, N. Rouas-Freiss, et V. Pistoia**, « Recent Advances in Our Understanding of HLA-G Biology: Lessons from a Wide Spectrum of Human Diseases », *J. Immunol. Res.*, vol. 2016, n° 1, p. 4326495, 2016, doi: 10.1155/2016/4326495.
- [49] **Y. Wang *et al.***, « Tumor border sharpness correlates with HLA-G expression in low-grade gliomas », *J. Neuroimmunol.*, vol. 282, p. 1- 6, mai 2015, doi: 10.1016/j.jneuroim.2015.02.013.

# Annexe

## Questionnaire sur les tumeurs cérébrales :

### Information générale :

Service :

Numéro du dossier : ..... Date : .....

Nom : ..... Prénom : ..... Sexe : Féminin  masculin

Poids : ..... Taille : .....

Adresse actuelle : ..... Age : .....

Situation familiale : Marié  Célibataire  Divorcé  Autres

Profession :

Antécédents personnels :

Antécédents familiaux : cas similaire dans la famille : Oui  Non

Si oui précisez le membre de la famille atteint : .....

Autres tumeurs : Oui  Non

Si oui, précisez les membres de la famille atteint : .....

Autres antécédents familiaux : .....

### Mode de vie

Usage de téléphone portable : fréquemment  jamais

Tabagisme actif: Oui  Non

Tabagisme passif: Oui  Non

### Diagnostic de la maladie :

Découverte en : .....(Mois)/..... (Année)

Type histologique : ..... Grade : .....

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 traitements : Oui Non

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

Vivant(e) :  stationnaire  rechute  rémission

## **Principe de protocole :**

Les leucocytes, qui constituent la principale source d'ADN, sont exclus du sang total par lyse hypotonique, puis traités avec un détergent (SDS) et une protéinase K. Cette méthode vise à décomposer toutes les protéines membranaires. La libération de l'ADN nucléaire dans le milieu et la digestion et l'élimination des protéines génomiques associées sont effectuées par précipitation au NaCl. On forme la pelote d'ADN dans le surnageant en précipitant de l'éthanol. Le rapport de la DO à 260 m (logueur d'onde d'absorption des protéines) est utilisé pour solubiliser l'ADN en phase aqueuse, ce qui doit être compris entre 1,8 et 2.

### **➤ Les réactifs d'extraction d'ADN :**

TE : Tris EDTA (20:5).

Tampon de Lyse (NaCl 400mM, EDTA 2mM, Tris 10 mM, ph 8.2).

TE : Tris EDTA (10:1).

SDS à 10 %.

Protéinase K à 10mg/ml.

NaCl 4M.

Éthanol à 70%.

Éthanol absolu.

### **✓ Equipement et Matériel :**

- Tube Falcon 15 ml.
- Tube Eppendorf 1.5ml.
- Pastille Stérile.
- Centrifugeuse.
- Agitateur rotateur.
- Machine à glace.
- Micropipette (100µl,1000µl, 20µl).
- Tube Eppendorf.
- Nanodrop.

### **➤ Les réactifs PCR :**

- Tompon (10X, 1X)
- dNTP (10 µM, 20µM)
- MgCl<sub>2</sub> (25µl, 1,5 µl)
- Taq
- H<sub>2</sub>O
- ADN
- Amorce sens (F)

- Amorce anti-sens (R)

✓ **Équipement et Matériels :**

- Tube Eppendorf.
- Micropipette (20µl, 100µl).
- Thermocycleur.

➤ **Les réactifs d'électrophorèse :**

- Gel d'agarose à 2%.
- Tris Borate (TBE) 1X.
- SYBR Green.



## Protocole d'Extraction de l'ADN

### Technique au NaCl

#### ➤ Principe

Les leucocytes sont séparés du sang total par lyse hypotonique et traités ensuite par un détergent (SDS) et une protéinase K.

L'ADN nucléaire est libéré dans le milieu et les protéines qui lui sont associés sont digérées et éliminées par précipitation au NaCl. La pelote d'ADN est formée dans le surnageant par précipitation avec éthanol.

L'ADN est solubilisé en phase aqueuse par le rapport de la DO à 260 nm (logueur d'onde d'absorption des protéines) qui doit être compris entre 1.8 à 2.

#### ➤ Réactifs

- TE: Tris EDTA (20:5).
- Tampon de Lyse (NaCl 400mM, EDTA 2mM, Tris 10 mM, pH 8.2).
- TE: Tris EDTA (10:1).
- SDS à 10 %.
- Protéinase K à 10mg/ml.
- NaCl 4M.
- Éthanol à 70%.
- Éthanol absolu.

#### ➤ Consommable

- Tube Falcon 15 ml.
- Tube Eppendorf 1.5ml.
- Pastille Stérile.

#### ➤ Equipement et Matériel

- Centrifugeuse.
- Agitateur rotateur.
- Machine à glace.



