

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique**  
**Université Frères Mentouri Constantine**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biologie Animale**



N° d'ordre : 25/D3C/2021

N° de série : 02/BA/2021

**Thèse**  
**présentée pour l'obtention du diplôme de Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Filière : Biotechnologie, biologie et environnement**  
**Spécialité : Génétique Moléculaire**

**Présentée et soutenue par : TOUATI Sabrina**

Intitulé :

---

**Profils épidémiologique et de susceptibilité génétique aux gliomes dans l'est Algérien**

---

**Membres du jury :**

Présidente :

**SATTA Dalila**

Prof – Université des Frères Mentouri – Constantine 1

Directeur :

**DJEKKOUN Rachid**

Prof – Université Salah Boubnider – Constantine 3

Examineurs :

**SIFI Karima**

Prof – Université Salah Boubnider – Constantine 3

**HAMDOUCHE Souad**

Prof – Université Salah Boubnider – Constantine 3

**HAMIDECHI Mohamed Abdelhafid**

Prof – Université des Frères Mentouri – Constantine 1

**Année universitaire**  
**2020 – 2021**

*Au terme de cette thèse, qui est pour moi une longue expérience hyper enrichissante autant sur le plan scientifique et humain que sur le plan personnel, je tiens à exprimer toute ma gratitude envers le **Tout Puissant** pour m'avoir donné le courage, la force et la persévérance de mener à bien ce travail avec l'agréable sentiment d'accomplissement et de fierté.*

*J'exprime, par la même occasion, ma reconnaissance aux patients et à leurs parents, qui, sans eux, ce travail n'aurait pu voir le jour.*

*Mon étude a été faite avec eux et pour eux.*

# Dédicaces

*A mes parents qui ont stressé pour cette thèse plus que moi. Je ne vous remercierai jamais assez pour m'avoir soutenu toute ma vie, parfois même sans comprendre mes choix. Vous avez su m'accompagner pour trouver mon chemin, vous m'avez tout donné, vous avez même corrigé cette thèse. Du fond du cœur **MERCI***

*A Nanna et mes tantes pour tout leur douâa.*

*A mes cousines et amies qui m'ont aidée et soutenu du mieux qu'elles pouvaient.*

*A toute ma grande famille qui s'est beaucoup impatientée pour l'achèvement de ce Doctorat.*

*A tout ceux qui m'ont soutenu, encouragé et inquiété pour moi.*

*Je vous dédie ce travail*

## Remerciements

Ma reconnaissance va à madame le **Pr SATTI Dalila**, présidente du jury et responsable de la formation doctorale, pour sa disponibilité, sa constante sollicitude, ses corrections et remarques constructives. N'ayant ménagé aucun effort pour l'aboutissement de ce travail, son aide m'a été très précieuse.

Je voudrais associer ma reconnaissance à mon directeur de thèse, **Pr DJEKKOUN Rachid**, qui m'a fait bénéficier de son savoir, de ses connaissances, a su me pousser à être indépendante et a fait sortir le meilleur qui est en moi.

Mes plus vifs remerciements sont adressés au **Pr SIFI Karima**, au **Dr HAMDOUCHE Souad** et au **Pr HAMIDECHI Abdelhafid** qui me font l'honneur de juger le travail et de siéger au jury de cette thèse malgré la situation sanitaire.

Je ne saurais oublier de remercier le **Pr ABADI Noureddine**, directeur du laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire du CHU Constantine pour m'avoir accueillie au sein de sa structure et pour m'avoir permis de travailler sur paillasse et me sentir généticienne au contact de l'ADN.

Que le **Pr AROUF**, ex médecin chef du service de neurochirurgie, trouve ici toute ma reconnaissance pour m'avoir ouvert les portes de son service, ainsi que les maitres assistants **CHABI Adel** et **LOUAT Saïd**, les résidents et tout le personnel du service pour leur accueil et leur aide précieuse.

Mes remerciement s'adressent également à monsieur le **Pr VALLIERES Luc** du centre de recherche de l'université Laval au Québec, Canada, pour m'avoir accueillie au sein de son équipe et m'avoir donné toutes les facilités pour réaliser mon travail ainsi qu'à Mr le **Pr RAYMOND Vincent**, du même centre au Québec, pour ses éclaircissements, ses précieux conseils et sa lecture critique de mon article.

Ma reconnaissance s'adresse particulièrement :

- Aux infirmières et infirmiers des services d'oncologie-radiothérapie et de neurochirurgie qui ont contribué à la collecte des échantillons ;
- A **Mme Yasmina DADCI**, technicienne responsable de l'extraction d'ADN, pour tout ce qu'elle m'a appris, mais surtout pour son soutien, sa gentillesse, son grand cœur et ses encouragements.
- Au **Pr Tahar KEZAI** pour sa vision nouvelle et enrichissante qui a conduit à la métamorphose de mon article, ainsi que pour la dose de positivité et d'inspiration à chaque rencontre, un énorme MERCI

Que tous ceux qui ont, d'une façon ou d'une autre, contribué à la réalisation de ce travail, trouvent ici, le témoignage de mes sincères remerciements.

# Table des matières

<b>Liste des abréviations</b> .....	I
<b>Liste des figures</b> .....	V
<b>Liste des tableaux</b> .....	VI
<b>Introduction</b> .....	1

## Synthèse bibliographique

### Chapitre I : Siège et développement des tumeurs gliales

1. Le Système Nerveux Central (SNC) .....	3
1.1. Anatomie Système Nerveux Central .....	3
1.2. Histologie du Système Nerveux Central .....	5
2. Genèse des tumeurs gliales .....	8
2.1. Cellule d'origine .....	8
2.2. Altérations moléculaires impliquées .....	9
2.2.1. Profil mutationnel .....	9
a. Astrocytomes .....	10
b. Oligodendrogliomes .....	11
c. Ependymomes .....	12
d. Progression au gliome de haut grade .....	12
e. Glioblastomes.....	13
2.2.2. Régulation épigénétique .....	14

### Chapitre II : Aspects épidémiologique et étiologique des gliomes

1. Épidémiologie .....	15
2. Facteurs de risque .....	17
3. Prédisposition génétique .....	19

### Chapitre III : Diagnostic et traitement des gliomes

1. Classification .....	25
2. Clinique des gliomes.....	31
2.1 Symptomatologie.....	31
2.2 Neuro-imagerie .....	32

3. Traitement des gliomes .....	33
3.1 Neurochirurgie .....	33
3.2 Radiothérapie .....	34
3.3 Chimiothérapie .....	36
3.4 Quatrième modalité de traitement .....	37

## **Patients et méthodes**

I. Structuration du projet .....	38
II. Population d'étude .....	39
1. Patients .....	39
1.1. Critères d'inclusion .....	39
1.2. Critères d'exclusion .....	39
2. Témoins .....	39
III. Démarche méthodologique .....	40
1. Recueil des données .....	40
2. Paramètres étudiés .....	40
3. Prélèvement sanguin .....	41
4. Préparation des échantillons .....	42
4.1 Extraction d'ADN .....	42
4.2. Évaluation de la qualité et de la concentration de l'ADN .....	42
5. Analyse moléculaire .....	43
5.1 Choix des polymorphismes « SNPs » .....	43
5.2 Génotypage iPLEX multiplex .....	45
5.3 Principe MALDI-TOF .....	47
5.4 Présentation du processus du génotypage .....	48
5.4.1 Conception d'amorces .....	48
5.4.2 Préparation de l'ADN .....	48
a. Dilution robotisée .....	48
b. Dosage PicoGreen .....	48
5.4.3 Préparation des réactions PCR et iPLEX .....	49
5.4.4 Étapes du génotypage iPLEX.....	49
IV. Analyse statistique .....	51

## Résultats et discussion

I. Volet épidémiologique .....	52
1. Description de la population d'étude .....	52
1.1. Données démographiques .....	52
1.2. Données cliniques .....	55
1.3. Traitement .....	57
2. Analyse de survie .....	58
3. Facteurs pronostics .....	66
II. Volet génétique .....	68
1. Caractéristiques de la population étudiée .....	68
2. Analyse moléculaire « cas-témoins » .....	70
2.1. Rs2736100 (5p15.33, TERT) .....	70
2.2. Rs6010620 (20q13.33, RTEL1) et rs4977756 (9p21.3, CDKN2B-AS1) .....	71
2.3. Nombre total d'allèles .....	74
2.4. SNPs non-associés .....	75
3. Analyse de cas .....	76
3.1. Associations avec le sexe .....	78
3.2. Association à l'âge .....	78
3.3. Association au type histologique .....	80
3.4. Association au grade de malignité .....	82
4. Analyse de survie en fonction des SNPs .....	83
5. SNPs non significatifs .....	85
6. SNPs non analysés .....	87
<b>Discussion générale</b> .....	89
<b>Conclusion</b> .....	92
<b>Perspectives</b> .....	93
<b>Références bibliographiques</b> .....	94
<b>Annexes</b> .....	112
<b>Résumés</b>	

## Liste des abréviations

<b>2HG :</b>	2-hydroxyglutarate
<b>AKAP6 :</b>	A-Kinase Anchoring Protein 6
<b>AKT3:</b>	AKT serine/threonine kinase 3
<b>ALT:</b>	Alternative Lengthening of Telomeres
<b>ANRIL :</b>	Antisense Non-coding RNA in the INK4 Locus
<b>AQP :</b>	Aquaporine
<b>ARCN1:</b>	Archain 1
<b>ARF :</b>	Alternate Reading Frame protein product of the CDKN2A locus
<b>ARFRP1 :</b>	ADP Ribosylation Factor Related Protein 1
<b>ATRX :</b>	Alpha- Thalassemia /Mental Retardation Syndrome, X-linked
<b>C2ORF80 :</b>	Chromosome 2 Open Reading Frame 80
<b>C11ORF95 :</b>	Chromosome 11 Open Reading Frame 95
<b>CAC :</b>	Centre Anti Cancer
<b>CCDC26 :</b>	Coiled-Coil Domain Containing 26
<b>CD44 :</b>	Cluster of Differentiation 44
<b>CDK :</b>	Cyclin Dependent Kinase
<b>CDKN2A/B (-AS1):</b>	Cyclin Dependent Kinase inhibitor 2A/2B (AntiSense RNA1)
<b>CHUC :</b>	Centre Hospitalo-Universitaire Constantine
<b>CHUQ :</b>	CHU de Québec
<b>CIC :</b>	Capicua transcriptional repressor
<b>CIRC :</b>	Centre International de Recherche sur le Cancer
<b>CMV :</b>	CytomégaloVirus
<b>CpG :</b>	Cytosine-phosphate-Guanine
<b>CSG :</b>	Cellule Souche Gliale
<b>CTV :</b>	Clinical Target Volume
<b>ddNTP :</b>	didésoxynucléotide
<b>dNTP :</b>	désoxynucléotide
<b>DIDO1 :</b>	Death Inducer-obliterator 1
<b>DO :</b>	Densité Optique
<b>EDTA :</b>	Ethylene Diamine Tetraacetic Acid
<b>EGF :</b>	Epidermal Growth Factor
<b>EGFR :</b>	Epidermal Growth Factor Receptor
<b>EORTC :</b>	European Organization for Research and Treatment of Cancer
<b>Eph :</b>	Erythropoietin-producing human hepatocellular
<b>Ephrins :</b>	Eph receptor-interacting proteins
<b>ERBB2 :</b>	erb-b2 receptor tyrosine kinase 2/ erythroblastic oncogene B
<b>ERCC :</b>	Excision Repair 1, endonuclease non-catalytic subunit
<b>ET :</b>	Écart Type
<b>ETFA :</b>	Electron Transfer Flavoprotein subunit Alpha

<b>EZH2 :</b>	Enhancer of zeste 2 polycomb repressive complex 2 subunit
<b>FAM:</b>	Fréquence de l'Allèle Mineur
<b>FUBP1 :</b>	Far UpStream Element Binding Protein 1
<b>GALNT6 :</b>	polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 6
<b>G-CIMP :</b>	CpG island methylator phenotype
<b>GBM :</b>	Glioblastome
<b>GMEB2 :</b>	Glucocorticoid Modulatory Element Binding protein 2
<b>GTV:</b>	Gross Tumor Volume
<b>GWAS :</b>	Genome Wide Association Studies
<b>Gy:</b>	Gray
<b>HAR1A :</b>	Highly Accelerated Region 1A
<b>HEATR3:</b>	HEAT Repeat containing 3
<b>hnRNP :</b>	Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins
<b>HOTAIR :</b>	HOX transcript antisense RNA
<b>HOX :</b>	homeobox
<b>HR :</b>	Hazard Ratio/ rapport de risque
<b>HWE :</b>	équilibre de Hardy-Weinberg
<b>IC 95% :</b>	Intervalle de Confiance à 95%
<b>ID :</b>	Inhibiteur de Différenciation
<b>IDH :</b>	Isocitrate Déshydrogénase
<b>IGF1 :</b>	Insulin like Growth Factor 1
<b>IGRT :</b>	Image Guided Radiation Therapy
<b>IL-13:</b>	Interleukin 13
<b>IMC :</b>	Indice de Masse Corporelle
<b>IMRT :</b>	Intensity Modulated Radiation Therapy
<b>INK4 :</b>	INHibitors of CDK4
<b>IRM :</b>	Imagerie par Résonance Magnétique
<b>JAK1 :</b>	Janus kinase 1
<b>LCS :</b>	Liquide Cérébro-Spinal
<b>LIME1:</b>	Lck interacting transmembrane adaptor 1
<b>LMF1 :</b>	Lipase Maturation Factor 1
<b>LOH :</b>	Loss Of Heterozygosity
<b>LRIG1 :</b>	Leucine rich repeats and immunoglobulin like domains 1
<b>MALDI-TOF :</b>	Matrix-Associated LASER Desorption and Ionization, Time Of Flight
<b>MAML2 :</b>	Mastermind like transcriptional coactivator 2
<b>Mb :</b>	Méga bases
<b>MDM2 :</b>	Mouse Double Minute 2
<b>MGMT :</b>	O6-methylguanine-DNA methyltransferase
<b>MPG :</b>	N-methylpurine DNA glycosylase
<b>MTAP :</b>	Methylthioadenosine phosphorylase
<b>MYC :</b>	Myelocytoma
<b>NF1/2 :</b>	Neurofibromin 1/2
<b>NFKB :</b>	Nuclear Factor-Kappa B

<b>NKD2 :</b>	NKD inhibitor of WNT signaling pathway 2
<b>NGS :</b>	Next Generation Sequencing
<b>NOS :</b>	Not Otherwise Specified
<b>NSC :</b>	Neural Stem Cells
<b>OBFC1 :</b>	Oligonucleotide/oligosaccharide-Binding fold-Containing protein 1
<b>OMS :</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>OPRL1:</b>	Opioid related nociceptin receptor 1
<b>OR :</b>	Odds Ratio
<b>PARP1 :</b>	Poly(ADP-ribose) Polymerase 1
<b>PCNA :</b>	Proliferating Cell Nuclear Antigen
<b>PCR:</b>	Polymerase Chain Reaction
<b>PCV :</b>	Procarbazine, lomustine (CCNU) et Vincristine
<b>PDGFRA :</b>	Platelet Derived Growth Factor Receptor Alpha
<b>PHLDB1 :</b>	Pleckstrin Homology Like Domain family B member 1
<b>PI3K :</b>	Phosphatidylinositol-3-OH Kinase
<b>PKB :</b>	Protein Kinase B
<b>POLR3B :</b>	RNA polymerase III subunit B
<b>PRC2 :</b>	Polycomb Repressive Complex 2
<b>PRKDC :</b>	Protein Kinase, DNA-activated, Catalytic subunit
<b>PTB :</b>	Polypyrimidine Tract Binding protein
<b>PTEN :</b>	Phosphatase and tensin homolog
<b>PTV:</b>	Planning Target Volume
<b>RAB27A :</b>	RAB27A, member RAS oncogene family
<b>RAVER2 :</b>	Ribonucleoprotein, PTB binding 2
<b>RB :</b>	Rétinoblastome
<b>RPE :</b>	Ribulose-5-Phosphate-3-Epimerase
<b>RPL5P30 :</b>	Ribosomal Protein L5 Pseudogene 30
<b>RPM :</b>	Rotation Par Minute
<b>RT :</b>	Radiothérapie
<b>RTEL1 :</b>	Regulator of Telomere ELongation helicase 1
<b>RTK :</b>	Récepteurs Tyrosine Kinase
<b>RTOG :</b>	Radiation Therapy Oncology Group
<b>SAP :</b>	Shrimp Alkaline Phosphatase
<b>SDS :</b>	Sodium Dodécyl Sulfate
<b>SETD2 :</b>	SET Domain containing 2, histone lysine methyltransferase
<b>SLC16A8 :</b>	Solute carrier family 16 member 8
<b>SLC2A4RG :</b>	SLC2A4 Regulator
<b>SNC :</b>	Système Nerveux Central
<b>SNP :</b>	Single Nucleotide polymorphism
<b>SRP :</b>	Score de Risque Polygénique
<b>SSBP2 :</b>	Single Stranded DNA Binding Protein 2
<b>STAT :</b>	Transducers and Activators of Transcription
<b>STK38L :</b>	Serine/Threonine Kinase 38 Like

<b>STMN3 :</b>	Stathmin 3
<b>TCEA2 :</b>	Transcription elongation factor A2
<b>TCF7L2 :</b>	Transcription factor 7 like 2
<b>TDM :</b>	Tomodensitométrie
<b>TE :</b>	Tris-EDTA
<b>TERC :</b>	Telomerase RNA Component
<b>TERT :</b>	Telomerase Reverse Transcriptase
<b>TMEM25 :</b>	Transmembrane protein 25
<b>TMZ :</b>	Témozolamide
<b>TNF :</b>	Tumor Necrosis Factor
<b>TP53 :</b>	Tumor Protein 53
<b>TREH :</b>	Trehalase
<b>TTF :</b>	Tumor Treating Field
<b>TWAS :</b>	Transcriptome Wide Association Study
<b>VEGF :</b>	Vascular Endothelial Growth Factor
<b>VTI1A :</b>	Vesicle Transport through Interaction with t-SNAREs 1A
<b>VZV:</b>	Virus de la Varicelle-Zona
<b>XRCC:</b>	X-ray Repair Cross Complementing
<b>YAP :</b>	Yes Associated Protein
<b>ZBTB16 :</b>	Zinc finger and BTB domain containing 16
<b>ZGPAT :</b>	Zinc finger CCCH-type and G-patch domain containing
<b><math>\alpha</math>-KG :</b>	$\alpha$ -cétoglutarate

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Structure du Système Nerveux Central .....	3
<b>Figure 2 :</b> Organisation du cerveau .....	4
<b>Figure 3:</b> Substances grise et blanche .....	5
<b>Figure 4 :</b> Gliocytes centraux .....	7
<b>Figure 5:</b> Algorithme simplifié pour la classification des gliomes diffus (OMS 2016) .....	28
<b>Figure 6 :</b> Exemple d'une coupe d'IRM avec les volumes GTV, CTV et PTV .....	35
<b>Figure 7 :</b> Schéma explicatif de la structuration du projet d'étude .....	38
<b>Figure 8 :</b> Aperçu de la chimie du génotypage iPLEX .....	46
<b>Figure 9:</b> Schématisation du principe MALDI TOF (BRUKER) .....	47
<b>Figure 10 :</b> Répartition des patients selon l'âge et le sexe .....	52
<b>Figure 11 :</b> Courbe de survie Kaplan-Meier en fonction du sexe .....	60
<b>Figure 12 :</b> Courbe de survie Kaplan-Meier en fonction des groupes d'âge .....	61
<b>Figure 13 :</b> Courbe de survie Kaplan-Meier en fonction de l'étage de la tumeur .....	61
<b>Figure 14 :</b> Courbe de survie Kaplan-Meier en fonction de la localisation .....	62
<b>Figure 15 :</b> Courbe de survie Kaplan-Meier en fonction du type histologique .....	62
<b>Figure 16 :</b> Courbe de survie Kaplan-Meier en fonction du grade de malignité .....	63
<b>Figure 17 :</b> Courbe de survie Kaplan-Meier en fonction du type de chirurgie .....	63
<b>Figure 18 :</b> Courbe de survie Kaplan-Meier en fonction du type de traitement oncologique .....	64
<b>Figure 19:</b> Organisation du locus 9p21.3 .....	73

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Loci et SNPs identifiés par les GWAS par ordre d'identification .....	21
<b>Tableau 2</b> : Une partie du grading OMS 2007 des tumeurs du SNC .....	26
<b>Tableau 3</b> : Liste des SNPs sélectionnés avec leurs caractéristiques .....	44
<b>Tableau 4</b> : Caractéristiques des patients atteints de gliomes .....	54
<b>Tableau 5</b> : Répartition des malades atteints de gliomes selon le schéma de traitement reçu .	57
<b>Tableau 6</b> : Moyenne et taux de survie de la population selon les différents paramètres .....	59
<b>Tableau 7</b> : Facteurs pronostics des analyses univariée et multivariée .....	66
<b>Tableau 8</b> : Caractéristiques cliniques et démographiques des patients et témoins .....	68
<b>Tableau 9</b> : Polymorphismes ayant montré une significativité dans leur forme hétérozygote .	71
<b>Tableau 10</b> : Caractéristiques des SNPs non-associés au risque de gliomes .....	76
<b>Tableau 11</b> : Association entre polymorphismes et paramètres démographiques et cliniques .	77
<b>Tableau 12</b> : Liste des polymorphismes négatifs dans toutes les associations .....	85

# *Introduction*

## **Introduction**

Les gliomes constituent un ensemble de néoplasies relativement rares, avec un pronostic le plus souvent sombre. Ils siègent dans le Système Nerveux Central « SNC », constituent environ 26% de ses tumeurs et ont une incidence annuelle mondiale de 13/100000 habitants [1]. En plus de présenter d'importantes variations à travers les régions du monde en termes d'incidence et de mortalité, ces néoplasies se distinguent par le peu de facteurs de risque établis [2]. Grâce aux nombreuses études réalisées majoritairement dans les pays développés, les connaissances sur les gliomes ont notablement évolué. Néanmoins, les données épidémiologiques et étiologiques sur ces tumeurs dans les pays du tiers monde restent limitées.

L'exposition aux rayonnements ionisants et les syndromes génétiques rares tels Turcot, Li-Fraumeni et la Neurofibromatose ont, jusqu'à récemment, été les seuls facteurs de risque confirmés pour les tumeurs cérébrales [3–5]. A présent, des preuves de l'association entre rayonnements non ionisants, comme l'utilisation abusive du téléphone mobile et le risque de développer un gliome sont fournies [6–8], et des facteurs potentiels d'origine virale tels la rougeole [9] ou le cytomégalovirus (CMV) [10] sont identifiés.

Tous ces facteurs, pris ensemble, ne pouvant expliquer qu'une petite proportion de cas, ainsi que le risque accru de gliome chez les apparentés au premier degré des personnes atteintes de tumeurs cérébrales primitives, ont mené les chercheurs à s'intéresser à la susceptibilité génétique à la pathologie. Les études les plus importantes de ce côté sont les études d'associations pangénomiques (GWAS : Genome Wide Association Studies). Elles ont pour but de découvrir des variantes génétiques associées au risque de développer un gliome. Depuis les deux premières études publiées en 2009 [11, 12], vingt-cinq loci de susceptibilité ont été identifiés, et le support d'une susceptibilité polygénique aux gliomes a été mis en évidence [13, 14].

Les populations de base des études GWAS sont européennes et américaines. Les populations algérienne et africaines d'une manière générale, à l'instar des pays en voie de développement, restent peu investiguées. En effet, elles n'ont fait l'objet que de très peu d'études, surtout en raison de la modeste couverture par les registres du cancer, du manque de structures de rassemblement d'échantillons biologiques, des moyens limités dédiés à la

recherche et de la rareté de ces tumeurs. Tous ces éléments ayant contribué au manque de données sur ces populations d'une part et les variations entre les différentes régions du monde d'autre part, laissent suggérer que les profils épidémiologiques et génétiques des patients pourraient différer.