## ➤ Procedure

### ❖ Préparation des Leucocytes

1. Dans un tube Falcon 15ml, mettre le sang.
2. Compléter à 13 ml avec Tris EDTA (20:5), pour la lyse des GR.
3. Agitation manuel (forte agitation).
4. Laisser 10 min dans la glace.
5. Centrifuger 10 min à 3900g (3800 rpm).
6. Aspirer le surnageant avec la trompe à vide.
7. Ajouter quelques ml de TE (20:5) au culot et le remettre en suspension avec une pastille stérile.
8. Compléter à 13 ml avec du TE (20:5) et laisser 10 min dans la glace.
9. Centrifuger dans les mêmes conditions que la première fois.
10. Aspirer le surnageant avec la trompe à vide: Obtention d'un culot des leucocytes.

### ❖ Extraction d'ADN :

11. Ajouter 3 ml de Tampon de Lyse en dilacérant le culot avec une palette stérile.
12. Ajouter 200 µl de SDS à 10 %.
13. Ajouter 10 µl de protéinase K à 04mg/ml.
14. Agiter le tube sur une roue à 56°C pendant 02h .
15. Refroidir le tube dans la glace.
16. Ajouter 1ml de NaCl 4M et agiter vigoureusement à la main.
17. Remettre 5 min dans la glace (précipitation des protéines).
18. Centrifuger 15 min à 2500 rpm.
19. Transvaser le surnageant dans un tube Falcon de 15 ml, ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi (environ 8 ml) et agiter en retournant le tube plusieurs fois: la pelote d'ADN se forme.
20. Si la pelote d'ADN ne se forme pas, laisser éventuellement 30 min à -20°C.
21. Récupérer la pelote d'ADN avec une pipette pasteur et la rincer 02 fois dans éthanol à 70%.
22. Mettre la pelote d'ADN dans un tube nue.



❖ **Solubilisation d'ADN :**

23. Ajouter entre 300-500 µl de TE (10:1) selon la grosseur de la pelote d'ADN et la concentration souhaitée.

24. Incuber les ADN à 50°C sur un agitateur, pendant 15 à 20 minutes.

❖ **Conservation d'ADN :**

❖ .....

❖ **Control de qualité de l'ADN :**

❖ .....

❖ **Quantification d'ADN**

❖ .....

➤ **Notes**

RAS

➤ **Références**

❖ Ingénieur ; Dacsi Yasmina -Centre Hospitalo-universitaire Benbadis Constantine.

❖ Miller S.A, Dykes D.D.and Polesky H.F (1988) Nucleic acid research 16(3) 1215.

**Année universitaire :** 2023-2024

**Présenté par :** Guerouache Anfel  
Chergui Sandra Meriem

**Etude de l'association entre le polymorphisme Ins/Del du gène HLA-G et les gliomes chez les patients de l'Est Algérien**

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Physiologie Cellulaire et Physiopathologie.**

**Résumer :** Les gliomes sont des tumeurs primitives du système nerveux central, issues d'astrocytes, d'oligodendrocytes ou de leurs acteurs. Les gliomes sont classés en différents groupes en fonction de leurs caractéristiques histologiques.

Le but de ce travail est de décrire l'association entre le gliome et le polymorphisme Ins/Del du gène HLA-G à partir d'échantillons sanguins pris au niveau du CHU de Constantine.

**Matériel et méthodes :** Il s'agit d'une étude prospective, transversale de type cas-témoin portant sur des cas de gliomes diagnostiqués dans le service de neurochirurgie du CHU IBN BADISS Constantine (24 mars 2024- 16 mai 2024). Notre échantillon est de 100 patients par faute de réactifs le génotypage a été réaliser sur 20 patients. Le gène HLA-G est le paramètre qui a été analysé. Le polymorphisme a été déterminé par une extraction d'ADN, PCR, et une électrophorèse.

**Résultats :** 62% des patients étaient de sexe masculin. Concernant le type histologique le plus répondu est le glioblastome avec 56%. Il n'existe pas une différence significative entre le groupe témoin et le groupe des atteints en comparant les génotypes : II vs DD+ID (OR, 1,8889<sup>..</sup> ; IC à 95% de 0,3848 à 0,2709 ; P-value=0,4333), DD vs ID+II (OR,0,7500<sup>..</sup> ; IC à 95% de 0,1688 à 3,3332 ; P-value= 0,7054), ID vs DD+II(OR,0,8148<sup>..</sup> ; IC à 95% de 0,2322 à 2,8598 ; P-value= 0,7492).

**Conclusion :** nous avons trouvé une association positive avec le sexe masculin et le gliome. Le polymorphisme ins/Del 14pb du gène HLA-G semble jouer un rôle potentiel dans la modulation de l'expression de HLA-G et, par conséquent, dans l'échappement immunitaire et la progression des gliomes. Toutefois, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour élucider pleinement les mécanismes par lesquels ce polymorphisme influence le développement et la progression des gliomes, et pour déterminer s'il peut servir de cible thérapeutique ou de biomarqueur pour le traitement et le pronostic des gliomes.

**Mots-clets :** Gliome, Polymorphisme, Gène HLA-G.

**Laboratoires de recherche :** laboratoire de Biologie Moléculaire en CRBT.

**Président du jury :** Pr. Rouabah Leila (PROF- UConstantine1Frères Mentouri).

**Encadrant :** Dr. Dahamni Dahbia Ines (MCA - UFM Constantine 1).

**Encadrant :** Dr Ayachia Sariyah (Dr -Centre de Recherche en Biotechnologie)

**Examinatrice :**Dr Zeghdar Moufida / MCA - UFM Constantine 1).