Pour cela, notre projet se base sur une population de patients algériens atteints de gliomes et admis au niveau du Centre Hospitalo-Universitaire Benbadis Constantine (CHUC) qui prend en charge la majorité des cancéreux de l'Est de l'Algérie. Ce projet est composé de deux volets :

Volet 1 : une étude épidémiologique sur dossiers de patients admis au service d'oncologie-radiothérapie, entre Janvier 2008 et Octobre 2016, en vue d'établir un profil épidémioclinique et d'analyser la survie.

Volet 2 : une étude génétique de type cas-témoins sur ADN leucocytaire qui vise à investiguer les SNPs ayant donné les signaux les plus forts dans les loci identifiés par les GWAS.

Notre recherche a pour but de répondre aux questions suivantes :

- 1- Le profil épidémiologique des patients Algériens présente-t-il des spécificités par rapport aux autres populations ?
- 2- La susceptibilité aux gliomes est-elle la même que celle des populations des GWAS ?  
Et est-ce que les variations dans les loci identifiés par les GWAS peuvent être utilisées comme marqueurs diagnostic ou pronostic ?

*Synthèse  
bibliographique*

# *Chapitre I*

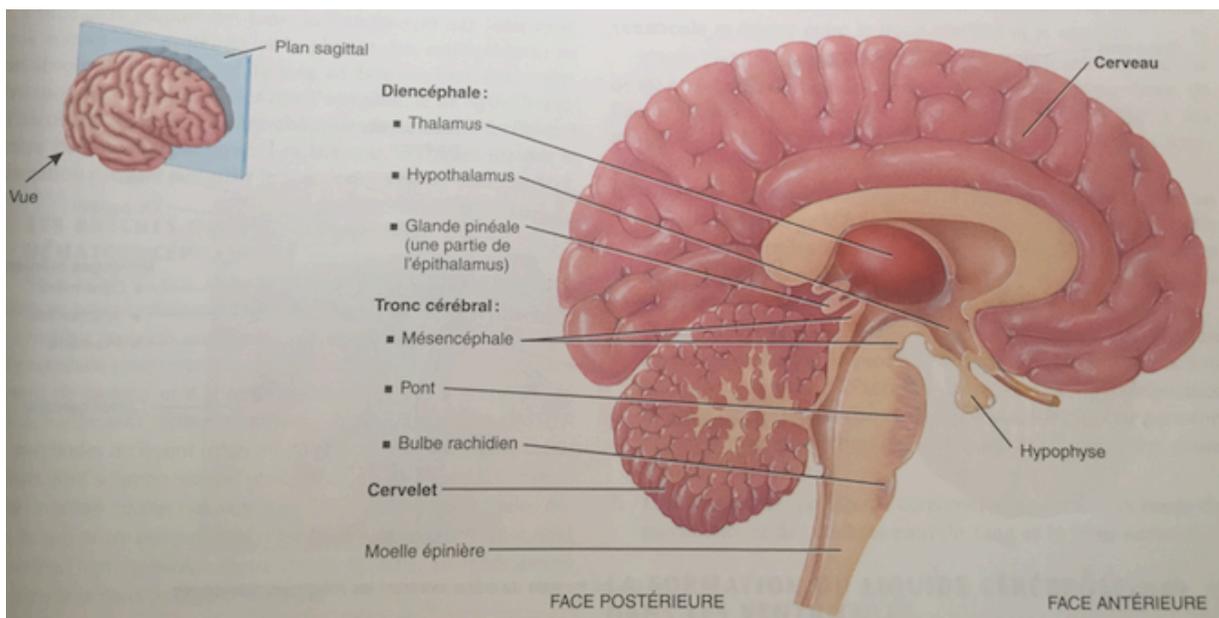
## *Siège et développement des tumeurs gliales*

## 1. Le Système Nerveux Central (SNC)

Les tumeurs gliales ou gliomes naissent et se développent au sein du SNC, ce sont les tumeurs primitives malignes les plus fréquentes qui le touchent, et elles ne provoquent que très rarement des métastases en dehors.

### 1.1. Anatomie du Système Nerveux Central

Le système nerveux central est composé de l'encéphale et de la moelle spinale (ou moelle épinière). Cette dernière, située dans le canal vertébral, est le lieu de transit des voies nerveuses qui unissent les récepteurs et les effecteurs à l'encéphale par l'intermédiaire des nerfs spinaux. Quant à l'encéphale, situé dans la cavité crânienne, il comprend quatre grandes régions : le tronc cérébral, le cervelet, le diencephale et le cerveau (figure 1).



**Figure 1** : Structure du Système Nerveux Central [15]

**Le tronc cérébral**, prolongeant la moelle spinale, est le lieu de passage des grandes voies nerveuses et le centre de reflexes autonomes nécessaires à la survie comme la régulation du rythme cardiaque et de la respiration.

**Le cervelet**, se situant derrière le tronc cérébral, joue le rôle le plus important dans la régulation de la posture et de l'équilibre.

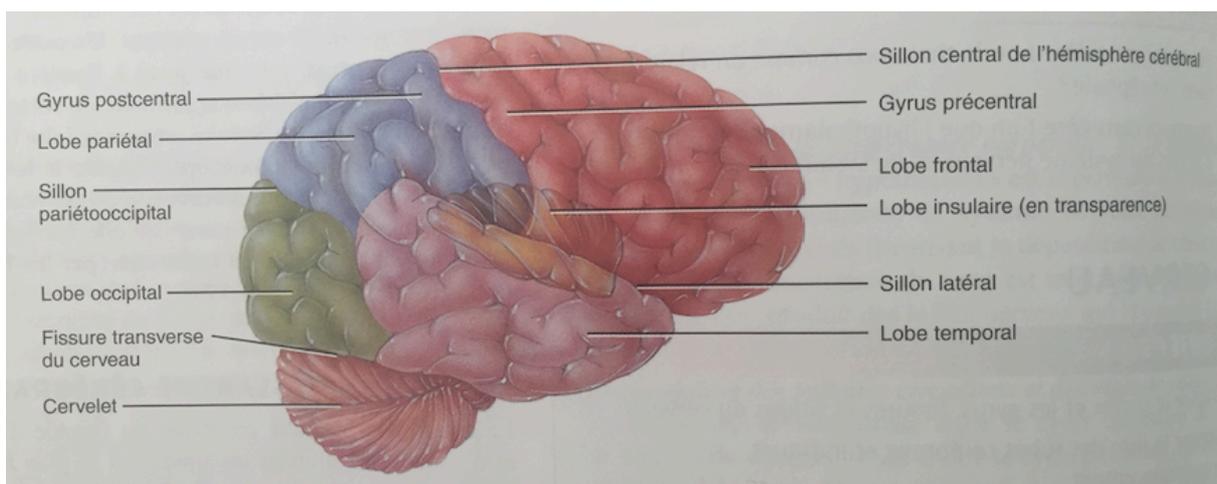
**Le diencephale** surmonte le tronc cérébral ; il est formé du thalamus, de l'hypothalamus et de l'épithalamus.

**Le cerveau**, qui recouvre le diencephale et le tronc cérébral, constitue la partie la plus volumineuse de l'encéphale. Organe d'une complexité fonctionnelle jamais égalée, il représente le principal centre récepteur, intégrateur et émetteur des influx nerveux [15, 16].

Les moitiés droite et gauche du cerveau, appelées **hémisphères cérébraux**, sont séparées par la faux du cerveau. Sa surface extérieure est plissée et caractérisée par des sillons et des fissures. Les fissures cérébrales, qui sont les plus profondes, isolent les hémisphères et les lobes. Chacun des deux hémisphères se subdivise en six lobes dont quatre sont visibles à la surface, soit les lobes frontal, pariétal, occipital et temporal (figure 2).

Le lobe frontal est constitué essentiellement des centres moteurs ; le lobe pariétal des centres sensitifs ; le lobe occipital, des aires visuelles ; le lobe temporal, des fonctions somato-sensitives notamment les aires sensibles de l'audition, de l'odorat et du goût.

Les deux lobes restants sont : le lobe insulaire, situé dans le fond de la fosse latérale, assure une grande variété de fonctions allant du traitement sensoriel et affectif à la cognition de haut niveau ; et le lobe limbique qui constitue la majeure partie de la face médiale d'un hémisphère cérébral, il est le domaine de l'instinct [15, 16].



**Figure 2** : Organisation du cerveau [15]

Le SNC est, par ailleurs, creusé de cavités communiquant entre elles, remplies de liquide cérébro-spinal (LCS) et tapissées d'un épithélium, l'*épendyme*.

Le LCS, remplissant les cavités sub-arachnoïdiennes encéphaliques et spinale, les ventricules cérébraux et le canal central de la moelle spinale, constitue un des deux éléments de protection du SNC, le deuxième élément étant *les méninges*.

Les membranes méningées, qui entourent et isolent le SNC des parois osseuses, comprennent trois couches superposées :

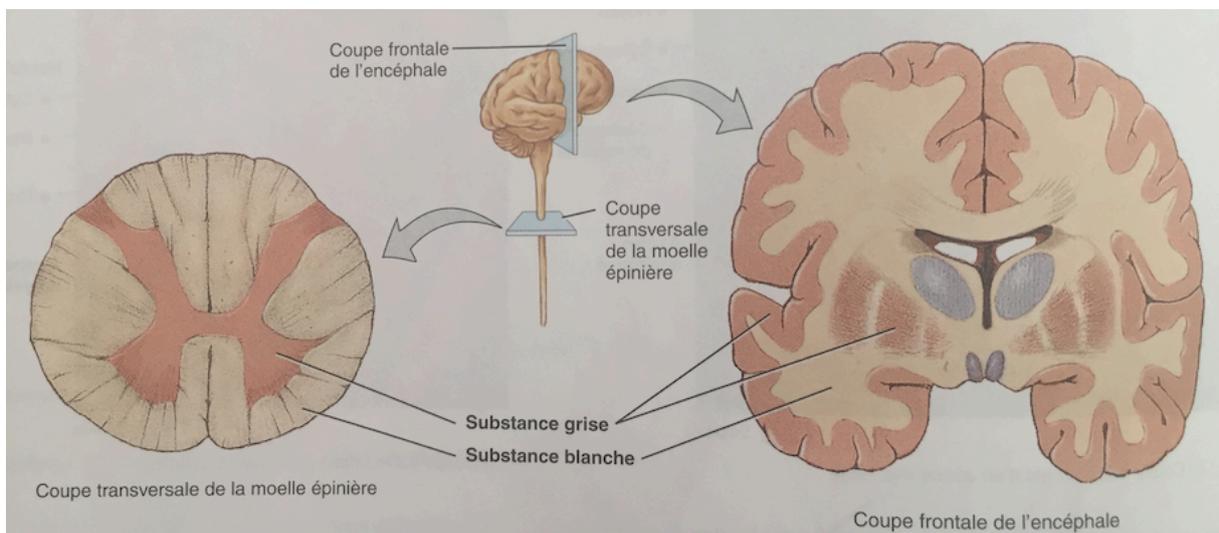
*la dure-mère*, membrane la plus épaisse et la plus externe des trois ;

*l'arachnoïde*, située à la face interne de la dure-mère ;

*et la pie-mère* qui adhère au cerveau et à la moelle spinale [16].

### 1.2. Histologie du SNC

Le Système Nerveux Central présente sur une coupe deux régions, *la substance grise* et *la substance blanche* (figure 3). La substance grise, riche en capillaires sanguins, est formée des corps des neurones et des cellules gliales, elle regroupe également toutes les synapses. La substance blanche, pauvre en capillaires sanguins, est constituée essentiellement de faisceaux d'axones myélinisés et d'oligodendrocytes, c'est le lieu de conduction de l'influx nerveux. Le cortex cérébral ou *pallium* est la couche de substance grise recouvrant toute la surface des hémisphères cérébraux, les deux tiers de cette surface sont cachés dans les sillons cérébraux .



**Figure 3:** Substances grise et blanche [15]

Le tissu nerveux comprend deux grands types cellulaires : les neurones et les cellules gliales ou gliocytes. Ces dernières soutiennent, nourrissent et protègent les neurones dans leur fonction de connexion, de transformation, et de transmission des stimuli. Contrairement aux *neurones* qui ne se divisent pas et dont le patrimoine est déterminé très tôt dans la vie d'un individu, *les cellules gliales* peuvent se multiplier dans le système nerveux de l'adulte permettant la régénération axonique.

Quatre types de gliocytes sont propres au SNC à savoir, les astrocytes, les oligodendrocytes, les épendymocytes et les microgliocytes (figure 4). Ils sont regroupés sous l'appellation « gliocytes centraux ». A l'opposé, les gliocytes périphériques, spécifiques au système nerveux périphérique, regroupent les gliocytes ganglionnaires, les neurolemmocytes (ou cellules de schwann) et les gliocytes terminaux [16, 17].

**Les astrocytes**, en forme d'étoile, jouent divers rôles essentiels pour la fonction homéostatique du SNC, notamment la formation de la barrière hémato-encéphalique, le maintien des niveaux de neurotransmetteur, la formation de synapses et le soutien métabolique des neurones.

**Les oligodendrocytes** forment et maintiennent la gaine de myéline qui entoure les axones du SNC.

**Les épendymocytes**, tapissant les ventricules cérébraux et le canal central de la moelle spinale, elles forment le liquide cébrospinal et constituent une barrière entre le sang et le liquide cébrospinal.

Enfin **les microglies** font office de phagocytes [15, 18].

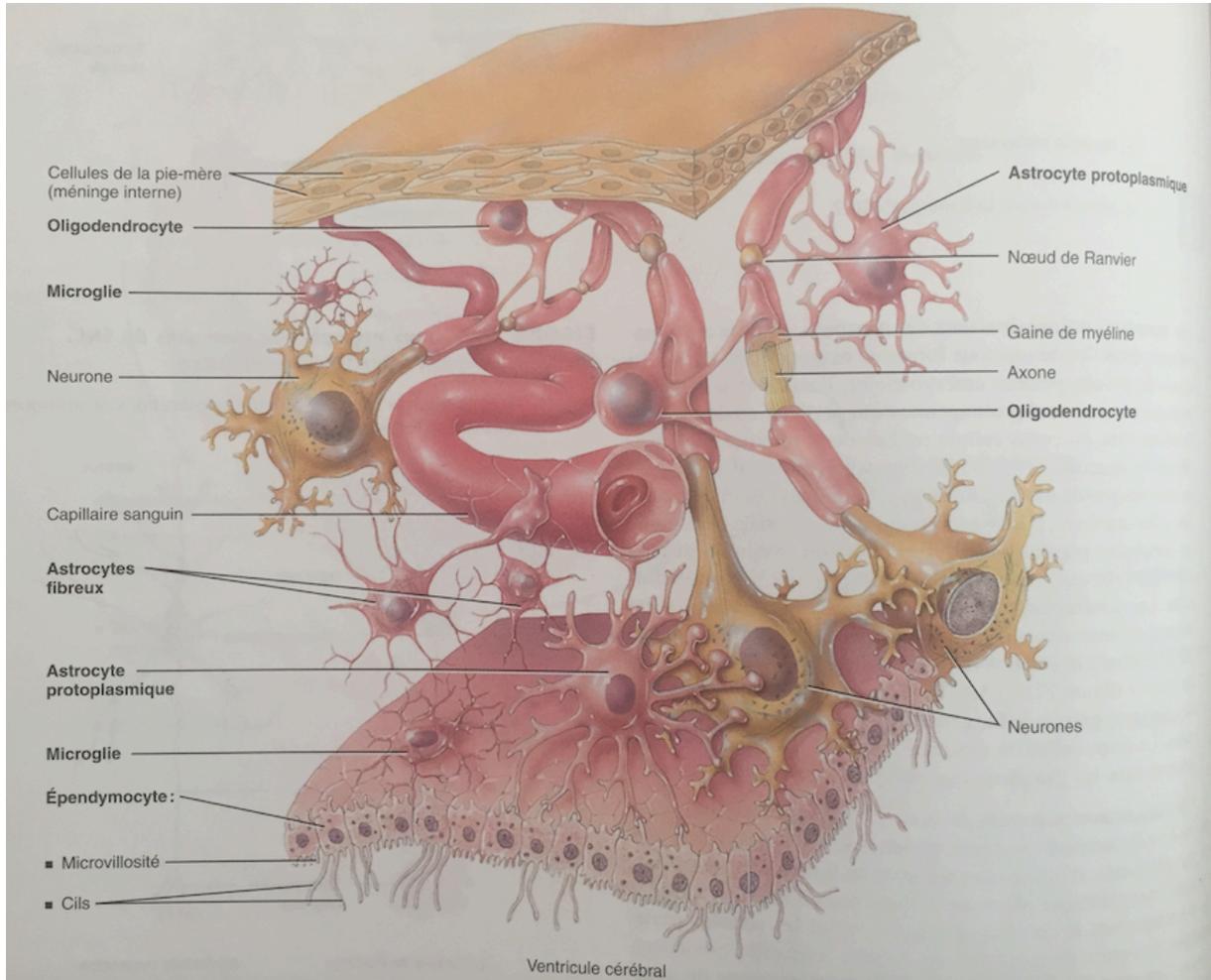


Figure 4 : Gliocytes centraux [15]

## 2. Genèse des tumeurs gliales

Les tumeurs gliales, comme leur nom l'indique, sont des néoplasies ayant pour origine les cellules gliales. Elles se divisent en trois grandes catégories : astrocytome, oligodendrogliome et épendymome, selon les noms respectifs des sous-types de glies. Les microglies ne forment pas de tumeurs, elles font partie du système immunitaire « monocyte-macrophage ».

La compréhension de la tumorigenèse gliale nécessite le passage par la cellule initiatrice ainsi que par les altérations moléculaires et les voies de signalisation impliquées.

### 2.1. Cellule d'origine

Les recherches sur les cellules pouvant subir une mutagenèse pour initier un cancer indiquent que les cellules souches neurales (NSC : Neural Stem Cells), les précurseurs d'oligodendrocytes et les astrocytes ont tous la capacité de proliférer, suite à l'accumulation de mutations, induisant une tumorigenèse. De même, le profilage monocellulaire des oligodendrogliomes humains a révélé que les cellules cancéreuses sont constituées d'un mélange de cellules progénitrices de la lignée d'oligodendrocytes et d'astrocytes ainsi que de progéniteurs de type souche non différenciés qui sont très proliférantes et sont responsables de la croissance de la tumeur [19].

Ainsi, la formation de la tumeur semble nécessiter des programmes de développement spécifiques à la lignée pour produire la gamme variée de cellules nécessaires à l'exécution des propriétés clés du cancer [18].

Les études antérieures ont révélé que la Cellule Souche Gliale (CSG) se situe au sommet de la hiérarchie tumorale et qu'elle est responsable de la génération de cellules de gliome qui peuplent la tumeur globale. La manière dont elle produit la vaste constitution cellulaire associée au gliome reste donc mal définie. Il est possible que les mutations génétiques, associées à des pressions sélectives, produisent une population de CSG qui a coopté les identités de cellules souches neuronales et gliales. Alternativement, il est possible que la population globale des CSG se compose de plusieurs sous-populations ayant des propriétés distinctes de type glial et NSC [18].

Récemment, il a été démontré que les cellules souches neurales de la zone sub-ventriculaire sont les cellules d'origine qui contiennent les mutations initiatrices du glioblastome. Elles migreraient de la zone sub-ventriculaire pour conduire au développement des tumeurs dans des régions cérébrales éloignées [20]. Le foyer anatomique ainsi que les cellules initiatrices des autres types de gliomes restent encore mal connus.

## 2.2. Altérations moléculaires impliquées

Au niveau moléculaire, la tumorigenèse gliale est engendrée par la dérégulation des principaux mécanismes associées à la neurogenèse normale du fait de l'accumulation d'altérations génétiques et épigénétiques [19]. En effet, certains événements oncogéniques sont partagés entre plusieurs types de ce groupe hétérogène de tumeurs. Par ailleurs, des lésions génétiques distinctes associées à des types spécifiques indiquent des différences intrinsèques dans la façon dont les cellules de différentes lignées répondent aux agressions oncogènes [21]. Ainsi, la gliomagenèse implique différentes voies de signalisation et une panoplie de gènes qui peuvent différer d'un type histologique à l'autre.

### 2.2.1. Profil mutationnel

Les mutations des gènes *IDH* (isocitrate déshydrogénase) sont considérées comme point de départ pour la gliomagenèse et se rencontrent à la fois dans les tumeurs astrocytaires et oligodendrogiales. L'*IDH1*, enzyme cytosolique, et son homologue *IDH2* présente dans les mitochondries, catalysent la conversion de l'isocitrate en  $\alpha$ -cétoglutarate ( $\alpha$ -KG) qui est ensuite utilisée à plusieurs fins métaboliques.

La version mutante de l'*IDH* présente une affinité préférentielle pour l' $\alpha$ -KG au lieu de l'isocitrate, conduisant ainsi à la production et à l'accumulation de l'oncométabolite 2-hydroxyglutarate (2HG). Ce dernier favorise la mutagenèse et le développement de gliomes par plusieurs mécanismes, entre autres, en provoquant une méthylation aberrante de l'ADN et des histones, aboutissant finalement à une hyperméthylation généralisée des îlots CpG, un phénomène appelé «phénotype du gliome méthylateur d'îlot-CpG» (G-CIMP), qui est associée à l'inhibition de l'expression des gènes et à la dédifférenciation des cellules. Le phénotype d'hyperméthylateur induit par le 2-HG entraîne également des altérations de l'interaction du système immunitaire avec la tumeur [18, 22–25].

Les mutations *TP53* (protéine tumorale 53) et *ATRX* (thalassémie alpha/syndrome de retard mental lié à l'X) caractérisent les astrocytomes infiltrants et les glioblastomes (GBM) secondaires, alors que les oligodendrogliomes démontrent une codeletion 1p/19q et des mutations dans les gènes *CIC* (capicua transcriptional repressor), *FUBP1* (Far UpStream Element Binding Protein 1) et le promoteur du *TERT* (transcriptase inverse de la télomérase). Les GBM primaires sont généralement dépourvus de mutations *IDH* et sont plutôt caractérisés par les altérations dans l'*EGFR* (récepteur du facteur de croissance épidermique), le *PTEN* (phosphatase and tensin homolog), le *TP53*, le *PDGFRA* (platelet derived growth factor receptor alpha), le *NF1* (neurofibromin 1), le *CDKN2A/B* (cyclin dependent kinase inhibitor 2A/2B) et les mutations du promoteur *TERT* [26]. Les épendymomes, quant-à-eux, se distinguent par les altérations moléculaires qui diffèrent en fonction de la localisation de la tumeur.

#### a. Astrocytomes

Les tumeurs astrocytaires sont caractérisées par les mutations inactivatrices de *TP53* et d'*ATRX*. Le gène *TP53*, situé en 17p13.1, est un suppresseur de tumeur dont la protéine est un acteur central dans la préservation de l'intégrité du génome et la prévention des altérations oncogènes. Elle répond à divers stress cellulaires en induisant l'arrêt du cycle cellulaire, l'apoptose, la sénescence, la réparation de l'ADN ou des modifications métaboliques. Les mutations de *TP53* se retrouvent dans les astrocytomes de plusieurs grades et peuvent permettre aux astrocytomes précoces d'éviter l'apoptose [19, 23]. Le gène *ATRX*, situé en Xq21.1, s'est révélé impliqué dans un large éventail de fonctions cellulaires, telles que la recombinaison de l'ADN, la réparation et la régulation de la transcription. Des mutations fonctionnelles de ce gène ont été associées à des amas et des défauts de chromatides sœurs, à une méthylation anormale de l'ADN et au maintien de télomères par le mécanisme d'allongement alternatif (ALT). Il a également été observé que l'inactivation d'*ATRX* contribuait au phénotype invasif et migrateur des cellules de gliome [22, 23].

*b. Oligodendrogliomes*

L'événement génétique caractéristique et précoce des tumeurs oligodendrogliales est la codélétion 1p/19q correspondant à une translocation réciproque déséquilibrée  $t(1;19)(q10;p10)$  avec la perte du chromosome dérivé  $t(1;19)(p10;q10)$  [27, 28]. Observée dans 50-70% des tumeurs oligodendrogliales, la perte d'hétérozygotie (LOH) des bras chromosomiques 1p et 19q permet d'identifier un nouveau groupe d'oligodendrogliomes non délété pour 1p/19q [29]. Ces régions chromosomiques contiennent de nombreux gènes impliqués dans la tumorigénèse et dans la différenciation des oligodendrocytes.

Les gènes *CIC* et *FUBP1* se trouvent sur les segments chromosomiques 1p31.1 (*FUBP1*) et 19q13.2 (*CIC*), de sorte que des mutations inactivatrices supplémentaires dans le contexte de la codélétion 1p/19q entraînent la perte complète de ces protéines. On a récemment découvert que la perte de *CIC*, un répresseur transcriptionnel en aval des voies des récepteurs tyrosine kinase (RTK) méditant des signaux extracellulaires de la régulation des gènes, favorisent la prolifération et bloquent la différenciation des progéniteurs neuraux, fournissant ainsi un mécanisme pour l'initiation et la croissance de l'oligodendrogliome. De plus, une étude récente a révélé que le *CIC* agit avec l'*IDH1* pour réguler les niveaux de citrate dans le cytoplasme et que ses mutations favorisent l'accumulation de 2-HG et réduisent la clonogénicité dans le cadre des mutations *IDH1*. D'autre part, il a été suggéré que le gène *FUBP1* impliqué dans la régulation de la transcription, agit comme un proto-oncogène ou un gène suppresseur de tumeur selon le type de tumeur. Il semble favoriser la migration cellulaire et protéger les cellules contre l'apoptose. En physiologie normale, *FUBP1* favorise la différenciation neurale des cellules progénitrices [18, 22, 23].

Concernant les mutations du promoteur *TERT*, elles entraînent une surexpression du gène fournissant un mécanisme par lequel les tumeurs peuvent maintenir la longueur des télomères et éviter la sénescence répllicative [22].

*c. Ependymomes*

La particularité des épendymomes consiste en leur biologie qui est davantage associée au site d'origine plutôt que d'être spécifique à l'âge. Ces tumeurs peuvent se présenter au niveau de trois endroits distincts: le cerveau supra-tentorial comprenant les hémisphères cérébraux, la région de la fosse cérébrale postérieure englobant le tronc cérébral et le cervelet, et la moelle épinière [30, 31].

Les épendymomes supratentoriels expriment des taux élevés des gènes des voies de signalisation EphB-Ephrin et Notch, ainsi que de gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire. Plus des deux tiers de ces tumeurs contiennent des fusions oncogènes entre *RELA* (le principal effecteur de la signalisation du facteur nucléaire canonique  $\kappa$ B [NF- $\kappa$ B]) et *C11ORF95* (Chromosome 11 Open Reading Frame 95 /gène codant une protéine non caractérisée). Les épendymomes porteurs de la fusion *C11ORF95-RELA* sont caractérisés par une accumulation nucléaire de p65RELA (NFkB), indiquant une activation pathologique de la voie de signalisation du NFkB. Un autre gène de fusion *YAPI* (Yes associated protein 1) a également été identifié dans les épendymomes supratentoriels. Les deux fusions sont mutuellement exclusives et les deux protéines sont oncogènes [23, 30, 32].

Les tumeurs des fosses postérieures expriment de nombreux inhibiteurs de différenciation (*ID1/2/4*) et la famille de gènes de l'aquaporine (*AQP1/3/4*), tandis que les épendymomes de la moelle épinière sont caractérisés par l'expression de divers gènes de l'homéobox (*HOX*), du facteur de croissance insulinique (*IGF1*) ainsi que par des mutations ou délétions du gène de la Neurofibromine 2 (*NF2*) [30, 31, 33, 34].

*d. Progression au gliome de haut grade*

Les gliomes *IDH* mutants progressent inévitablement vers des tumeurs de haut grade. La délétion la plus commune associée à la progression est celle du suppresseur de tumeur *CDKN2A*, tandis que l'amplification la plus courante est celle du proto-oncogène *MYC*. De plus, la majorité des tumeurs surexpriment *EZH2* (Enhancer of Zeste Homolog 2) au cours de la progression. *EZH2* est la sous-unité catalytique du complexe répressif polycomb 2 (PRC2), elle catalyse la tri-méthylation de la lysine 27 sur l'histone H3. Cette modification de l'histone est associée à la répression de la transcription [22, 23]. Dans ce même contexte, il a été décrit que

la progression s'accompagne souvent d'une diminution de la méthylation globale avec l'hyperméthylation d'un petit sous-ensemble d'îlots CpG. Ces derniers, associés à des régulateurs du développement, peuvent engendrer le «verrouillage» des cellules dans un état d'auto-renouvellement permanent [21].

La progression des épendymomes diffère de celle des autres tumeurs gliales. Elle implique l'activation de la signalisation Wnt qui est indiquée par la surexpression du ligand Wnt, des récepteurs *Frizzled* et des gènes *Disheveled* [31].

#### e. Glioblastomes

Ces tumeurs sont les plus fréquentes et les plus agressives des gliomes. Elles peuvent être classées en GBM primaire et secondaire sur la base du statut mutationnel des gènes *IDH*. Leur développement implique plusieurs voies de signalisation dont trois principales : la voie TP53, les voies de la famille des récepteurs tyrosine kinase (RTK), et la voie du rétinoblastome (RB) [19, 23, 35].

La voie TP53 est perturbée dans le GBM en raison de la mutation et/ou de l'amplification de *TP53*, de la surexpression de *MDM2* et/ou de la perte d'expression de *CDKN2A-p14<sup>ARF</sup>*. Toutes ces altérations bloquent l'activité de la protéine p53 et peuvent conduire à une prolifération cellulaire incontrôlée et à la formation de tumeurs. Au moins une altération de la voie TP53/MDM2/CDKN2A-p14<sup>ARF</sup> a été signalée dans environ 50% des glioblastomes primaires et dans plus de 70% des glioblastomes secondaires [36].

Dans les voies de la famille RTK, la surexpression des récepteurs EGFR et PDGFR favorise la croissance cellulaire et le blocage de l'apoptose via l'activation de RAS et PI3K, entre autres, tandis que les suppresseurs de tumeurs *PTEN* et *NF1* sont les régulateurs négatifs de l'activité PI3K et RAS, respectivement. Une activité accrue de la voie RAS est observée dans pratiquement tous les GBM induisant la progression et la maintenance des tumeurs, quant aux altérations de la voie PI3K, elles ont été identifiées chez plus de 80% des patients GBM [36, 37].

La voie RB joue un rôle central dans la régulation du cycle cellulaire et la prolifération via la régulation du point de contrôle G1/S. Les altérations de cette voie comprennent la délétion homozygote et la mutation des gènes *CDKN2A-p16<sup>INK4a</sup>* et *RB*, la délétion homozygote de *CDKN2B-p15<sup>INK4b</sup>* et *CDKN2C-p18<sup>INK4c</sup>* et, dans de rares cas, l'amplification des gènes *CDK4*, *CDK6* et *CCND2* (cycline D2). La dérégulation de cette voie est décrite dans plus de 70% des GBM [36, 37].

### 2.2.2 Régulation épigénétique

Les gliomes présentent une variété d'altérations épigénétiques, tels que la méthylation de l'ADN, les modifications des histones, le remodelage de la chromatine ou l'expression altérée des ARN non codants, qui sont actuellement reconnus comme des événements pertinents dans la formation de tumeurs, en plus des altérations génétiques classiques. Jusqu'à présent, la plupart des études sur les changements épigénétiques des gliomes se sont concentrées sur la méthylation de l'ADN, y compris l'hyperméthylation des îlots CpG (associée à l'inhibition des gènes suppresseurs de tumeurs), l'hypométhylation spécifique au gène (entraînant une activation aberrante des oncogènes) et l'hypométhylation à l'échelle du génome (entraînant potentiellement une instabilité chromosomique, une perte d'empreinte et une prolifération cellulaire incontrôlée) [36].

Sur le plan clinique, l'un des marqueurs épigénétiques les plus importants est la méthylation du promoteur de *MGMT* (O6-méthylguanine-DNA methyltransferase), une enzyme de réparation de l'ADN capable d'abolir les lésions induites dans l'ADN par les agents de chimiothérapie cytotoxique alkylants tel que le témozolomide [23]. D'autre part, la dérégulation du profil d'expression des longs ARN non codants et des micro-ARN, révèle leurs rôles considérables dans l'initiation et la progression des gliomes. Ces molécules induisent des modifications épigénétiques aberrantes dans les mécanismes de régulation des gènes. Leur contribution à la gliomagenèse se réfère à leur régulation de mécanismes cruciaux, tels que l'apoptose, la prolifération cellulaire, l'infiltration et l'angiogenèse tumorales, le renouvellement des cellules souches et la réparation d'ADN [38–40].

# *Chapitre II*

## *Aspects épidémiologique et étiologique des gliomes*

## 1. Épidémiologie

Les gliomes et les cancers en général présentent d'importantes variations à travers les régions du monde en termes d'incidence et de mortalité. Les taux les plus importants sont enregistrés dans les régions les plus développées et sont plus bas dans les pays en voie de développement. Dans une étude récente, une différence de 5 fois entre les taux d'incidence des tumeurs du SNC les plus élevés (principalement en Europe) et les plus faibles (principalement en Asie) a été observée [2, 41, 42].

L'ampleur de cette variabilité est due d'une part à la modeste couverture par les registres du cancer des populations africaine et asiatique (11% et 8% respectivement) et d'autre part au degré de développement économique, aux facteurs sociaux, au mode de vie associés, à l'insuffisance des moyens de diagnostic ou à l'inexactitude de l'attribution de la cause de mort [41].

Les cancers du cerveau et du SNC représentent 1,6% des nouveaux cancers et 2,5% des décès dus au cancer dans le monde avec 308.102 nouveaux cas et 251.329 décès en 2020 [42]. **En Algérie**, et selon Globocan 2020, ces tumeurs sont classées en 10<sup>ème</sup> position en termes d'incidence et en 7<sup>ème</sup> en termes de mortalité avec 1.777 nouveaux cas soit 3% et 1.478 décès soit 4,5% du total dû aux cancers [42].

Aux USA, de l'ensemble des tumeurs du SNC, celles du cerveau représentent 18,2%, et celles des ventricules cérébraux, cervelet et tronc cérébral comptent pour 4,7%. La vaste catégorie des gliomes représente environ un tiers de toutes les tumeurs primaires du SNC diagnostiquées dans le monde occidental et près de 80% des tumeurs malignes [43, 44].

Les résultats de plusieurs études ont montré que l'incidence globale des gliomes et des différents types histologiques est plutôt stable. Cette dernière diffère significativement en fonction du type histologique, de l'âge au moment du diagnostic, du sexe, de la race et du pays. Les données de multiples registres nationaux du cancer soulignent des différences dans l'épidémiologie des tumeurs cérébrales chez les enfants comparée à celle des adultes [3].

En outre, ces tumeurs sont plus fréquentes chez les hommes d'environ 30% par rapport aux femmes [43]. Le type histologique le plus commun à travers le monde est l'astrocytome avec une incidence globale de 2,98/100.000 habitants suivi de l'oligodendrogliome et des tumeurs mixtes. L'incidence des tumeurs gliales est la plus élevée chez les adultes de plus de 40 ans. Indépendamment de l'âge, les taux les plus élevés de celle-ci sont enregistrés en Australie [45].

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

La survie à 5 ans pour le plus fréquent des gliomes, le GBM, est de 5,5 %, elle est de plus de 70 % pour les gliomes de bas grade, et décroît avec l'âge dans les gliomes malins [3, 5, 43, 44].

## 2. Facteurs de risque

Les gliomes et les tumeurs du SNC en général se distinguent des autres néoplasies par le peu de facteurs exogènes identifiés comme facteurs de risque. L'exposition aux rayonnements ionisants, paradoxalement utilisés pour le traitement de ces tumeurs, était jusqu'à récemment le seul facteur de risque confirmé pour ces tumeurs [3, 5]. Il a été démontré que même de faibles doses de rayonnement thérapeutique augmentent le risque de tous les gliomes de trois fois. Toutefois, l'effet des expositions diagnostiques aux rayonnements (TDM ou IRM) sur le développement des tumeurs cérébrales demeure incertain [43].

Les rayonnements non ionisants tels les radiofréquences ont été déclarés en 2011, par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) de l'OMS, comme « potentiellement cancérigène pour l'homme » "Groupe 2B" [46]. Cependant, les résultats d'études publiées restent contradictoires.

Certaines ont fourni des preuves de l'association entre l'utilisation abusive du téléphone mobile (et éventuellement d'autres équipements sans fil) et le risque de développer un gliome [6, 8], les observations ont même montré que le risque accru était dans le lobe temporal et qu'il augmentait avec la latence [47]. D'autres études affirment qu'il n'y a aucune augmentation de l'incidence [48] ou diminution de la survie [49] liée à l'utilisation du téléphone portable.

Plusieurs facteurs de risque viraux potentiels pour les tumeurs cérébrales, tels la rougeole, puisque les séquelles neurologiques tardives font partie de la pathologie rougeoleuse [9] ou le cytomégalovirus qui est un agent infectieux induisant des mécanismes d'immunosuppression dans les cellules gliales, ont été identifiés [10].

Ces virus, ainsi que ceux du simien 40 et de la varicelle-zona (VZV) font l'objet de nombreuses études sans que leur association avec les gliomes ne soit validée pour le moment [43].

Une association inverse d'antécédents d'allergies et d'asthme avec les gliomes a été décrite dans de nombreuses études épidémiologiques au cours des 3 dernières décennies. Les allergies, les conditions atopiques (asthme, rhume de foin, eczéma et allergies alimentaires)

et des niveaux plus élevés d'immunoglobuline E sont associés à un risque plus faible de gliome, et l'ampleur de la réduction varie généralement de 20 à 40% du risque.

Plusieurs mécanismes potentiels pour cet effet protecteur ont été proposés, notamment ; une surveillance accrue par le système immunitaire inné, une similitude entre les anticorps et les antigènes des tumeurs cérébrales, ou une efficacité accrue de la réponse aux cancérogènes environnementaux [3, 5, 43, 50].

Jusqu'à récemment, aucune preuve claire de l'association entre les gliomes et les facteurs de risque connus (tabac, facteurs alimentaires, expositions industrielles...) pour les cancers n'a été établie [51]. A présent, des études à grande échelle commencent à faire ressortir des évidences du lien entre tumeurs gliales et certains facteurs comme la cigarette, l'alcool, la taille et l'obésité infantile extrême [52–54].

A côté de tous les facteurs précités, il existe des syndromes génétiques héréditaires rares prédisposant au gliome, notamment la neurofibromatose de type 1 et 2, la sclérose tubéreuse, le syndrome de Li-Fraumeni et le syndrome de Turcot. Ces syndromes pris ensemble ne représentent que 1% de tous les cas de gliome adulte, même si chez les enfants, ils sont légèrement plus fréquents. La plupart des cas de gliomes ne peuvent donc, être expliqués par des causes endogènes ou exogènes [3, 5, 55].

### 3. Prédisposition génétique

Les syndromes génétiques rares ainsi que les formes familiales, représentant réunis environ 5% de toutes les atteintes, fournissent des preuves de la susceptibilité génétique aux tumeurs cérébrales primitives et un point de départ important pour l'identification de gènes candidats et de voies de la gliomagenèse [3, 55].

Les larges études basées sur l'ADN constitutionnel de patients atteints de gliome ont d'abord été pour la plupart des « études de gènes candidats » qui ont souvent examiné les gènes impliqués dans une voie biologique d'intérêt, principalement la réparation de l'ADN, le cycle cellulaire, l'inflammation (allergies et infections) et le métabolisme.

Ensuite, est apparu le concept de « GWAS » ; ce sont des études à l'approche « hypothèse libre » ayant la capacité d'identifier les principaux variants de gènes non étudiés auparavant [50, 56, 57].

*1. Les études de gènes candidats* ont impliqué au moins 44 gènes différents dans la gliomagenèse. Cependant, des gènes de risque robustement répliqués n'ont pas émergé de ces études [57, 58].

Dans la revue de Gu et al., huit gènes de susceptibilité ont été identifiés comme associés avec le gliome dans au moins deux populations d'études cas-témoins. Ces gènes sont les gènes de réparation de l'ADN : *PRKDC* (protein kinase, DNA-activated, catalytic polypeptide, également connu sous le nom de *XRCC7*), *XRCC1* (X-ray repair cross complementing 1), *PARP1* (poly ADP-ribose polymerase 1), *MGMT*, *ERCC1* (excision repair cross-complementing 1), et *ERCC2* (excision repair cross-complementing 2); du cycle cellulaire *EGF* (epidermal growth factor); et de l'inflammation *IL-13* (interleukin 13) [4].

Ces études ont identifié les variations des gènes de la voie de réparation de l'ADN comme la base la plus prometteuse de prédisposition héréditaire aux gliomes, ceci est en partie la conséquence du fait que de tels gènes ont été le principal sujet de l'évaluation [58].

2. **Les GWAS** ont transformé notre compréhension de l'héritabilité du gliome. Il a été observé que les individus ayant huit allèles à risque ou plus présentaient une augmentation du risque de gliome d'environ quatre fois comparé à ceux ayant un nombre médian d'allèles à risque. Ceci indique que la prédisposition au gliome est une conséquence du co-héritage de plusieurs variantes à faible risque [59].

Les formes familiales de gliomes en sont la confirmation par le fait qu'à l'instar de tous les cancers familiaux, elles ne montrent aucun modèle héréditaire mendélien, suggérant ainsi, l'absence d'allèles à risque avec des effets individuels forts [60].

Les deux premières GWAS publiées en 2009 ont identifié 5 loci à risque : 5p15.33 (*TERT*), 8q24.21 (*CCDC26*), 9p21.3 (*CDKN2A-CDKN2B*), 20q13.33 (*RTEL1*), et 11q23.3 (*PHLDB1*) [59, 61]. Puis ces études se sont enchaînées jusqu'à celle publiée en 2017 qui a amené le nombre de loci à 25 et a confirmé que la susceptibilité aux tumeurs GBM et non-GBM est très distincte [14]. Le tableau 2 montre les différents loci, les SNPs (Single Nucleotide polymorphisms) les plus importants ainsi que les GWAS les ayant identifiées (certains loci contiennent plus d'un SNP).

Ces GWAS ont été menées sur des populations européennes et américaines, et tous les SNPs de ces régions représentent, au mieux, entre 27% et 37% du risque familial de tumeurs gliales [14]. Une GWAS récente sur la population Han chinoise a révélé deux nouveaux SNPs ; le rs10842893 en 12p11.23 (*STK38L*) et le rs4774756 en 15q15-21.1 (*RAB27A*) non identifié précédemment [62]. Ceci indique que les différents groupes ethniques peuvent abriter des variations des loci à risque.

**Tableau 1** : Loci et SNPs identifiés par les GWAS par ordre d'identification

Locus	Gène	SNP	Type du gliome	GWAS
<b>5p15.33</b>	<i>TERT</i>	rs2736100	Tous	Shete et al., 2009
<b>8q24.21</b>	<i>CCDC26</i>	rs4295627	Tous	Shete et al., 2009
<b>9p21.3</b>	<i>CDKN2A-CDKN2B</i>	rs4977756	Tous	Shete et al., 2009
<b>9p21.3</b>	Près de <i>CDKN2B</i>	rs1412829	Haut grade	Wrensch et al., 2009
<b>20q13.33</b>	<i>RTEL1</i>	rs6010620	Tous	Shete et al., 2009, Wrensch et al., 2009
<b>11q23.3</b>	<i>PHLDB1</i>	rs498872	Tous	Shete et al., 2009
<b>7p11.2</b>	<i>EGFR</i>	rs11979158	Tous	Sanson et al., 2011
<b>7p11.3</b>	<i>EGFR</i>	rs2252586	Tous	Sanson et al., 2011
<b>17p13.1</b>	<i>TP53</i>	rs78378222	Tous	Egan et al., 2012
<b>3q26.2</b>	<i>TERC</i>	rs1920116	Haut grade	Walsh et al., 2014
<b>12q23.33</b>	<i>POLR3B</i>	rs3851634	GBM	Kinnersley et al., 2015
<b>10q25.2</b>	Près de <i>VTGIA</i>	rs11196067	Non-GBM	Kinnersley et al., 2015
<b>11q23.2</b>	<i>ZBTB16</i>	rs648044	Non-GBM	Kinnersley et al., 2015
<b>12q21.2</b>	Région inter génique	rs12230172	Non-GBM	Kinnersley et al., 2015
<b>15q24.2</b>	Près de <i>ETFA</i>	rs1801591	Non-GBM	Kinnersley et al., 2015
<b>1p31.3</b>	<i>RAVER2</i>	rs12752552	GBM	Melin et al., 2017
<b>11q14.1</b>	Région inter génique	rs11233250	GBM	Melin et al., 2017
<b>16p13.3</b>	Près de <i>MPG</i>	rs2562152	GBM	Melin et al., 2017
<b>16q12.1</b>	<i>HEATR3</i>	rs10852606	GBM	Melin et al., 2017
<b>22q13.1</b>	<i>SLC16A8</i>	rs2235573	GBM	Melin et al., 2017
<b>1q32.1</b>	<i>MDM4</i>	rs4252707	Non-GBM	Melin et al., 2017
<b>1q44</b>	<i>AKT3</i>	rs12076373	Non-GBM	Melin et al., 2017
<b>2q33.3</b>	Près de <i>IDH1</i>	rs7572263	Non-GBM	Melin et al., 2017
<b>3p14.1</b>	<i>LRIG1</i>	rs11706832	Non-GBM	Melin et al., 2017
<b>10q24.33</b>	<i>OBFC1</i>	rs11598018	Non-GBM	Melin et al., 2017
<b>11q21</b>	<i>MAML2</i>	rs7107785	Non-GBM	Melin et al., 2017
<b>14q12</b>	<i>AKAP6</i>	rs10131032	Non-GBM	Melin et al., 2017
<b>16p13.3</b>	<i>LMF1</i>	rs3751667	Non-GBM	Melin et al., 2017

Il est intéressant de noter que plusieurs de ces variants génétiques se trouvent dans ou à proximité de gènes qui se révèlent souvent acquérir des mutations somatiques dans le gliome, comme les *TP53*, *CDKN2A/B*, *EGFR* et *TERT*. Et puisque les SNPs identifiés par les GWAS ne sont généralement pas eux-mêmes candidats à la causalité, mais agissent simplement comme des marqueurs pour les variants fonctionnels, des études de cartographie fine supplémentaires ont été réalisées pour certaines régions afin de découvrir de vrais variants fonctionnels et de comprendre la relation entre les variants germinaux et les événements somatiques acquis [63, 64].

L'analyse approfondie du locus 8q24.21 a révélé que, des deux SNPs identifiés par la GWAS rs4295627 et rs891835, l'association la plus forte a été fournie par le premier, que le signal le plus fort a été montré par le rs55705857 et que l'association est spécifique aux tumeurs oligodendrogiales et aux gliomes *IDH1* ou *IDH2* mutés [63, 65].

Le locus 11q23.3 dans une population Han chinoise, confirmant l'association du gène *PHLDB1* à la prédisposition aux gliomes, a révélé que le SNP rs17749 était le plus significatif et a suggéré le gène *ARCNI* comme associé à un risque significativement réduit pour le gliome [66].

En plus des études de cartographie, les GWAS ont été complétées par plusieurs études de différents types.

La stratification des loci à risque selon le sexe a été examinée dans deux variantes des GWAS. La première a identifié une grande région au locus 3p21.31 avec une association significative chez les femmes seulement et a détecté une association significative au rs11979158 (7p11.2) chez les hommes uniquement ainsi qu'une association au rs55705857 (8q24.21) plus forte chez les femmes que chez les hommes [67].

La deuxième étude a confirmé l'association de l'*EGFR* en 7p11.2 chez les hommes et a révélé l'association du *TERT* en 5p15.33 chez les femmes. Les variations de la séquence génomique autosomique entre le sexe n'étant pas probable, des recherches antérieures ont suggéré que les variations génétiques liées au sexe peuvent se produire au niveau de la régulation et de l'expression des gènes [68].

L'association des marqueurs identifiés par les GWAS avec l'âge au moment du diagnostic et le type histologique a été investiguée par diverses équipes de recherche. Les SNPs des régions *CCDC26* (8q24) et *PHLDB1* (11q23) ont été fortement associés au risque de tumeur oligodendrogliale *IDH* mutées indépendamment du statut de la codélétion 1p/19q d'une part, et à un âge plus jeune au moment du diagnostic d'autre part.

Les SNPs de la région *RTEL* (20q13) et *TERT* (5p15.33) ont été significativement associés au GBM et à un âge plus avancé au moment du diagnostic. Les SNP dans *EGFR* (7p11.2) ont été liés au risque de gliomes chez les personnes âgées de plus de 54 ans, et avec les variations du *CDKN2A* (9p21.3), ils ont montré des associations plus fortes avec les tumeurs astrocytaires de haut grade. [57, 69–71].

L'étude de la corrélation entre les variantes du risque génétique germlinal et les sous-types moléculaires somatiques proposés par l'OMS a révélé trois catégories d'associations. Les variantes de *TERT* et *TP53* ont été associées au risque accru de tous les sous-types de gliomes, les variantes de *CDKN2A/B*, *EGFR*, *VTIIA* et *RTEL1* ont été associées aux gliomes de type *IDH* sauvage, et les variantes de *CCDC26* (8q24), *C2ORF80* (proche de *IDH*), *LRIG1*, *PHLDB1*, *ETFA*, *MAML2*, *AKT3*, *LRIG1* et *ZBTB16* ont été associées aux gliomes *IDH* mutants [72, 73].

Récemment, une nouvelle variante des GWAS, appelée « étude d'association à l'échelle du transcriptome (TWAS) », a examiné l'association de l'expression génétique avec le risque de la maladie, et a permis l'identification de 31 gènes à 13 loci associés à la susceptibilité au gliome. Tous les gènes décrits, sauf un, se trouvaient à moins de 1Mb des SNP à risque de gliome signalés précédemment.

L'exception était « *GALNT6* » au locus 12q13.13, situé à au moins 55Mb de toute variante de gliome précédemment identifiée par les GWAS, ce qui lui permet de représenter un nouveau locus de risque potentiel. Le SNP en question est le rs3782473 et il était significativement associée au GBM. Pour les autres loci, les résultats TWAS soutiennent l'implication d'un certain nombre de gènes précédemment impliqués.

Ceux-ci incluent des associations de gènes uniques aux loci 1p31.3 (*JAK1*), 7p11.2 (*EGFR*), 9p21.3 (*CDKN2B*) et 16q12.1 (*HEATR3*), ainsi que de nouveaux gènes dans des loci connus, notamment 5p15.33 (*TERT* et *NKD2*), 11q23.3 (*PHLBD1*, *TREH*, *RPL5P30*, *TMEM25*) et 20q13.33 (*ZGPAT*, *SLC2A4RG*, *ARFRP1*, *STMN3*, *GMEB2*, *LIME1*, *HARIA*, *OPRL1*, *PFMTD2*, *DIDO1*, *TCEA2*) [74].

Les GWAS et leur variantes ont donc impliqué le cycle cellulaire et les gènes liés à la télomérase comme facteurs de risque important. Ainsi, le développement et la progression de gliomes sont probablement dues à un processus en plusieurs étapes qui implique l'inactivation fonctionnelle de gènes suppresseurs de tumeurs (c à d., *CDKN2A* et *CDKN2B*) et les gènes de réparation de l'ADN (c à d., *PARP1*, *ERCC2* et *PRKDC*) ainsi que l'activation d'oncogènes et proto-oncogènes (c à d., *EGF* et *ERBB2*) [58].

# *Chapitre III*

## *Diagnostic et traitement des gliomes*

## 1. Classification

La classification reconnue pour les gliomes et les tumeurs du SNC en général, est celle de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Les premières éditions, jusqu'à celle de 2007, proposaient une classification selon le phénotype des cellules tumorales (astrocytaires, oligodendrogiales, épendymaire) et le grade de malignité (grades I à IV). Par la suite, des événements moléculaires ont été intégrés dans la version de 2016 ajoutant ainsi un niveau d'objectivité qui manquait au processus de diagnostic basé entièrement sur la microscopie [75, 76].

Du point de vue histologique, les tumeurs gliales sont définies comme étant circonscrites ou diffuses. Les gliomes circonscrits, toujours bénins (grade I de l'OMS) dont le plus fréquent est l'astrocytome pilocytique, sont en principe potentiellement curables par résection chirurgicale. En revanche, les gliomes diffus sont par définition incurables par la chirurgie en raison de leur nature infiltrante, et sont plus fréquents, en particulier chez les adultes. Ils sont classés par grade de malignité dans une gamme de grades II, III et IV de l'OMS et présentent un large éventail de comportements cliniques, allant d'une progression clinique lente dans les tumeurs de bas grade à de très courts temps de survie pour les patients des tumeurs de grade IV (GBM) [77]. Le grade de malignité est déterminé en fonction de caractéristiques pathologiques spécifiques, y compris l'atypie nucléaire, l'activité mitotique, la prolifération vasculaire, la nécrose et le potentiel de prolifération [78].

Le tableau 2 montre les différents types histologiques des tumeurs gliales avec leur grade de malignité selon l'OMS 2007.

**Tableau 2 :** Une partie du grading OMS 2007 des tumeurs du SNC [79]

	I	II	III	IV
<b>Astrocytic tumours</b>				
Subependymal giant cell astrocytoma	•			
Pilocytic astrocytoma	•			
Pilomyxoid astrocytoma		•		
Diffuse astrocytoma		•		
Pleomorphic xanthoastrocytoma		•		
Anaplastic astrocytoma			•	
Glioblastoma				•
Giant cell glioblastoma				•
Gliosarcoma				•
<b>Oligodendroglial tumours</b>				
Oligodendroglioma		•		
Anaplastic oligodendroglioma			•	
<b>Oligoastrocytic tumours</b>				
Oligoastrocytoma		•		
Anaplastic oligoastrocytoma			•	
<b>Ependymal tumours</b>				
Subependymoma	•			
Myxopapillary ependymoma	•			
Ependymoma		•		
Anaplastic ependymoma			•	

L'application de la pathologie moléculaire au diagnostic et à la classification a transformé la gestion des gliomes malins. Dans la classification OMS 2007, toutes les tumeurs avec un phénotype astrocytaire étaient séparées de celles avec un phénotype oligodendroglial, peu importe si les différentes tumeurs astrocytaires sont cliniquement similaires ou différentes. De même, les gliomes diffus pédiatriques étaient groupés avec leurs homologues adultes avec une apparence histologique similaire malgré les différences connues dans leur comportement [76].

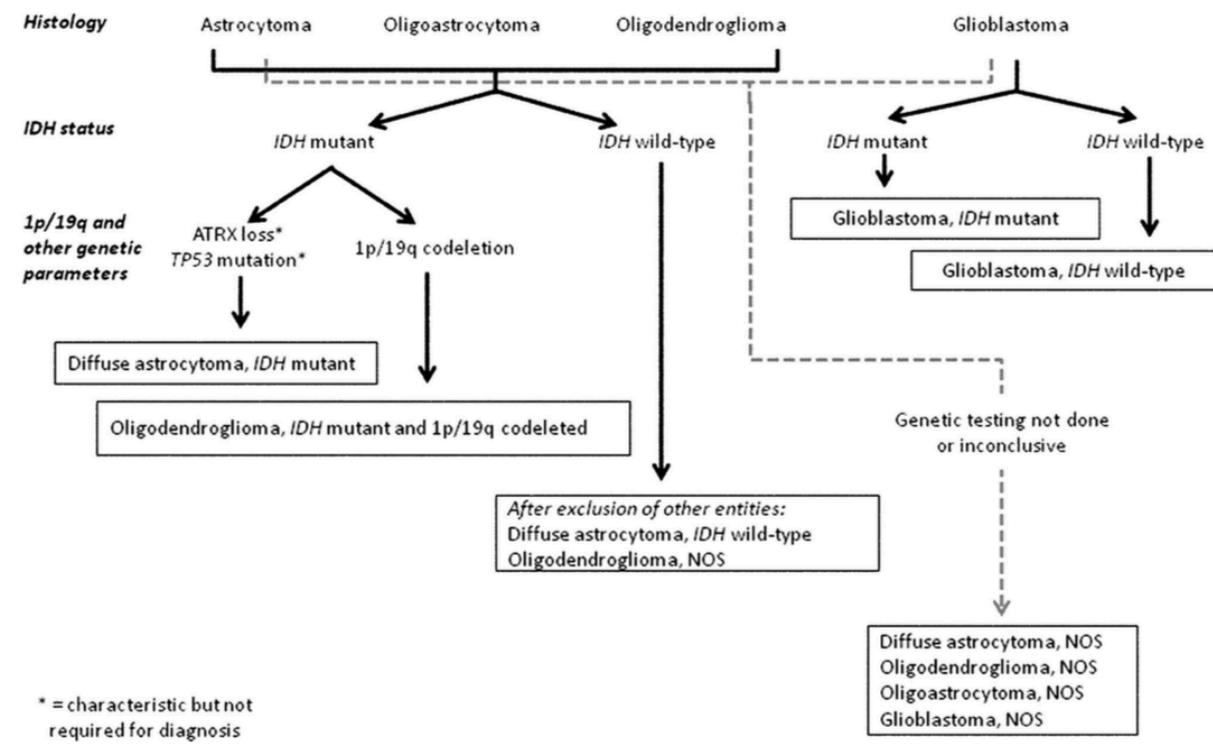
A présent, il est reconnu que les patients avec des tumeurs oligodendrogiales 1p/19q délétés ont un pronostic de survie meilleur que ceux avec des tumeurs de grade équivalent et d'aspect histologique similaire qui ne présentent pas les délétions. Il a également été prouvé que cette codélétion était un marqueur prédictif essentiel de la réponse à la chimiothérapie et qu'elle améliorait la survie après la chimio-radiothérapie, par rapport à la radiothérapie seule [80].

Les mutations de l'*IDH1* et *IDH2*, sont un autre type d'altérations génétiques qui ont eu un impact sur la classification tumorale. Ces mutations sont trouvées exclusivement dans les astrocytomes et les oligodendrogliomes infiltrants mais pas dans les épendymomes ou les astrocytomes circonscrits et sont considérés comme de forts marqueurs pronostics [81].

Sur la base des deux biomarqueurs précités (codélétion 1p/19q et mutations *IDH1* et *IDH2*), trois principales catégories de gliomes diffus ont été définies dans la classification OMS 2016 ;

- Tumeurs astrocytaires diffuses (astrocytome / astrocytome anaplasique / glioblastome), de type *IDH* sauvage
- Tumeurs astrocytaires diffuses (astrocytome / astrocytome anaplasique / glioblastome), *IDH* muté
- Tumeurs oligodendrogiales (oligodendrogliomes / oligodendrogliome anaplasique), *IDH* muté et 1p/19q codélété [82].

La figure 5 représente un exemple de la classification basée sur l'histologie ainsi que les caractéristiques génétiques.



**Figure 5:** Algorithme simplifié pour la classification des gliomes diffus (OMS 2016) [76]

Le statut NOS (Not Otherwise Specified) a été introduit dans la classification OMS 2016 pour définir les entités avec plus de précision. Il ne définit pas une entité spécifique mais désigne un groupe de lésions ne pouvant être classées dans aucun des groupes définis. Le NOS est appliqué quand (i) les tests génétiques ne sont pas disponibles, (ii) les tests génétiques ne montrent pas les altérations génétiques diagnostics qui sont compatibles avec le grading histologique ou (iii) quand il y a une incertitude sur l'architecture tumorale ou les caractéristiques cytologiques due à l'insuffisance de l'échantillon tissulaire ou la présence de tissu artefact [76, 81].

D'un autre côté, différentes équipes de recherche se sont intéressées à compléter la classification OMS par l'identification de profils moléculaires basés sur la méthylation de l'ADN [83], par l'analyse de l'expression de certains gènes [84], ou par l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) qui, corrélée aux données de survie, a montré que les images avec évidence de nécrose peuvent identifier un nombre significatif de patients sous gradés par l'histologie [85]. D'autres équipes ont renforcé la redéfinition des sous-groupes de gliomes

diffus en incorporant des biomarqueurs supplémentaires sous forme d'altérations génétiques telles que des mutations activatrices du promoteur *TERT* et des mutations et pertes d'*ATRX* et de *TP53* [86].

La grande majorité des gliomes diffus chez les adultes appartiennent à l'une des trois catégories distinctes qui prédisent de manière plus reproductible les résultats cliniques et orientent le traitement en créant des sous-ensembles plus homogènes. Ces catégories consistent en :

1) *les glioblastomes moléculaires*, caractérisées par la mutation du promoteur *TERT*, la délétion du chromosome 10 concomitante avec le gain du chromosome 7 et l'amplification de l'*EGFR*. Ces tumeurs se distinguent par l'absence de mutations *IDH1/2*;

2) *les astrocytomes moléculaires*, marqués par des mutations dans *IDH1/2*, *TP53* et *ATRX*, et par l'absence de mutation du promoteur *TERT* ou de codélétion 1p19q ; et

3) *les oligodendrogliomes moléculaires*, distingués par une codélétion 1p/19q, des mutations dans le promoteur *TERT* et dans les gènes *IDH*, *CIC* et *FUBP1*, avec une absence de mutations dans *TP53* ou *ATRX* [86].

Les GBM, tumeurs les plus agressives et les plus fréquentes, ont par ailleurs bénéficié de deux principales classifications moléculaires. La première distingue les GBM primaires ou *de novo* des GBM secondaires, traditionnellement caractérisés par l'absence ou la présence de précurseur clinique connu. Les GBM primaires sont marqués par trois altérations génétiques prédominantes : amplification et/ou taux élevé de mutations *EGFR*, suppression homozygote du gène *CDKN2A-p16<sup>INK4a</sup>* (avec absence des transcrits *CDKN2A-p16<sup>INK4a</sup>* et/ou *CDKN2A-p14<sup>ARFb</sup>*), et délétion du gène *PTEN* typiquement en association avec la monosomie 10, ainsi que des altérations moins fréquentes comme les mutations du promoteur *TERT* et l'amplification de l'oncogène *MDM2*.

Les GBM secondaires sont caractérisés par des mutations de l'*IDH1* et l'*IDH2*, du *TP53* et de l'*ATRX* avec la perte d'hétérozygotie partielle du chromosome 10q et la délétion du *RBI* (Rétinoblastome) comme événements fréquent [36, 38, 87].

La deuxième classification basée sur des profils d'expression génique dans les tissus tumoraux, divise les GBM en quatre sous-types moléculaires distincts: proneural, classique, mésenchymateux et neural.

Le sous-type *proneural* présente des signatures de gènes de cellules progénitrices d'oligodendrocytes, une amplification de *PDGFRA*, des mutations de *TP53* et/ou des gènes *IDH*.

Le sous-type *classique* est caractérisé par une signature astrocytaire, une activation ou une amplification du gène *EGFR* et/ou une perte du locus *CDKN2A*.

Le sous-type *mésenchymateux* est marqué par des signatures réactives des astrocytes (CD44 +) et des microglies, une suppression de *NF1* et une élévation de la signalisation de TNF- $\alpha$  et de NF- $\kappa$ B [19].

Les modèles d'expression du sous-type *neural* sont reconnaissables comme étant les plus similaires aux échantillons provenant de tissus cérébraux normaux, et leur signature suggère une cellule avec un phénotype différencié.

L'utilité clinique de la stratification des patients en fonction de ces signatures d'expression est cependant limitée, car ils peuvent être hétérogènes au sein d'une tumeur donnée et peuvent changer en réponse à des stimuli externes, notamment lorsque la signature de l'expression mésenchymateuse a été liée à la radiorésistance et à un mauvais pronostic et la signature proneurale associée à un bénéfice du traitement anti-angiogénique chez les patients atteints de GBM de type *IDH* sauvage [24].

## 2. Clinique des gliomes

### 2.1 Symptomatologie

La présentation clinique des gliomes varie en fonction du comportement de la tumeur. Les lésions de bas grade, le plus fréquemment rencontrés chez les jeunes enfants, présentent souvent une apparition insidieuse sur une période de plusieurs mois ou des crises épileptiques, tandis que les gliomes de haut grade, ayant tendance à se manifester de plus en plus fréquemment avec l'âge, présentent généralement des symptômes évoluant plus rapidement [88].

Les crises d'épilepsie sont le symptôme présenté dans environ 30% des gliomes malins, et plus encore dans les lésions de bas grade. La croissance tumorale progressive et l'infiltration du parenchyme adjacent entraînent des modifications neurocognitives sous forme d'une altération de l'état mental et de déficits neurologiques focaux rares ou même une pression intracrânienne élevée [88, 89].

Les gliomes malins produisent des signes qui varient en fonction de l'emplacement de la tumeur. Les tumeurs situées dans ou qui sont sous-jacentes à des régions corticales se manifestent par des symptômes se rapportent aux fonctions des régions cérébrales touchées. Les patients peuvent présenter des troubles moteurs ou sensoriels progressifs, un dysfonctionnement du langage, des anomalies du champ visuel ou des crises focales.

Les tumeurs apparaissant dans le tronc cérébral peuvent provoquer des neuropathies crâniennes à progression rapide, ainsi que des déficits moteurs et sensoriels. Les déficits neurologiques moins localisés peuvent inclure céphalées, confusion, perte de mémoire ou/et changements de personnalité. À mesure que la taille de la tumeur augmente, l'œdème entourant la tumeur augmente, entraînant une augmentation de la pression intracrânienne et des maux de tête avec vomissements [80].

### *2.2 Neuro-imagerie*

Devant les signes cliniques, la neuro-imagerie joue un rôle crucial dans le diagnostic et l'évaluation de la localisation, de l'étendue et de l'activité biologique de la tumeur avant, pendant et après le traitement. Son rôle dans les tumeurs de bas grade réside dans la surveillance d'une possible maladie récurrente ou transformation anaplasique en tumeurs de haut grade. Dans les tumeurs de haut grade, la neuro-imagerie est indispensable pour différencier les tumeurs récurrentes des modifications induites par le traitement, telles que la nécrose par rayonnement [80].

La norme de pratique actuelle en matière d'évaluation radiographique de la maladie neuro-oncologique implique l'utilisation de la tomodensitométrie (TDM) et de l'imagerie par résonance magnétique (IRM). Les avantages de la tomodensitométrie sont la commodité et la rapidité. L'IRM avec contraste au gadolinium est la référence en matière d'évaluation des traitements pré-thérapeutiques et post-thérapeutiques des tumeurs cérébrales. Pour de nombreuses applications de neuro-oncologie, l'IRM est supérieure à la tomodensitométrie car l'IRM fournit une meilleure résolution anatomique sans utiliser de rayonnement ionisant ni de produit de contraste à base d'iode [90].

### 3. Traitement des gliomes

Au cours des trois dernières décennies, les trois principales composantes du traitement des gliomes infiltrants, à savoir la résection chirurgicale maximale, la radiothérapie externe et la chimiothérapie, sont restées les mêmes [78]. Toutefois, plusieurs nouvelles méthodes de traitement adjuvant, notamment l'immunothérapie, la thérapie moléculaire ciblée, la thérapie par virus oncolytique, la thérapie par cellules souches et la thérapie par champ électrique sont progressivement devenues des points chauds de recherche, sans pour autant être intégrés dans les standards thérapeutiques pour le moment.

#### 3.1. Neurochirurgie

L'exérèse chirurgicale maximale est une composante diagnostique et thérapeutique essentielle de la prise en charge des tumeurs du SNC. Ses objectifs sont multiples : elle établit un diagnostic histologique, procure un soulagement symptomatique de l'effet de masse, permet de rétablir la fonction neurologique en rapport avec l'emplacement de la tumeur, réduit le nombre de cellules tumorales pour faciliter l'effet du traitement adjuvant, fournit du matériel tissulaire pour l'analyse moléculaire et facilite l'identification des molécules cibles pour le développement de nouvelles thérapies [91].

Le rôle de la neurochirurgie s'est élargi ces dernières années pour inclure des techniques de délivrance intra-tumorale de médicaments, d'anticorps monoclonaux, de vecteurs de gènes viraux et d'immuno-thérapeutiques [80]. De nouvelles techniques préopératoires visant à améliorer l'étendue de la résection comprennent l'utilisation d'un marqueur acide 5-aminolevulinique fluorescent associé à une opération sous lumière bleue. Les cellules tumorales absorbent préférentiellement ce colorant fluorescent, améliorant ainsi la visualisation de la tumeur en utilisant de la lumière filtrée pour faciliter la résection maximale. Il est administré par voie orale, 2 à 3 h avant la chirurgie et atteint une fluorescence maximale dans les cellules tumorales au bout de 6 h. La fluorescence est corrélée au grade histologique de la tumeur et les structures telles que les vaisseaux sanguins, le tissu cérébral normal, les traces olfactives et la dure-mère ne produisent pas de fluorescence [78].

Dans des situations où la lésion ne peut pas être réséquée, ou si l'état clinique général du patient ne permet pas une chirurgie invasive, une biopsie stéréotaxique peut être utilisée [80].

### 3.2. Radiothérapie

La radiothérapie est une modalité majeure du traitement des gliomes. La technique de référence est la radiothérapie conformationnelle tridimensionnelle. Elle est de préférence réalisée en IMRT (radiothérapie par modulation d'intensité) et sous guidage image (radiothérapie guidée par image, IGRT) afin d'obtenir une grande précision dans la définition du volume cible et dans l'administration de la dose requise. Cela permet de minimiser les complications causés aux tissus cérébraux sains, de préserver les structures à risque (zones cérébrales éloquentes, système visuel, hippocampe, hypophyse et cristallin) et diminuer ainsi les effets secondaires du traitement.

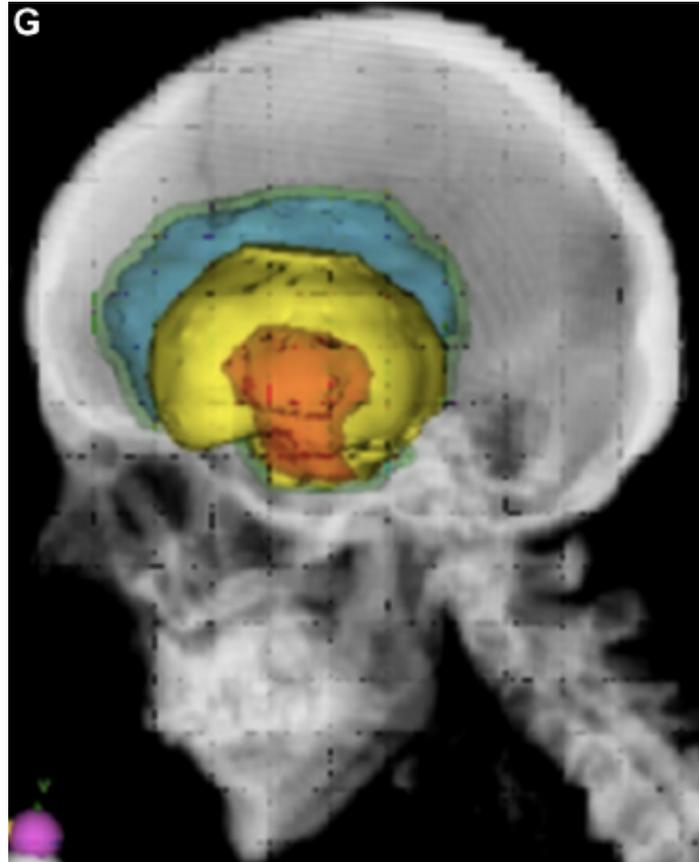
Des doses de rayonnement totales de 50 Gray (Gy) pour les tumeurs de grade II et de 60 Gy pour les tumeurs de grade III et IV de l'OMS sont administrées en doses par fraction de 1,8 à 2 Gy/jour, cinq jours par semaine, de sorte que la durée totale du traitement est de cinq à six semaines.

La définition précise des volumes cibles est indispensable à la planification de l'irradiation. Il existe deux grandes écoles pour la définition de ce volume cible :

Les recommandations européennes (de l'European Organization for Research and Treatment of Cancer, EORTC) sont en faveur de l'irradiation d'un volume unique à la dose de 60 Gy défini de la façon suivante :

- Volume tumoral macroscopique (gross tumour volume : GTV);
- Volume cible anatomoclinique (clinical target volume : CTV) : marge de 2 à 3 cm autour du volume tumoral macroscopique, réduite aux barrières anatomiques ;
- Volume cible prévisionnel (planning target volume : PTV) : 3 à 5mm autour du volume cible anatomoclinique.

Les recommandations américaines (du Radiation Therapy Oncology Group, RTOG) sont d'irradier un premier volume à 46Gy puis un boost à 14Gy pour un total de 60 Gy pour les mêmes volumes (GTV, CTV, PTV).



**Figure 6 :** Exemple d'une coupe d'IRM avec les volumes GTV, CTV et PTV [92].

Plusieurs protocoles dont le EMD 121974-011, conduit au niveau mondial, prévoient les deux possibilités en termes de volume à irradier [78, 80, 92, 93].

### 3.3 Chimiothérapie

Actuellement, la norme pour le traitement des gliomes de haut grade inclut l'utilisation du témozolamide (TMZ :Temodal®), un agent chimiothérapeutique oral qui alkyle l'ADN (ajoute le groupe méthyle au résidu guanine de l'ADN). il est utilisé en concomitance avec la radiothérapie puis en adjuvant pendant 6 cycles à raison d'un cycle / 28 jours.

Avec l'avènement de cette molécule, la survie à 2 ans des patients atteints de glioblastome a presque triplé pour atteindre les 27% alors qu'elle stagnait à 10% durant des décennies avec la radiothérapie seule. En outre, la présence d'une altération spécifique ; la méthylation du promoteur du gène *MGMT* a multiplié par 5 cette survie. Le produit du gène *MGMT* répare la modification de l'ADN provoquée par des alkylateurs tels que TMZ et, par conséquent, on pense que l'inactivation de ce gène par une méthylation du promoteur confère une sensibilité accrue au TMZ. La méthylation du promoteur *MGMT* est ainsi devenue un marqueur pronostic important en neuro-oncologie et peut également être un marqueur guidant les choix thérapeutiques [78, 94].

D'autres traitements chimiothérapeutiques peuvent être utilisés dans le traitement des tumeurs gliales, comme le PCV utilisée principalement pour les oligodendrogliomes, aussi bien primaires que récurrents. Il consiste en la combinaison des trois molécules ; procarbazine (NATULAN®), lomustine® (CCNU) et vincristine (ONCOVIN ®) [93].

Dans le contexte du gliome récurrent, l'anticorps monoclonal bevacizumab (AVASTIN®) qui inhibe l'angiogenèse en liant et en neutralisant une protéine angiogénique paracrine dérivée de la tumeur (facteur de croissance endothélial vasculaire [VEGF]) a produit des résultats impressionnants. Cependant, les résultats préliminaires ne recommandent pas l'utilisation systématique de bevacizumab en association avec la radiothérapie standard et le TMZ chez les patients atteints d'un GBM récemment diagnostiqué.

Cette recommandation repose sur l'absence de bénéfice prouvé sur la survie et sur le risque accru de toxicité associé au traitement d'association [80, 94].

### 3.4 Quatrième modalité de traitement

Parmi toutes les nouvelles méthodes de traitement adjuvant c'est la thérapie par champ électrique qui paraît la plus prometteuse.

Cette nouvelle thérapie appelée TTF « Tumor Treating Field » consiste en l'application externe d'un champ électrique alternatif non invasif de faible intensité et de fréquence intermédiaire qui cible les cellules tumorales à division rapide tout en épargnant les cellules saines. Son effet anticancéreux est basé sur la perturbation de la mitose des cellules tumorales à l'anaphase et à la télophase, déclenchant une cascade d'effets directs ou indirects en aval qui interfèrent avec la croissance tumorale et activent l'immunité antitumorale chez le patient. Le traitement par TTF est délivré via deux paires de réseaux de transducteurs positionnés orthogonalement appliqués sur la tête. Les effets secondaires sont principalement localisés sur la peau.

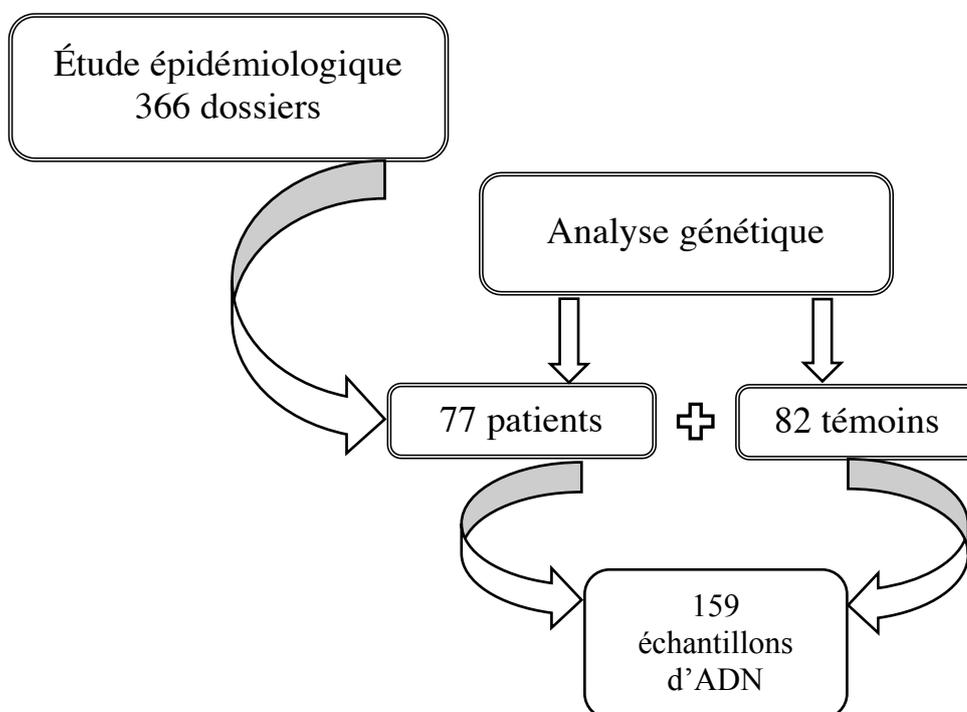
Malgré la présence de preuves probantes de son efficacité, son intégration dans le traitement multimodal standard des soins du glioblastome, et son utilisation par plus de 10 pays d'Amérique du Nord, d'Europe et d'Asie pour le traitement des gliomes récurrents de haut grade, le traitement par TTF est toujours très débattu; la principale raison en est probablement la stigmatisation visible des patients que cette forme de traitement implique (le cuir chevelu doit être rasé de près et les électrodes doivent être fixées à la tête pendant au moins 18 heures par jour) [93, 95–97].

*Patients  
et méthodes*

## I. Structuration du projet

Notre travail comporte deux parties : une étude épidémiologique et une analyse génétique (figure 7).

- L'épidémiologique consiste en une étude rétrospective, basée sur le dépouillement des dossiers de patients atteints de tumeurs gliales et admis au niveau du service d'Oncologie-Radiothérapie du Centre Anti Cancer (CAC) du CHUC, durant une période de 9 ans allant de janvier 2008 à octobre 2016.
- L'analyse génétique consiste en une étude transversale de type cas-témoins, dont les patients ont été recrutés au niveau des services d'Oncologie-Radiothérapie et de Neurochirurgie du CHU Constantine, sur une période de 2 ans et demi allant de mars 2014 à octobre 2016. Les dossiers de ces patients constituent un sous-échantillon de l'étude épidémiologique. Au total, 77 patients portant une tumeur gliale et 82 témoins ont été inclus dans cette étude.



**Figure 7 :** Schéma explicatif de la structuration du projet d'étude

## **II. Population d'étude**

### **1. Patients**

Les patients retenus dans notre étude sont des personnes atteintes de gliomes et recrutées au niveau du Centre Hospitalo-Universitaire de Constantine.

#### *1.1. Critères d'inclusion*

Ont été inclus dans cette étude les patients des 2 sexes, sans restriction d'âge, atteints de tumeurs encéphaliques primitives des types histologiques suivants : astrocytome, oligodendrogliome, épendymome, glioblastome, tumeur mixte et gliome non spécifié (NOS : Not Otherwise Specified). La classification histologique était basée sur le standard des tumeurs cérébrales de l'OMS 2007 [79].

#### *1.2. Critères d'exclusion*

Ont été exclus de l'étude les patients avec métastases cérébrales ou toute tumeur cérébrale primitive non gliale ainsi que les sujets transfusés et ceux ayant refusé la participation à l'étude dans la partie génétique.

### **2. Témoins**

Nos témoins (exclusifs à la partie génétique) sont des sujets présumés sains appariés avec les patients selon l'âge et le sexe et originaires de la même région géographique (l'Est Algérien). Vingt et un (21) témoins ont été recruté pour l'étude et 61 ont été pris de la banque d'ADN du laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire de la Faculté de médecine-Université de Constantine 3.

Pour chacun des patients et des témoins, un questionnaire a été rempli (annexes 1 et 2) et un consentement éclairé, pour la participation à l'étude et l'utilisation du matériel génétique, signé (annexes 3 et 4).

Dans le cas où les capacités mentales et/ou physiques du patient étaient affectées, le questionnaire et le consentement ont été confiés à son tuteur. Le questionnaire des patients a été utilisé pour relever la consanguinité des parents, le niveau d'études ainsi que pour combler d'éventuelles lacunes relevées dans les dossiers médicaux.

### III. Démarche méthodologique

#### 1. Recueil des données

Les renseignements nécessaires à l'étude ont été collectés à partir des dossiers médicaux conservés au niveau des services de neurochirurgie et d'oncologie-radiothérapie. Quatre cent vingt-cinq (425) dossiers ont été consultés.

Les paramètres suivants ont été rapportés sur un tableur Excel :

- Identifiants du dossier : *numéro, nom et prénom du patient*
- Paramètres démographique : *âge au moment du diagnostic, sexe, wilaya, situation familiale (statut matrimonial), profession*
- Données cliniques : *date de la première consultation, début de la symptomatologie, antécédents personnels et familiaux, signes cliniques révélateurs, étage et localisation de la tumeur, type histologique, grade de malignité, date du diagnostic histologique, taille de la tumeur*
- Données sur le traitement : *type du traitement chirurgical, date de la chirurgie, type du traitement oncologique, dose de la radiothérapie, dates du début et de la fin de la radiothérapie, chimiothérapie si présente et date de la dernière consultation.*

Le statut vital a été obtenu soit à partir des dossiers soit par appel téléphonique aux patients ou à leurs parents. Les dossiers avec données manquantes ont été exclus de l'analyse. Au total, 366 dossiers ont été retenus pour l'étude, soit 86% des dossiers consultés. Le recueil des données a été arrêté le 12 mars 2017.

#### 2. Paramètres étudiés

Les paramètres retenus pour l'analyse sont : les données démographiques (*âge et sexe*), les données cliniques (*localisation de la tumeur, type histologique, grade de malignité*), le traitement (*date et type de chirurgie, type du traitement oncologique*), la date de la dernière nouvelle et le statut vital.

Pour l'analyse épidémiologique, l'âge des patients a été scindé en 4 tranches : enfants (0-15 ans), jeunes adultes (16-35 ans), adultes (36-59 ans), et personnes âgées (60 ans et plus).

La localisation de la tumeur a été rapportée dans deux colonnes : l'une pour la localisation exacte (moelle spinale, cervelet, tronc cérébral, hémisphères cérébraux, ventricules, lésions multiples et autres localisations dans le SNC) et l'autre pour indiquer si c'est en supra ou en infra-tentorial par rapport à la tente du cervelet. L'analyse s'est faite selon les deux sièges.

Le protocole de traitement a été analysé selon deux variables: chirurgie et traitement oncologique.

Le type de chirurgie a été réparti en 3 classes : *biopsie*, *résection partielle* et *résection large*.

Le traitement oncologique a, comme pour la localisation, été rapporté dans deux colonnes : la première indiquait la dose de la radiothérapie et l'association ou non à la chimiothérapie et dans la deuxième colonne nous avons catégorisé le schéma thérapeutique ; *curatif* ou *palliatif*.

Une classe de « *patients non traités* » a été ajoutée pour les patients décédés avant ou durant la radiothérapie.

### 3. Prélèvement sanguin

Les prélèvements sanguins, concernant les patients et les témoins de l'analyse génétique, ont été effectués sur tubes Vacutainer à EDTA (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid). Les échantillons ont été conservés à +4°C jusqu'à l'extraction d'ADN. La durée de conservation n'a pas dépassé une semaine.

#### 4. Préparation des échantillons

##### *4.1 Extraction d'ADN*

L'ADN constitutionnel a été extrait à partir des leucocytes totaux selon la technique standardisée de "Salting Out" (méthode au solvant inorganique NaCl) décrite par Miller et al. [98]. Une lyse hypotonique des globules rouges par du TE 20:5 (Tris 20 mM pH7.5/ MgCl<sub>2</sub> 5 mM SDS à 10%) et une centrifugation à 3400 rpm (rotation/minute) permettent d'isoler les leucocytes qui sont alors traités par un détergent (SDS : Sodium Dodécyl Sulfate) et une protéinase K afin de détruire les membranes et digérer les protéines cellulaires. L'ADN ainsi libéré est traité d'abord par une solution de NaCl afin de déshydrater et précipiter les protéines qui lui sont associées, ensuite une précipitation à l'éthanol absolu à froid (-20 °C) permet de former la méduse d'ADN génomique qui est récupérée et lavée par de l'éthanol à froid également (70%). L'ADN est enfin solubilisé en phase aqueuse (protocole en annexe 5).

L'extraction a été réalisée dans le laboratoire de recherche Biologie et Génétique Moléculaire de la Faculté de Médecine-Université Constantine 3.

##### *4.2. Évaluation de la qualité et de la concentration de l'ADN*

La qualité et la concentration de l'ADN ont été évaluées à l'aide du NanoDrop 2000/2000c (Thermo Fisher Scientific), un spectrophotomètre à micro-volume.

La concentration de l'ADN est déterminée par mesure de sa densité optique (DO) à 260 nm (1 unité DO correspond à 50 µg/µl d'ADN) tandis que sa pureté est déterminée par le rapport de DO<sub>260nm</sub>/ DO<sub>280nm</sub> (280 nm est la longueur d'absorption des protéines) qui doit être comprise entre 1,8 et 2. Un rapport plus faible que 1,7 indique une contamination par des protéines.

Le ratio DO<sub>260nm</sub>/ DO<sub>230nm</sub> est un deuxième indicateur de pureté, il doit être compris entre 2 et 2,2. Lorsqu'il est significativement plus faible, il révèle la présence de contaminants absorbant à 230 nm comme le phénol ou l'EDTA.

Il est important d'utiliser la même solution pour le blanc et pour la solution d'acides nucléiques lors du dosage. Dans notre cas nous avons utilisé de l'H<sub>2</sub>O pure. Le blanc est la première mesure qui se fait avec l' H<sub>2</sub>O (ou le tampon), et qui va être utilisé comme référence.

La DO à 230 nm est un indicateur de la présence d'impuretés dans la solution et/ou sur la surface de mesure (le piédestal) du spectrophotomètre.

La totalité de nos échantillons d'ADN de cas et de témoins (159) a été dosée. Le dosage a été effectué une première fois au laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire à Constantine et une deuxième fois au Centre de Recherche du CHU de Québec (CHUQ). Les concentrations n'ont pas été les mêmes, probablement à cause des conditions de transport (température), néanmoins la qualité est restée bonne sauf pour cinq échantillons qui ont été dégradés. Ce sont les valeurs obtenues au CHUQ qui ont été utilisées. Les concentrations allaient de 2,56 à 1052ng/μl, les échantillons de 300 ng/μl et plus ont été dilués pour avoir des concentrations < 300 ng/μl car c'est le seuil de fiabilité du Nanodrop. Les 159 ADNs ont été déposés sur deux plaques 96-puits (plaques d'ADN source).

## 5. Analyse moléculaire

L'analyse moléculaire consiste en l'établissement d'un profil de susceptibilité génétique au gliomes dans notre population à partir d'un panel de SNPs confirmés sur d'autres populations mondiales via un génotypage iPLEX multiplex.

### 5.1 *Choix des SNPs*

Nous avons sélectionné les 29 Single Nucleotide polymorphisms (SNPs) ayant donné les signaux les plus forts dans les 25 loci identifiés par les GWAS (Genome Wide Association Studies) comme associés à la susceptibilité aux gliomes [99]. Le tableau 3 présente la liste des SNPs avec leur loci respectifs, leurs gènes, allèles et type de gliomes.

**Tableau 3 :** Liste des SNPs sélectionnés avec leurs caractéristiques

<b>Locus</b>	<b>SNP</b>	<b>Gène</b>	<b>Allèles</b>	<b>Type de gliome</b>	<b>GWAS</b>
<b>1p31.3</b>	rs12752552	<i>RAVER2</i>	T/C	GBM	Melin et al., 2017
<b>1q32.1</b>	rs4252707	<i>MDM4</i>	G/A	Non-GBM	Melin et al., 2017
<b>1q44</b>	rs12076373	<i>AKT3</i>	G/C	Non-GBM	Melin et al., 2017
<b>2q33.3</b>	rs7572263	Près d' <i>IDH1</i>	A/G	Non-GBM	Melin et al., 2017
<b>3p14.1</b>	rs11706832	<i>LRIG1</i>	A/C	Non-GBM	Melin et al., 2017
<b>3q26.2</b>	rs1920116	<i>TERC</i>	G/A	Haut Grade	Walsh et al., 2014
<b>5p15.33</b>	rs2736100	<i>TERT</i>	C/A	Tous	Shete et al., 2009
<b>7p11.2</b>	rs11979158	<i>EGFR</i>	A/G/T	Tous	Sanson et al., 2011
	rs2252586	<i>EGFR</i>	C/T	Tous	Sanson et al., 2011
<b>8q24.21</b>	rs4295627	<i>CCDC26</i>	T/G	Tous	Shete et al., 2009
	rs55705857	<i>CCDC26</i>	A/G	Non-GBM	Enciso-Mora et al., 2013
<b>9p21.3</b>	rs1412829	<i>CDKN2B-AS1</i>	A/G	Haut Grade	Wrensch et al., 2009
	rs4977756	<i>CDKN2B-AS1</i>	G/A	Tous	Shete et al., 2009
<b>10q24.33</b>	rs11598018	<i>OBFC1</i>	C/A	Non-GBM	Melin et al., 2017
<b>10q25.2</b>	rs11196067	<i>VTG1A</i>	A/T	Non-GBM	Kinnersley et al., 2015
<b>11q14.1</b>	rs11233250	Région inter-génique	C/T	GBM	Melin et al., 2017
<b>11q21</b>	rs7107785	<i>MAML2</i>	T/C	Non-GBM	Melin et al., 2017
<b>11q23.2</b>	rs648044	<i>ZBTB16</i>	A/G	Non-GBM	Kinnersley et al., 2015
<b>11q23.3</b>	rs498872	<i>PHLDB1</i>	A/G	Tous	Shete et al., 2009
<b>12q21.2</b>	rs12230172	Région inter-génique	A/G	Non-GBM	Kinnersley et al., 2015
<b>12q23.33</b>	rs3851634	<i>POLR3B</i>	T/C	GBM	Kinnersley et al., 2015
<b>14q12</b>	rs10131032	<i>AKAP6</i>	G/A	Non-GBM	Melin et al., 2017
<b>15q24.2</b>	rs1801591	<i>ETFA</i>	G/A	Non-GBM	Kinnersley et al., 2015
<b>16p13.3</b>	rs2562152	Près de <i>MPG</i>	A/T	GBM	Melin et al., 2017
	rs3751667	<i>LMF1</i>	C/T	Non-GBM	Melin et al., 2017
<b>16q12.1</b>	rs10852606	<i>HEATR3</i>	T/C	GBM	Melin et al., 2017
<b>17p13.1</b>	rs78378222	<i>TP53</i>	T/G	Tous	Egan et al., 2012
<b>20q13.33</b>	rs6010620	<i>RTEL1</i>	A/G	Tous	Shete et al., 2009, Wrensch et al., 2009
<b>22q13.1</b>	rs2235573	<i>SLC16A8</i>	G/A	GBM	Melin et al., 2017

## 5.2 *Génotypage iPLEX multiplex*

Le génotypage a été effectué au sein de la « Plateforme de séquençage et de génotypage des génomes » du Centre de Recherche du CHU de Québec et de l'Université Laval au Canada.

La technique utilisée est appelée iPLEX™, et a été développée par la compagnie SEQUENOM pour être utilisée avec la plateforme MassARRAY®. Elle peut interroger de 24 à 36 SNPs sur plusieurs milliers d'échantillons [100].

Cette technique offrant deux niveaux de spécificité consiste en une réaction PCR locus-spécifique suivie d'une réaction d'extension d'amorce spécifique au locus (test iPLEX) dans laquelle une amorce oligonucléotidique s'hybride immédiatement en amont du site polymorphe d'intérêt.

Dans le test iPLEX, l'amorce et l'ADN cible amplifié sont incubés avec des terminateurs didésoxynucléotide (ddNTP) modifiés en masse. L'extension d'amorce est réalisée en fonction de la séquence du site variant et est une base complémentaire unique modifiée en masse.

En utilisant la spectrométrie de masse MALDI-TOF, la masse de l'amorce allongée est déterminée. Celle-ci indique la séquence et, par conséquent, les allèles présents sur le site d'intérêt polymorphe. SEQUENOM fournit un logiciel (SpectroTYPER) qui traduit automatiquement la masse des amorces observées en un génotype pour chaque réaction. La figure 8 montre un aperçu du principe de la technique.

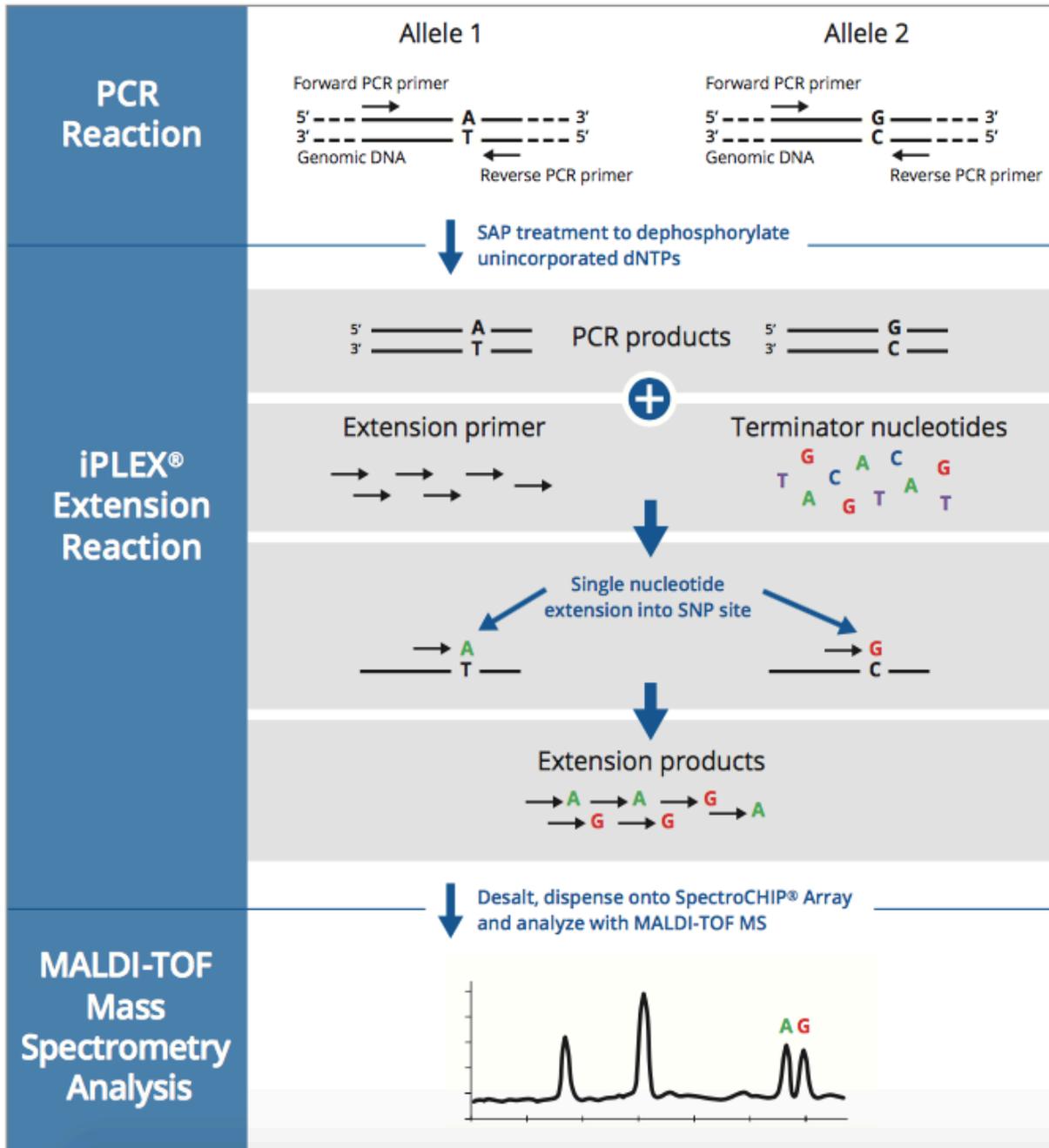
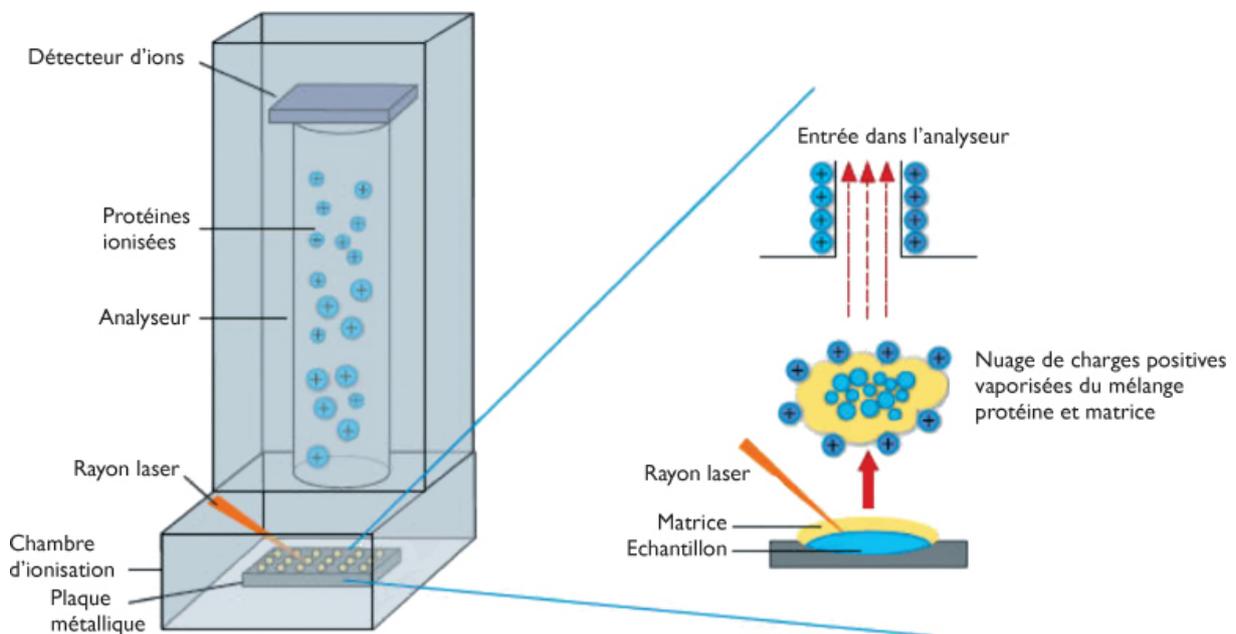


Figure 8 : Aperçu de la chimie du génotypage iPLEX [101].

### 5.3 Principe spectrométrie de masse et MALDI-TOF

La spectrométrie de masse MALDI-TOF (Matrix-Associated LASER Desorption and Ionization, Time Of Flight) est une technique d'analyse permettant de détecter et d'identifier des molécules par la mesure de leur « temps de vol » (proportionnel à leur masse et à leur charge). Son principe réside dans la séparation en phase gazeuse de molécules en fonction de leur rapport masse/charge ( $m/z$ ).

Le spectromètre de masse comporte une chambre d'ionisation associée à une source de type laser à azote produisant des ions en phase gazeuse, suivie d'un analyseur qui sépare les ions produits selon leur rapport masse sur charge  $m/z$ , d'un détecteur de particules permettant la réception et la transformation du courant ionique en un courant électrique, puis sa représentation sous forme d'un spectre de masse, et enfin d'un système informatique pour traiter le signal [102], [103] (figure 9).



**Figure 9:** Schématisation du principe MALDI TOF (BRUKER) [102]

#### 5.4 *Présentation du processus de géotypage*

Le processus iPLEX débute avec la conception d'amorces. Ensuite l'ADN et les amorces sont préparés, les échantillons soumis aux réactions PCR et iPLEX, les produits transférés sur une micropuce qui sera placée dans le MassARRAY system et les résultats sont obtenus sur ordinateur.

##### 5.4.1 Conception d'amorces

La liste des SNPs est soumise au logiciel de conception d'essais *ASSAY DESIGN SUITE V2.0* (Agena Bioscience™). Des amplicons entre 80 et 120 nucléotides sont ciblés pour chaque SNP et la liste des séquences d'amorces PCR d'élongation et d'extension iPLEX est produite. Le logiciel favorise une conception d'essais multiplexes optimale en rejetant les essais formant des structures d'épingle ou des dimères d'amorces. Une fois synthétisées, les amorces, sont préparées et utilisées avec le kit de réactif iPLEX™ Gold conformément aux instructions du fabricant.

##### 5.4.2 Préparation de l'ADN

###### *a. Dilution robotisée*

Le robot utilisé est la station de travail automatisée Perkin Elmer JANUS (optimisée par Packard Innovation).

Deux plaques de dilution sont créées à partir des plaques d'ADN source. Les échantillons d'une concentration supérieure à 30,5 ng/μl sont dilués afin d'arriver à des concentrations dans la gamme de détection pour le dosage PicoGreen.

###### *b. Dosage PicoGreen*

Cette méthode de quantification d'ADN est basée sur l'utilisation d'une sonde fluorescente « PicoGreen » qui se lie à l'ADN double brin et forme un complexe hautement luminescent par rapport au colorant libre en solution [104].

La méthode PicoGreen est complémentaire à la méthode de la DO car elle est spécifique à l'ADN double brin, mais ne peut être utilisée seule car elle ne mesure pas la pureté.

Dans un premier temps, un dosage essai est effectué sur une courbe d'ADN standard constituée d'un gradient de concentration préparée à partir d'ADN du phage Lambda fourni avec le kit « invitrogen » (Quant-it™ PicoGreen™ dsDNA Assay Kit). Les valeurs de concentration de cette gamme étalon constituent les valeurs de concentration de la gamme de détection.

Ensuite, à l'aide du programme « Compress » de la station de travail « Janus » (robot utilisé pour la dilution), le contenu des deux plaques 96 contenant nos échantillons d'ADN est transféré sur la microplaque 384 puits utilisée préalablement pour le dosage essai. Les volumes nécessaires au dosage sont : 2 µl d'ADN, 23 µl de TE (Tris-EDTA) 1X et 25 µl d'une solution « TE + PicoGreen ». Le tout est déposé par le robot et centrifugé avant dosage. Les échantillons avec des concentrations  $\geq 40$  µg/ µl ont été re-dosés et dilués si nécessaire.

L'appareil utilisé pour ces dosages est le lecteur de plaque « Victor<sup>3</sup> » (Perkin Elmer precisely – 1420 Multilabel Counter).

#### 5.4.3 Préparation des réactions PCR et iPLEX

Une nouvelle microplaque 384 puits est préparée pour les réactions PCR et iPLEX et cela en fonction du dosage PicoGreen. Le calcul des volumes d'eau et d'ADN à mettre dans chaque puit est fait selon la formule  $C_1V_1=C_2V_2$  où :

$C_1$  : concentration PicoGreen,

$C_2$  : 10 ng/µl

$V_2$  : 50 µl.

Donc le  $V_1$  est le volume d'ADN à prélever et qui est ensuite complété à 50 µl pour arriver à la concentration 10 ng/µl exigée par Sequenom.

La microplaque est préparée selon le même procédé que la dilution puis mise à sécher durant la nuit pour être soumise aux réactions PCR et iPLEX le lendemain.

#### 5.4.4 Étapes du génotypage iPLEX

Le génotypage iPLEX multiplex est effectué sur les échantillons d'ADN séchés en microplaques 384-puits suivant 4 étapes successives :

Le processus commence avec une réaction *PCR multiplex* d'élongation avec les 29 couples d'amorces correspondants aux régions des 29 SNPs ciblés et les réactifs fournis avec le kit iPLEX (protocole en annexe 6).

Puis le produit PCR reçoit le *traitement SAP* (« shrimp alkaline phosphatase ») qui va inactiver les dNTP et les amorces non utilisées par déphosphorylation. Ce traitement consiste en l'ajout d'un mix : enzyme SAP + tampon + eau au contenu de la microplaque et sa mise en thermocycleur pour un cycle de 37°C durant 40 min, 85°C durant 5 min puis 4°C jusqu'à la prochaine étape.

La réaction iPLEX d'extension d'une base unique est la troisième étape du génotypage iPLEX. Elle consiste en une PCR avec le mix des 29 amorces d'extension et les ddNTP de masse (terminateurs iPLEX) en plus de l'enzyme iPLEX, de son tampon et de l'eau. Le site d'hybridation des amorces d'extension est directement adjacent à chaque SNP d'intérêt et durant la PCR, toutes les réactions iPLEX sont terminées après l'extension de la base unique.

La quatrième étape du génotypage est celle du « Clean up » ou nettoyage à la résine. Elle vise à éliminer les sels contaminants dans les produits de réaction iPLEX afin d'optimiser l'analyse par spectrométrie de masse. On ajoute 15 µl d'H<sub>2</sub>O dans les puits avec le produit PCR d'extension (iPLEX) puis on centrifuge à 3000 tours pendant une minute. De la résine est transférée vers notre microplaque qui est ensuite couverte d'un film et mise à tourner durant une heure puis mise à centrifuger 5 min à 4400 rpm.

Les produits finaux, une solution d'ADN contenant les produits de la réaction iPLEX, sont transférés de la microplaque 384-puits vers une micropuce en silicone à l'aide du Nanodispenser Mass ARRAY. La micropuce est ensuite placée dans l'analyseur SEQUENOM BRUCKER pour lecture. La masse des allèles de chaque SNP est déterminée par spectrométrie de masse sur le Mass ARRAY Compact MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization - Time of Flight).

Enfin les résultats sont analysés avec le logiciel Mass ARRAY TYPYR 4.

Le résultat final est un ensemble de pics ou spectre de masse représentant les rapports m/z des ions détectés selon l'axe des abscisses et l'intensité relative de ces ions selon l'axe des ordonnées. La déduction des génotypes se fait automatiquement et en temps réel.

A la fin, un fichier Excel avec l'ensemble des génotypes de chaque échantillon est récupéré.

#### IV. Analyse statistique

L'analyse statistique a été effectuée par le logiciel R version (R-3.4.3). Les différentes variables ont été codées en chiffres.

Le seuil de significativité statistique a été fixé à une valeur de  $p < 0,05$ .

Le test du Chi2 ( $\chi^2$ ) a été utilisé pour la recherche des associations entre les variables qualitatives indépendantes : groupe d'âge, sexe, grade et localisation. Et le test de Student pour la comparaison des moyennes d'âge entre les cas et les témoins.

L'analyse de survie s'est faite selon la méthode *Kaplan-Meier* qui nous a permis d'estimer les moyenne et médiane du temps de survie globale, les taux de survie à 1-, 2- et 5-ans, l'intervalle de confiance à 95% ainsi que l'obtention des courbes de survie.

Le temps de suivi a été déterminé en tant que période entre le jour suivant la chirurgie et la date de la dernière nouvelle obtenue, soit du dossier médical (date de la dernière consultation) soit par appel téléphonique.

Pour le calcul de la survie globale, la colonne de la durée de suivi (en mois) et celle du statut vital (0,1) ont été prises en compte avec un paramètre d'intérêt à la fois.

La survie sans maladie n'a pu être calculée en raison du manque des données des rechutes. L'analyse univariée et l'analyse multivariée par le modèle des hasards proportionnels de *Cox* ont été réalisées afin d'identifier les différents facteurs impliqués dans la survie.

Dans l'analyse génétique, l'*Équilibre de Hardy-Weinberg* (HWE) a été évalué pour chaque SNP chez les témoins. L'association entre les SNPs retenus après le test de HWE et le risque de gliomes a été investiguée par une régression logistique conditionnelle.

Les résultats ont été exprimés par l'odds ratio (OR) et l'intervalle de confiance à 95% (IC 95%). Pour chaque SNP, les génotypes ont été codés en 0, 1 ou 2, indiquant le nombre d'allèles à risque dans le génotype, et pour chaque participant, le nombre total d'allèles à risque a été calculé. Le nombre maximum d'allèles à risque allait de 6 à 23.

La différence dans le nombre des allèles à risque entre les cas et les témoins a été évaluée par le test non paramétrique *Wilcoxon-Mann-Whitney*. La corrélation entre l'âge des patients et les génotypes a été investiguée par le *Kruskal-Wallis rank sum test*.

*Résultats*  
*et discussion*

*I. Volet*  
*épidémiologique*

## I. Volet épidémiologique

### 1. Description de la population d'étude

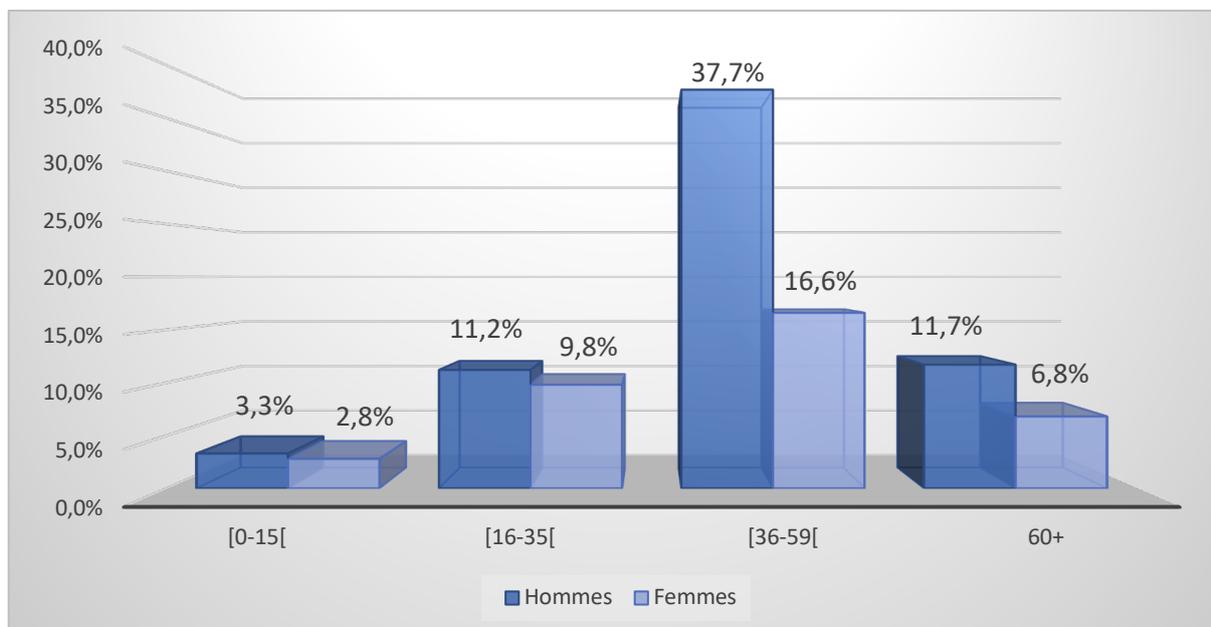
Notre cohorte, constituée de 366 patients atteints de gliome, représente 2,9 % des 12.537 patients cancéreux ayant été admis au service d'oncologie-radiothérapie du Centre Anti Cancer du CHU Constantine entre Janvier 2008 et Octobre 2016.

#### 1.1. Données démographiques

Dans notre population d'étude les hommes sont prédominants avec un taux de 64%, ce qui donne un sex-ratio homme/femme de 1,77. La moyenne d'âge est de 44,6 ans avec des extrêmes allant de 5 à 78 ans et la médiane est de 46 ans.

Pour l'analyse statistique, les patients sont classés en 4 tranches d'âge : enfants ( $\leq 15$  ans), jeunes adultes (16-35 ans), adultes (36-59 ans) et séniors ( $\geq 60$  ans).

La figure 10 présente la répartition des patients selon les tranches d'âge et le sexe.



**Figure 10** : Répartition des patients selon l'âge et le sexe

La différence entre les sexes est statistiquement significative pour la tranche (36-59 ans) avec une valeur p de  $10^{-6}$  ainsi que pour celle des + 60 ans ( $p = 0,021$ ). Cette différence est nettement observable dans la prépondérance masculine chez les adultes comparativement aux autres tranches d'âge.

La prédominance masculine observée dans notre cohorte rejoint ce qui est connu pour les gliomes et décrit dans d'autres études sur d'autres populations de par le monde [43, 105–110]. Cette différence en incidence a été décrite dans tous les groupes d'âges et ne peut donc pas être uniquement la conséquence des effets activateurs des hormones sexuelles.

Des analyses plus poussées ont révélé que les glioblastomes masculins et féminins sont biologiquement distincts, que le traitement standard est plus efficace pour les femmes que pour les hommes, et que la survie chez les hommes est corrélée à l'expression des régulateurs du cycle cellulaire, tandis que chez les femmes, elle est corrélée à l'expression des composants de la voie de signalisation de l'intégrine [111].

Concernant l'âge, nous avons constaté que notre population, avec une moyenne de 44,6 ans et une médiane de 46 ans, est plus jeune que la population française (moyenne = 52,6 ans) [112], suédoise (moyenne = 57 ans) [113] et américaine (moyenne = 51,9 ans) [114], proche de la tunisienne (médiane = 48 ans) [105] et de la nigérienne (moyenne = 42 ans) [110] et plus âgée que la chinoise (médiane = 41 ans) [107].

Par ailleurs, l'augmentation du nombre de cas avec l'âge observée dans notre cohorte et la diminution au-delà de la soixantaine, rejoint les données de Trabelsi *et al.*, sur la population tunisienne [105], Ndubuisi *et al.*, sur la nigérienne [110] et Dho *et al.*, et Jazayeri *et al.*, sur les populations asiatiques [115, 116] et contraste avec les résultats des études de Crocetti *et al.*, (europe) [117], Ostrom *et al.*, (amérique) [1] et Yuan *et al.*, (canada) [108] où la tranche d'âge des séniors est la plus touchée. Cette différence peut s'expliquer par les variations de l'espérance de vie à la naissance entre pays développés et pays en voie de développement [118], ou par la disparité de la disponibilité des soins de santé.

Le tableau 4 montre la répartition de la cohorte composée de 366 patients atteints de gliomes selon le sexe, les groupes d'âge, l'étage et la localisation de la tumeur, le type histologique et le grade de malignité.

**Tableau 4 :** Caractéristiques des patients atteints de gliomes

<b>Variab</b> les	<b>Groupes</b>	<b>N (%)</b>
<b>Sexe</b>	<i>Homme</i>	<b>234 (64)</b>
	Femme	132 (36)
<b>Groupes d'âge (ans)</b>	Enfants ( $\leq 15$ )	22 (6)
	Jeunes adultes (16-35)	77 (21)
	<i>Adultes (36-59)</i>	<b>199 (54)</b>
	Séniors ( $\geq 60$ )	68 (19)
<b>Étage</b>	<i>Supra-tentoriel</i>	<b>325 (89)</b>
	Infra-tentoriel	41 (11)
<b>Localisation</b>	Moelle spinale	11 (3)
	Cervelet	14 (4)
	Tronc cérébral	7 (2)
	<i>Hémisphères cérébraux</i>	<b>301 (82)</b>
	Ventricules	13 (4)
	Multiple	8 (2)
	Autres localisations	12 (3)
	<b>Histologie</b>	<i>Glioblastome</i>
Astrocytome		92 (25)
Oligodendrogliome		32 (9)
Tumeur mixte		30 (8)
Ependymome		25 (7)
Gliome non spécifié		7 (2)
<b>Grade</b>		Grade I
	Grade II	91 (25)
	Grade III	75 (20.5)
	<i>Grade IV</i>	<b>180 (49)</b>

### 1.2. Données cliniques

Les données cliniques de notre population incluent *l'emplacement de la tumeur, le type histologique et le grade de malignité.*

Le siège dominant des tumeurs est l'étage supra-tentorial avec 89% des lésions soit 325 patients. Les hémisphères cérébraux, avec 82% des cas, représentent la localisation la plus touchée.

Les lésions multiples ont concerné 8 de nos patients ce qui représente 2% de la population d'étude. La classe « autres localisations » rassemble le thalamus, le centre semi-ovale, le chiasma optique, et la glande pinéale.

Le type histologique dominant est le *glioblastome* (49%) suivi de l'*astrocytome* (25%) et le *gliome non spécifié* est le moins fréquent avec 7 cas (2%). Une augmentation du nombre de cas en concomitance avec l'augmentation du grade de malignité, passant de 20 au grade I à 180 au grade IV, est observée.

Le test  $\chi^2$  a révélé que l'âge des patients est fortement associé à la localisation de la tumeur ( $p = 0,0009$ ), au type histologique ( $p = 0,021$ ) et au grade de malignité ( $p = 2,709e-08$ ). La localisation est fortement corrélée au type histologique ( $p < 2.2e-16$ ) et au grade de malignité ( $p=2,709e-08$ ), quant au « sexe », il n'est corrélé à aucun paramètre.

Ainsi, les tumeurs supra-tentorielles sont majoritaires chez tous les groupes d'âges et les tumeurs infra-tentorielles sont les plus observées chez les enfants. L'astrocytome est le type histologique le plus enregistré chez les enfants et les jeunes adultes tandis que le glioblastome se retrouve surtout chez les adultes et les séniors. Une augmentation du grade de malignité est observée avec l'augmentation de l'âge des patients.

Tous les types histologiques sont majoritairement supra-tentoriels sauf les épendymomes qui sont à 56% infra-tentoriels. L'étage supra-tentorial abrite 76,3% des tumeurs de haut grade et 99% des glioblastomes.

La distribution de la localisation tumorale dans notre cohorte est comparable aux résultats de l'étude de Larjavaara et al., [119] en Finlande qui ont montré que les lobes cérébraux occupaient la première position avec 86% des lésions, suivis des structures profondes du cerveau, soit « autres localisations » dans notre étude, du tronc cérébral, des ventricules et du cervelet avec des proportions comparables.

Selon l'étage, les 89% des tumeurs supra-tentorielles dans notre population sont plus importantes que les 62% trouvées chez la population centre tunisienne [105]. Les lobes cérébraux sont également les plus atteints dans l'étude de Ndubuisi et ses collaborateurs au Nigeria [110].

La répartition des sous-types histologiques chez nos patients, où le GBM avec 49% des cas est le sous-type le plus fréquent suivi des astrocytomes, des oligodendrogliomes, des tumeurs mixtes, des épendymomes et des gliomes non spécifiés, est comparable à celle des populations tunisienne [105], canadienne [108], française [112], coréenne [115], américaine [1] et finlandaise [119].

En outre, les corrélations entre l'âge, la localisation et le degré de malignité révélées par nos données reflètent un schéma selon lequel les gliomes de bas grade et les tumeurs infra-tentorielles sont plus fréquents chez les plus jeunes, tandis que les gliomes de haut grade et les lésions supra-tentorielles sont plus fréquentes parmi les sujets âgées.

Plusieurs études appuient ce schéma à l'instar de celle de Berntsson et al., sur une large cohorte européenne et américaine qui décrit que les patients atteints de gliomes de bas grade sont plus jeunes comparativement aux patients avec gliome anaplasique (grade III ou GBM) [109] et le rapport de Bauchet et Ostrom qui indique que l'âge médian au diagnostic est plus jeune pour les gliomes diffus de bas grade comparativement aux gliomes diffus anaplasiques [43].

## 1.3. Traitement

La stratégie actuelle de traitement des gliomes consiste en l'exérèse la plus large possible suivie d'une radiothérapie externe (la dose totale standard est de 60 Gy, administrée en 30 à 33 fractions de 1,8 à 2 Gy) et une chimiothérapie (Temozolamide: un agent cytotoxique alkylant de l'ADN ) par voie orale [78].

De ce fait, nos patients sont répartis comme indiqué dans le tableau 5. La chirurgie est partagée en trois classes : *exérèse large*, *exérèse partielle* et *biopsie*, et le traitement oncologique comprend : *le protocole curatif*, *le protocole palliatif* et une classe « *non traités* » qui inclut les patients décédés avant ou durant la radiothérapie.

**Tableau 5** : Répartition des patients atteints de gliomes selon le schéma de traitement reçu

	<b>Exérèse large</b> <b>(n)</b>	<b>Exérèse partielle</b> <b>(n)</b>	<b>Biopsie</b> <b>(n)</b>	<b>Total</b> <b>N (%)</b>
<b>Curatif</b>	121	78	24	<b>223 (60,9%)</b>
<b>Palliatif</b>	31	25	15	71 (19,4%)
<b>Non traités</b>	35	19	18	72 (19,7%)
<b>Total</b>	187 (51,1%)	122 (33,3%)	57 (15,6%)	366 (100%)

A propos du traitement oncologique, les 223 patients du protocole curatif ont reçu une radiothérapie conformationnelle en 3D dont la dose totale variait entre 40 et 60 Gy. Parmi eux, 142 (63,7%) patients ont reçu une radiothérapie exclusive et 81 (36,3%) ont reçu une chimiothérapie associée à une radiothérapie. Pour les patients ayant reçu une chimiothérapie, 61 ont bénéficié du témozolomide et les 20 autres ont reçu l'association du Cisplatine/Etoposide.

Les 71 patients concernés par les soins palliatifs ont bénéficié d'une radiothérapie conformationnelle 3D hypo-fractionnée selon plusieurs schémas :

- une seule série de 18 Gy en 3 fractions et 3 jours (9 patients),
- 2 séries de 18 Gy espacées de 21 jours (54 patients),
- 20 Gy en 5 fractions et 5 jours (3 patients),
- 30 Gy en 10 fractions (5 patients) .

Dans cette classe de traitement palliatif, une chimiothérapie a été administrée à 8 patients ; 7 en radio-chimio concomitante avec du témozolomide et 1 patient selon le schéma Carboplatine/Etoposide.

Le protocole avec Carboplatine/Etoposide est administré lorsque le témozolomide est en rupture de stock.

## 2. Analyse de survie

Le suivi moyen de notre population est de 20 mois et la médiane est de 10 mois. Cent quarante-six (146) de nos patients étaient décédés au moment de l'analyse des données. La moyenne de survie globale est de 50,9 mois, la médiane 32,4 mois et l'intervalle de confiance à 95% est [21,43 – 54,27].

Les taux de survie à 1, 2, et 5 ans pour notre population sont de 67,2%, 53,7% et 38,1% respectivement.

Le tableau 6 montre la moyenne de survie globale et les taux de survie à 1, 2 et 5 ans en fonction des différents paramètres.

Les médianes de survie ont présenté des différences importantes par rapport aux moyennes dans certaines classes. Les plus importantes sont celles des adultes (30,4 mois), des tumeurs supra-tentorielle (22,8 mois), des biopsies (20,3 mois), de l'exérèse large (21,4 mois) et des patients non traités (4,33 mois). Ces écarts peuvent être expliqués par la distribution des valeurs de survie qui n'est pas homogène dans ces classes, les plus petites valeurs étant plus nombreuses que les grandes.

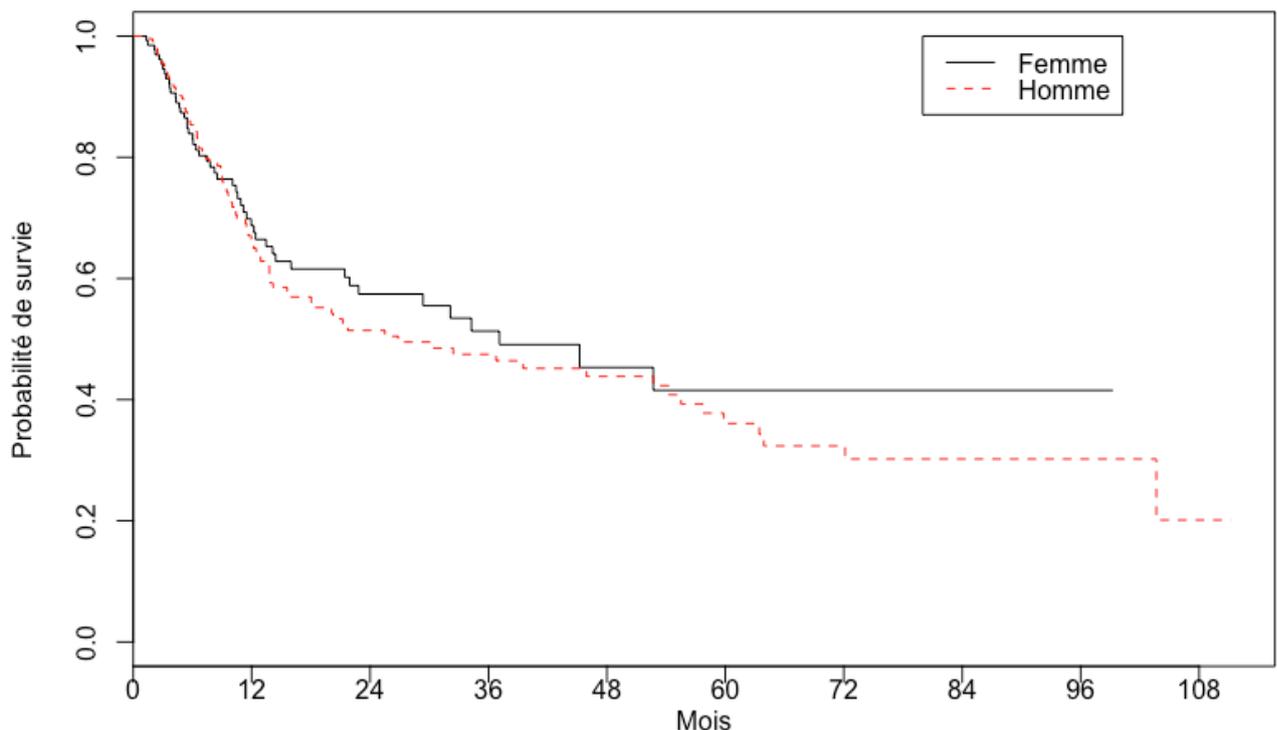
Tableau 6 : Moyenne et taux de survie de la population selon les différents paramètres

Variables	Groupes	Survie			
		Moyenne (Mois)	1an	2ans	5ans
<b>Sexe</b>	Homme	47,2	66,3%	51,4%	36%
	Femme	54,1	68,7%	57,4%	41,5%
<b>Groupe d'âge (années)</b>	Enfants ( $\leq 15$ )	76,1	87,7%	87,7%	57,6%
	Jeunes adultes (16-35)	70,6	86,8%	78,3%	60,9%
	Adultes (36-59)	46,7	64,7%	51,4%	34,3%
	Personnes âgées ( $\geq 60$ )	15,2	38,1%	0%	0%
<b>Étage</b>	Supra-tentorial	44,2	64,4%	49,5%	30,7%
	Infra-tentorial	80,2	86,2%	79,6%	75,4%
<b>Localisation</b>	Moelle spinale	46	80,8%	57,7%	34,6%
	Cervelet	50,5	85,1%	68,1%	42,6%
	Tronc cérébral	27,9	71,4%	35,7%	17,8%
	Hémisphères cérébraux	28,8	59,7%	41,3%	16,5%
	Ventricules	54,2	90,9%	90,9%	56,8%
	Multiple	62,9	72,9%	72,9%	72,9%
	Autres localisations	50,6	76,2%	76,2%	57,1%
<b>Histologie</b>	Glioblastome	16,5	44,7%	16,8%	3,7%
	Astrocytome	66,2	81,6%	76%	60,8%
	Oligodendrogliome	69,5	100%	94,7%	46,6%
	Tumeurs Mixtes	72,7	81,2%	76,4%	69,5%
	Ependymome	66,2	81,9%	71,7%	58,5%
	Gliome	53	66,7%	66,7%	44,4%
<b>Grade</b>	Grade I	96,1	100%	94,1%	94,1%
	Grade II	74,2	89,5%	87,5%	59,3%
	Grade III	59	74,4%	64,1%	46,9%
	Grade IV	16,8	44,7%	16,8%	3,7%
<b>Chirurgie</b>	Biopsie	42	59,8%	46,1%	37,7%
	Exérèse partielle	64,7	62,5%	46,5%	24,7%
	Exérèse large	44,7	66%	47,2%	16,3%
<b>Traitement oncologique</b>	Curatif	62,8	83,9%	68,8%	50,4%
	Palliatif	18,1	31%	14,8%	5,5%
	Non traités	21,9	23,8%	20,4%	13,6%

Les courbes de survie Kaplan-Meier (figures 11 à 15) montrent que la survie chez les deux sexes est semblable durant les premiers mois et légèrement meilleure chez les femmes à partir de 50 mois (figure11). Elle est meilleure chez les jeunes patients et diminue avec l'âge (figure12). Les patients avec tumeurs supra-tentorielles (figure13), hémisphériques (figure14) et de type Glioblastome (figure 15) montrent les plus mauvais pronostics.

Une diminution de la probabilité de survie avec l'augmentation du grade de malignité peut être observée sur la figure 16 : les patients avec tumeurs de grade I ont eu la meilleure survie tandis que ceux avec tumeurs de grade IV ont vécu le moins longtemps.

La survie en fonction du traitement révèle que les patients ayant subi une exérèse partielle (figure 17) et ceux ayant reçu un protocole curatif du traitement oncologique (figure 18) ont eu une meilleure survie.



**Figure 11** : Courbe de survie Kaplan-Meier en fonction du sexe

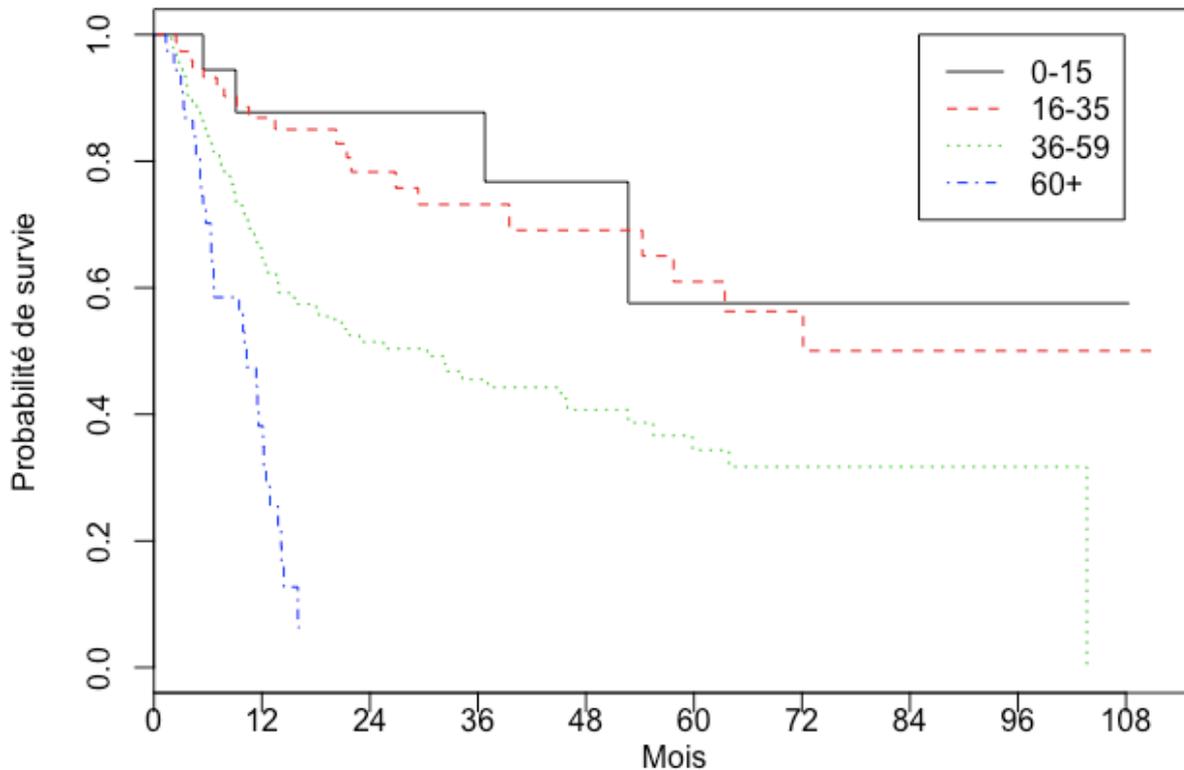


Figure 12 : Courbe de survie Kaplan-Meier en fonction des groupes d'âge

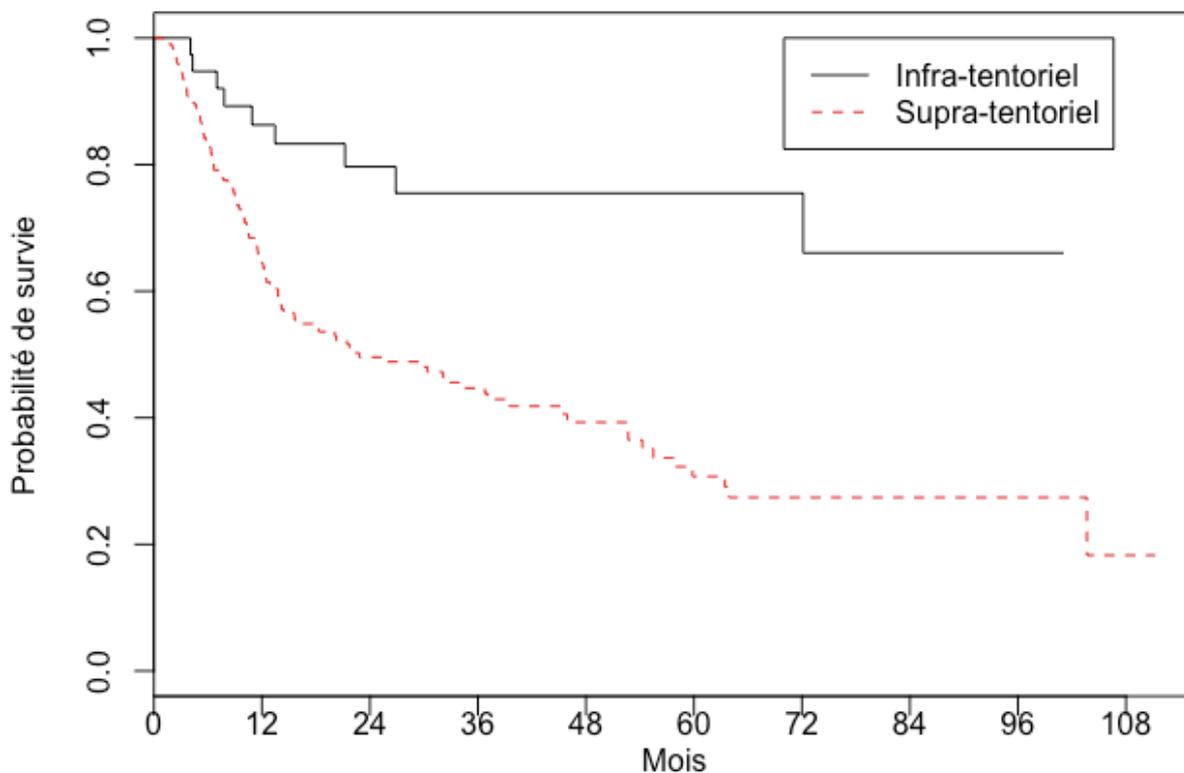


Figure 13 : Courbe de survie Kaplan-Meier en fonction de l'étage de la tumeur

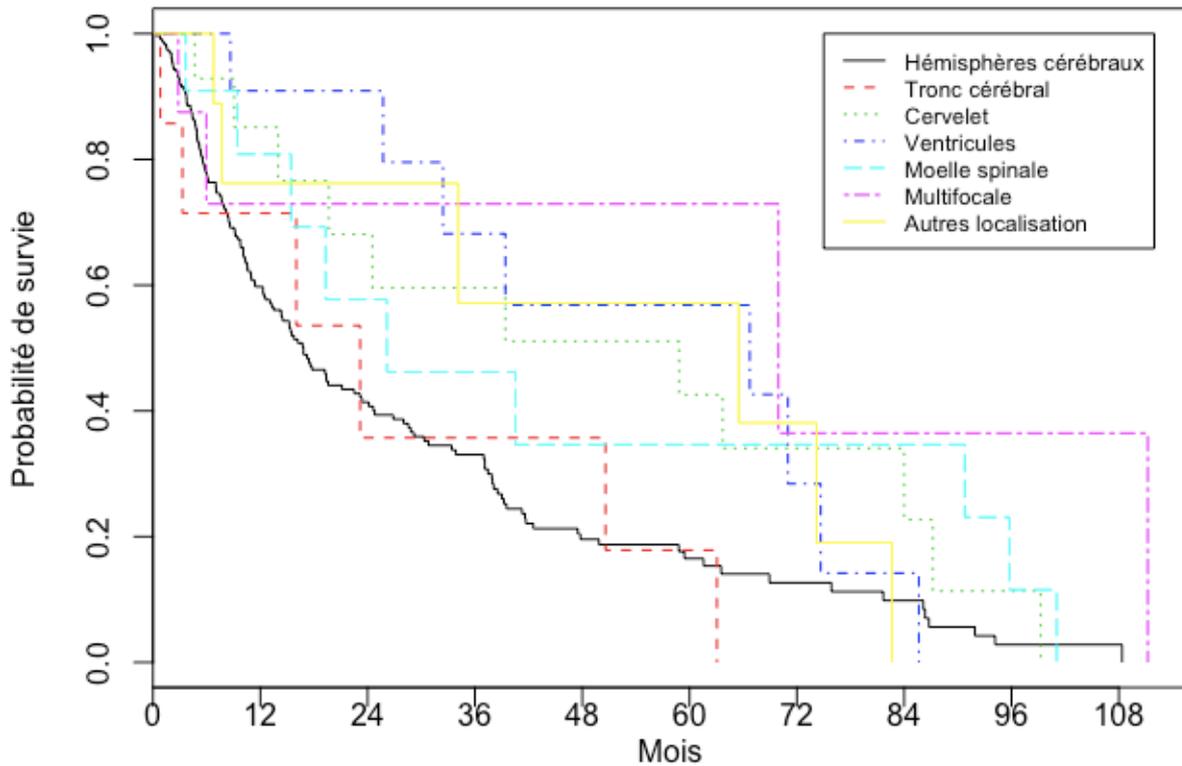


Figure 14 : Courbe de survie Kaplan-Meier en fonction de la localisation

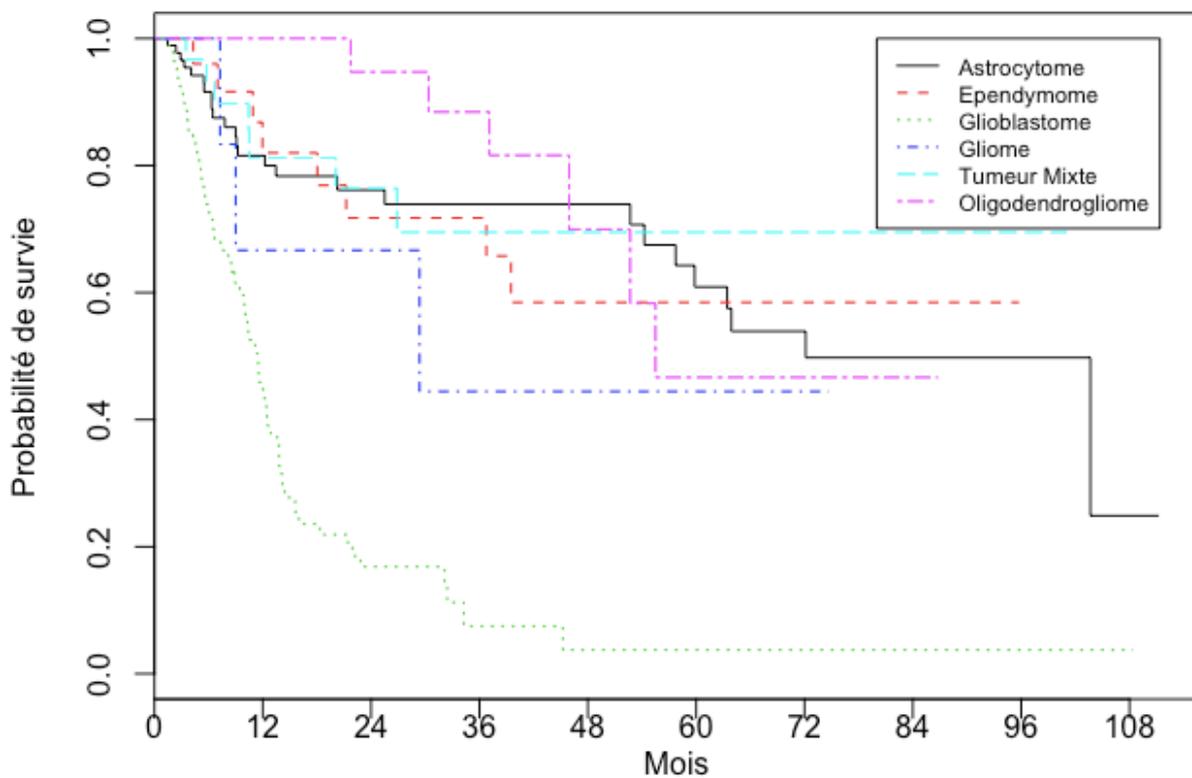


Figure 15 : Courbe de survie Kaplan-Meier en fonction du type histologique

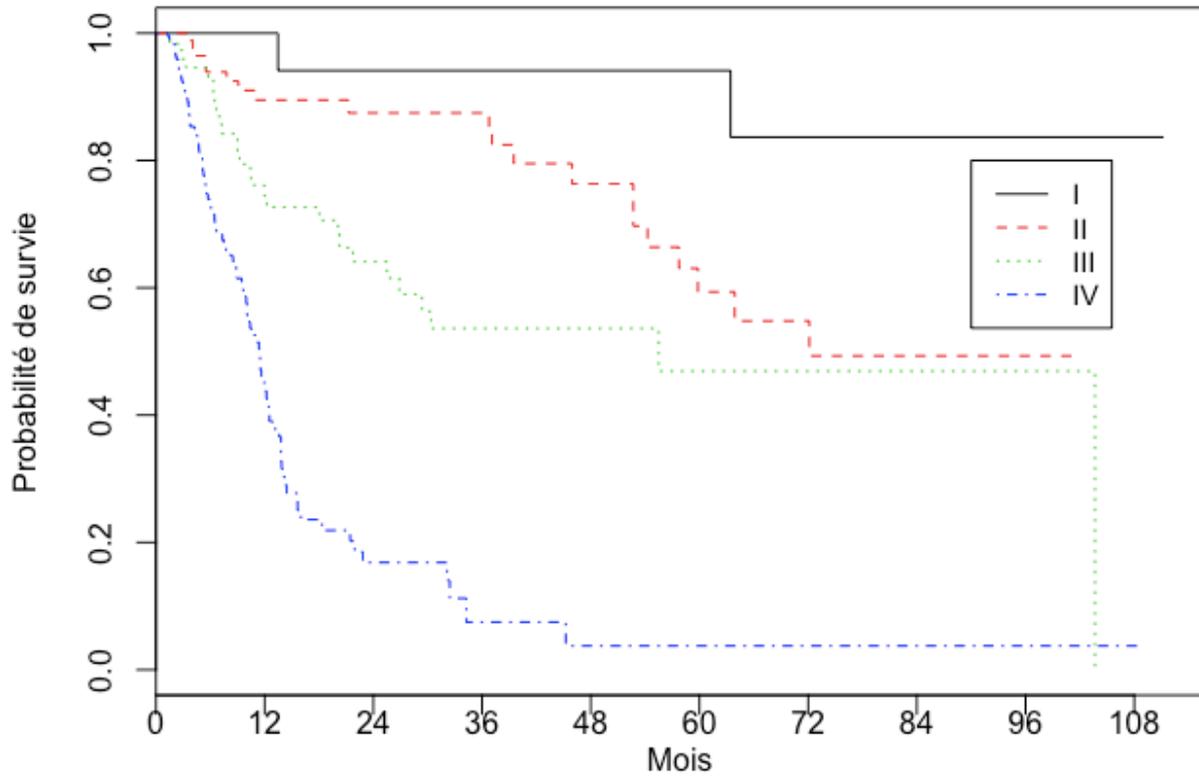


Figure 16 : Courbe de survie Kaplan-Meier en fonction du grade de malignité

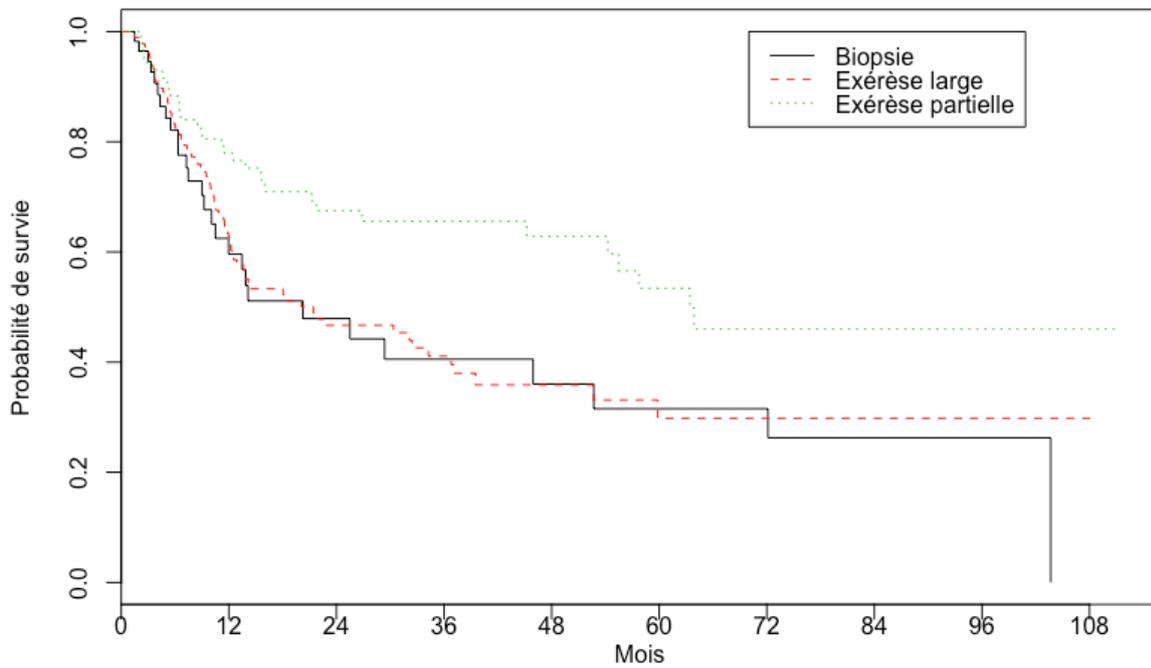
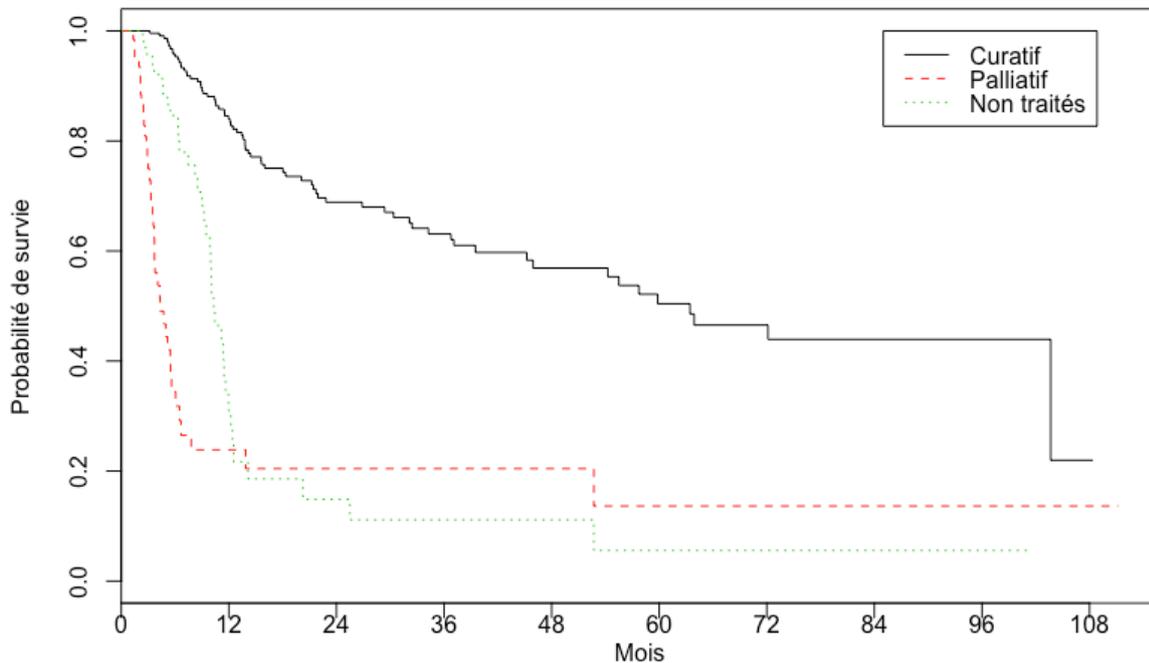


Figure 17 : Courbe de survie Kaplan-Meier en fonction du type de chirurgie



**Figure 18 :** Courbe de survie Kaplan-Meier en fonction du type de traitement oncologique

Les courbes de survie de notre population rejoignent ce qui est connu pour les gliomes de par le monde à plusieurs égards, comme la diminution de la survie avec l'âge croissant [43, 105, 117, 120], l'augmentation de la malignité [106, 107], la bonne survie des oligodendrogliomes [43] ainsi que le fait que les GBM aient les plus mauvais pronostics [108, 120, 121].

Cependant, des spécificités ont été dévoilées dans nos résultats à l'instar de la survie globale dans notre population (moyenne = 50,9 mois, médiane de 32,4, taux de survie à 1, 2 et 5 ans de 67,2%, 53,7% et 38,1% respectivement) qui s'est avérée être supérieure à la moyenne européenne (survie à 1 et 5 ans = 56,9% et 19,6% respectivement) [117] et à la moyenne tunisienne (taux de survie moyen = 27 mois, 1, 2 et 5 ans: 42%, 30 % et 26% respectivement). De même, les tumeurs infra-tentorielles et les tumeurs multiples, connues pour avoir de très mauvais pronostics [122, 123], ont présenté des taux de survie assez élevés dans notre cohorte.

D'autre part, la survie des épendymomes qui est intermédiaire dans notre population et dont les taux se rapprochent de l'analyse de Hollon et al., sur les épendymomes hémisphériques connus pour leur moins bons pronostics comparés aux autres épendymomes [124, 125]. Des taux beaucoup plus élevés pour la survie de ces tumeurs sont rapportés dans l'étude de Villano *et al.* (1 et 5 ans 93% et 80% respectivement) sur une population américaine [126] et celle de Vera-Bolanos et al., sur un échantillon de 282 participants de 19 institutions médicales européennes, américaines et canadiennes (87% à 5 ans) [127]. Ces tumeurs ont, en outre, été décrites par Crocetti *et al.* [117] comme ayant la meilleure survie à 5 ans.

L'amélioration du taux de survie des tumeurs infra-tentorielles peut s'expliquer par leur distribution. En fait, cette classe est principalement composée de gliomes de bas grade (34 sur 41) dans lesquels l'astrocytome est le sous-type histologique principal. Il a été rapporté que le grade histologique des gliomes de la fosse postérieure est le principal facteur pronostic [128], et les adultes atteints d'astrocytomes cérébelleux de grade I et II de l'OMS ont été décrits comme ayant une courbe de survie beaucoup plus favorable que ceux ayant des tumeurs supra-tentorielles similaires [129].

Les autres particularités peuvent s'expliquer en partie par un biais de sélection, par la taille de l'échantillon ou par les 33 patients qui ont vécu plus de 60 mois (jusqu'à 111 mois) mais des analyses plus poussées sont nécessaires pour élucider ces différences.

Un autre résultat surprenant est le fait que nos patients ayant eu une résection partielle ont vécu plus longtemps que ceux ayant subi une exérèse large (64,7 contre 44,7 mois en moyenne). Nos données contredisent l'efficacité largement documentée de la résection globale par rapport à la résection subtotale sur la survie, la progression tumorale, la transformation maligne et la qualité de vie chez les patients atteints de gliomes de bas et de haut grade [130–135].

Cette différence ne peut être expliquée par la répartition des patients vu que cette classe n'est pas majoritaire, ni par un lien éventuel entre l'étendue de la résection et l'âge ou le sous-type histologique puisqu'il n'y en a pas. Une explication possible serait une interaction complexe entre le grade tumoral, la localisation et l'âge comme le démontre Carroll et son équipe dans leur étude sur l'avantage de survie associé à la résection totale [136].

### 3. Facteurs pronostics

Dans le but d'identifier les facteurs influençant la survie, une analyse univariée et une analyse multivariée ont été effectuées (tableau 7). La première a montré que la survie est significativement associée à l'âge, à la localisation, au type histologique, au grade de malignité et au traitement oncologique.

Dans la seconde, seuls l'âge, le grade de malignité et le traitement oncologique étaient prédicteurs de survie. Après stratification selon le grade de malignité, la chirurgie a également été identifiée comme facteur pronostic ( $p = 0.008$ ).

**Tableau 7 :** Facteurs pronostics des analyses univariée et multivariée

Paramètres	Analyse univariée			Analyse multivariée		
	HR	Valeur p	IC 95%	HR	Valeur p	IC 95%
<b>Age</b>	2,452	<b>1,58e-11</b>	1,889-3,182	1,486	<b>0,0042</b>	1,133-1,950
<b>Sexe</b>	0,876	0,448	0,621-1,234	0,887	0,502	0,626-1,257
<b>Localisation</b>	0,304	<b>0,00058</b>	0,154-0,599	1,013	0,975	0,455-2,253
<b>Histologie</b>	1,501	<b>6,84e-13</b>	1,343-1,676	1,129	0,202	0,937-1,360
<b>Grade</b>	2,925	<b>&lt;2e-16</b>	2,308-3,707	2,307	<b>3,92e-05</b>	1,549-3,438
<b>Chirurgie</b>	0,748	0,169	0,495-1,131	1,0018	0,9936	0,647-1,551
<b>Traitement oncologique</b>	2,715	<b>&lt;2e-16</b>	2,242-3,289	3,194	<b>&lt;2e-16</b>	2,535-4,024

L'utilisation du modèle des risques proportionnels de Cox pour l'analyse de survie exige la vérification de l'hypothèse de proportionnalité. De plus, le fait que certaines catégories des variables utilisées dans le modèle montrent un croisement dans les courbes de Kaplan-Meier, nous indique qu'il pourrait y avoir violation de l'hypothèse, cela pourrait conduire à des résultats trompeurs et à une mauvaise interprétation.

La vérification de l'hypothèse de proportionnalité a été effectuée en utilisant les résidus de Schoenfeld et il en a résulté qu'il y avait effectivement violation de celle-ci. Pour surmonter les variables qui ne répondent pas à l'hypothèse de risque proportionnel, un nouveau modèle «Extended Cox-PH» a été appliqué et nous a révélé la variable « sexe » comme nouveau facteur pronostic avec une valeur  $p = 0,04$  et que le traitement oncologique était un facteur dépendant du temps.

Comme l'application de ce nouveau modèle était juste une obligation statistique, notre but n'étant pas de faire une évaluation quelconque de ces méthodes, nous nous en tenons aux facteurs pronostics confirmés, à savoir l'âge, le grade de malignité et le traitement oncologique en précisant que ce dernier est une variable dépendante du temps.

Ainsi, le type histologique, la localisation tumorale et le type de chirurgie sont des prédicteurs de survie non confirmés dans notre cohorte, nos facteurs pronostics confirmés (âge des patients, grade de malignité et traitement oncologique), ne rejoignent donc, qu'en partie, les données sur les populations mondiales [96, 106, 107, 122, 135].

En ce qui concerne les facteurs non confirmés, il est intéressant de noter que la localisation et l'histologie tumorales sont des éléments qui ne sont pas systématiquement investigués. On les retrouve beaucoup plus dans des études qui se focalisent sur des types des gliomes spécifiques, comme les récurrents, les multiples ou ceux trouvés chez les personnes âgés [137–139].

L'étendu de la chirurgie par contre est un facteur clé investigué par la majorité des études, aussi bien celles sur des échantillons restreints que celle sur les populations entières, et est largement confirmé comme influençant la survie [130–135]. Le fait qu'elle ne soit pas prédicteur de survie dans notre cohorte nécessite de plus profondes investigations.

# *II. Volet génétique*

## II. Volet génétique

### 1. Caractéristiques de la population étudiée

Notre analyse moléculaire a inclus 66 de nos patients atteints de gliomes et 72 témoins sains ayant été génotypés de manière satisfaisante. Le tableau 8 présente leurs données démographiques et cliniques.

**Tableau 8 :** Caractéristiques démographiques et cliniques des patients et témoins

Variable	Cas (n= 66)	Témoins (n=72)	Valeur p
<b>Age (ans)</b>			
Moyenne $\pm$ ET	50,3 $\pm$ 12,8	49,2 $\pm$ 13,9	0,63
<50	29 (43,9%)	34 (47,2%)	
$\geq$ 50	37 (56,1%)	38 (52,7%)	
<b>Sexe</b>			
			0,73
Homme	44 (66,6%)	45 (62,5%)	
Femme	22 (33,3%)	27 (37,5%)	
<b>Histologie</b>			
GBM	47 (71,2%)		
Non-GBM	19 (28,7%)		
<b>Grade OMS</b>			
I-II	6 (9,1%)		
III-IV	60 (90,9%)		

ET : Ecart types

Les cas et les témoins sont appariés et il n'y a pas de différence significative entre les deux groupes en termes d'âge ( $p = 0,63$ ) et de sexe ( $p = 0,73$ ).

#### ○ Age et sexe

Avec des extrêmes de 21 et 76 ans, la moyenne et la médiane d'âge de notre échantillon sont de 50,3 et 52,5 ans respectivement. Légèrement supérieurs à ceux de la population de notre étude épidémiologique (moyenne = 44,6 ans, médiane = 46), ceci s'explique par la non-inclusion des enfants dans l'échantillon de l'étude génétique.

Comme attendu, les hommes sont prédominants dans notre échantillon avec un sex-ratio homme/femme de 2. Ce dernier, légèrement supérieur à ce qui est connu pour les gliomes (environ 1,5) [105, 113, 140], est attribuable à la taille réduite de l'échantillon.

- Histologie et grade

Sur les 66 sujets atteints de gliomes, 6 ont un gliome de bas grade (grade I, n = 1 ; grade II, n=5) et 60 ont un gliome de haut grade (grade III, n = 13 ; grade IV, n = 47). Le GBM est le sous-type histologique le plus fréquent avec 46 cas. Les fréquences des autres types sont les suivantes : astrocytome (n = 6), oligodendrogliome (n = 6), oligoastrocytome (n = 3), épendymome (n = 3), gliosarcome (n = 1) et gliome non spécifié (n = 1). Pour l'analyse statistique, les tumeurs sont distribuées en GBM et non-GBM. Le gliosarcome (grade IV) est intégré au groupe GBM.

Les GBM, représentant la grande majorité de notre échantillon, sont connues comme étant les tumeurs cérébrales primitives malignes les plus agressives et les plus fréquentes [1]. Elles peuvent être divisées en GBM primaires et secondaires. Ces deux types évoluent par différentes voies génétiques, affectent les patients à différents âges et ont des pronostics différents. Les GBM primaires (*de novo*) représentent 80% des GBM et surviennent généralement chez des patients âgés (âge moyen : 62 ans). Les GBM secondaires se développent à partir d'un astrocytome ou d'un oligodendrogliome de grade inférieur et surviennent chez des patients plus jeunes (âge moyen: 45 ans) [141].

La classification de l'OMS 2016, ayant intégré le diagnostic moléculaire, a défini les mutations d'*IDH* comme critère pour distinguer les différents types de GBM. Cette classification a été intégrée dans le service d'anatomie-pathologique du CHU Constantine par immunohistochimie.

Les tumeurs non-GBM incluent différents types histologiques et grades OMS (de I à III). Leur distribution dans notre cohorte rejoint ce qui est connu dans la littérature, c'est-à-dire que leur fréquence augmente avec le grade de malignité et que les tumeurs astrocytaires sont les plus fréquentes suivies des tumeurs oligodendrogiales, des tumeurs mixtes (oligoastrocytomes) et des épendymomes [112, 117].

La dominance des tumeurs malignes par rapport aux gliomes de bas grade dans notre population est appuyée par la documentation, à l'instar de l'étude danoise dans laquelle les gliomes de haut grade représentent 85% contre 15% de tumeurs de bas grade [106]. La distribution de notre échantillon adhère donc globalement à ce qui est connu pour les gliomes.

## 2. Analyse moléculaire « cas-témoins »

Sur les 29 SNPs sélectionnés pour notre étude, 26 ont pu être analysés. Pour rappel, les SNPs identifiés par les GWAS sont localisés dans des régions non codantes et éparpillés sur la majorité des chromosomes (cf tableau 3 p 33). Ils ne doivent être considérés que comme marqueurs des zones génomiques et sont probablement en déséquilibre de liaison avec un ou plusieurs variants génétiques fonctionnels [64].

Les différents SNPs de notre étude ont été testés séparément puis, selon le modèle additif, le nombre total d'allèles à risque a été investigué pour une éventuelle association avec le risque de gliomes.

L'analyse individuelle des SNPs a révélé que le rs2736100 (5p15.33, *TERT*) est significativement lié à la susceptibilité et que le rs6010620 (20q13.33, *RTEL1*) et le rs4977756 (9p21.3, *CDKN2B-AS1*) ont des valeurs p significatives dans leur forme hétérozygote, le premier pour association et le second pour protection.

### **2.1. rs2736100 (5p15.33, *TERT*)**

Ainsi, cet SNP est le seul à avoir montré une association statistiquement significative avec la susceptibilité aux gliomes dans notre cohorte avec un odds ratio de 1,75 dans l'intervalle de confiance à 95% de [1,08-2,83] et une valeur p de 0,02.

Le rs2736100 est situé dans l'intron 2 du gène *TERT*. Ce gène code pour la sous-unité catalytique de la télomérase qui est une ribonucléoprotéine polymérase maintenant les extrémités des télomères par addition du motif répété TTAGGG. Son activation est une étape cruciale dans le développement d'environ 85% des cancers humains. Récemment, de nombreux rapports ont indiqué des effets oncogènes du *TERT* indépendamment de son rôle dans l'élongation des télomères [142, 143]. Long de 42 kb, ce gène est situé sur le chromosome 5 et comporte 16 exons. Sa région promotrice est considérée comme l'élément régulateur le plus important pour l'expression de la télomérase. [142, 144].

Ce SNP a été identifié pour la première fois dans la susceptibilité à la fibrose pulmonaire idiopathique [145] puis à la susceptibilité du cancer pulmonaire [146] avant d'être associé au risque de gliomes dès les deux premières GWAS [59, 61] et aux tumeurs de haut grade en

particulier [147]. L'association de ce SNP avec le risque de gliomes chez l'adulte a été confirmé [148]. Néanmoins, les résultats de Adel et al., [149] ont révélé que ce SNP était lié à une diminution du risque de tumeurs cérébrales pédiatriques contrairement aux autres SNPs testés dans cette l'étude. Une explication possible à ce résultats est que l'allèle mutant peut réguler à la baisse l'expression de la télomérase et, par conséquent, réduire le risque de tumeurs cérébrales [149]. Le rs2736100 a, d'autre part, été décrit dans la susceptibilité aux tumeurs des cellules germinales testiculaires [150], au risque du cancer colorectal [151], de l'ovaire [152] et plusieurs autres pathologies. Par ailleurs, cet SNP a été suggéré comme affectant la réponse des cellules cancéreuses à la fois aux inhibiteurs de *TERT* et aux agents antimétaboliques [153].

Le locus à risque 5p15.33 hébergeant le gène *TERT* abrite d'autres SNPs impliqués dans plusieurs types de cancers [154, 155]. Les variations à ce locus, fortement associées au risque de gliome, ont également été associées à des télomères plus long et à un risque élevé de gliome à un âge plus avancé au moment du diagnostic [64, 70, 156, 157]. Cependant, la dernière GWAS spécifique à l'âge n'a trouvé aucune différence dans l'effet estimé des variantes de *TERT* en fonction de l'âge [71]. L'association entre ce SNP et l'âge des patients était négative dans notre échantillon également.

## 2.2. rs6010620 (20q13.33, *RTEL1*) et rs4977756 (9p21.3, *CDKN2B-AS1*)

Ces deux variants à risque ont montré des valeurs p significatives dans leur forme hétérozygote : le rs6010620 (20q13.33, *RTEL1*) a montré une association avec le risque de gliomes et le rs4977756 (9p21.3, *CDKN2B-AS1*) a montré un effet protecteur contre la susceptibilité à ces tumeurs (Tableau 9).

**Tableau 9** : SNPs ayant montré une significativité dans leur forme hétérozygote

SNP	Génotype	Odds ratio	IC 95%	P
<b>rs6010620</b>	<i>AG</i>	2,35	1,06-5,2	0,03*
	<i>AA</i>	2,78	0,48-15,8	0,25
<b>rs4977756</b>	<i>GA</i>	0,48	0,23-0,98	0,04*
	<i>GG</i>	0,91	0,27-3,01	0,88

Le rs6010620, localisé dans l'intron 12 du gène *RTEL1* en 20q13.33 a été significativement associé au gliome de haut grade depuis les deux premières GWAS [59, 61] et à un âge plus avancé au moment du diagnostic [70]. Il était le seul marqueur significativement associé au risque de gliome familial dans l'étude de Melin et al. [158] et une association négative, quoique modeste, a été démontrée entre ce SNP et la longueur des télomères [99].

Des variations germinales dans la région 20q13.33 ont été associées à plusieurs cancers comme la susceptibilité au cancer colorectal (rs4925386) [159] et la dermatite atopique (rs6010620) [160]. De plus, une amplification du 20q13.33 est observée dans environ 30% des gliomes, le changement du nombre de copies étant en corrélation avec l'expression de *RTEL1* [59].

Le gène *RTEL1* (régulateur de l'hélicase d'élongation des télomères 1), comprenant 40 exons, code pour une ADN hélicase essentielle pour la régulation de la longueur des télomères et le maintien de l'intégrité génomique en empêchant la recombinaison homologe. *RTEL1* désassemble une variété de structures secondaires d'ADN pour faciliter les processus de réplication, de réparation et de recombinaison de l'ADN, contribuant ainsi au maintien de l'intégrité des télomères. [161, 162]. Sa perte est associée à des télomères raccourcis, des ruptures chromosomiques et des translocations [163]. Les cellules déficientes en *RTEL1* présentent un phénotype d'épuisement réplicatif, d'apoptose spontanée et de sénescence [164]. Les mutations héréditaires dans le *RTEL1* sont responsables du syndrome de Hoyeraal-Hreidarsson, une maladie mortelle caractérisée par un raccourcissement accéléré des télomères, une immunodéficience et des anomalies du développement [165].

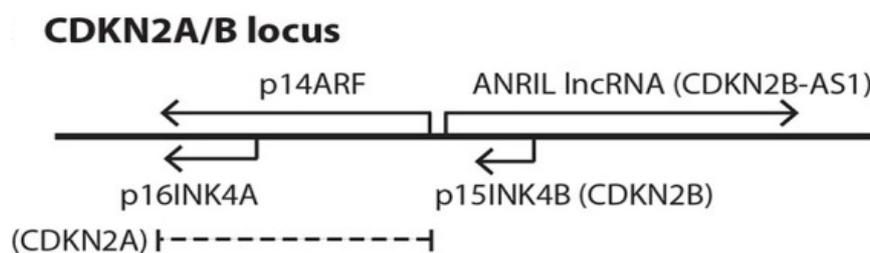
Au cours de la dernière décennie, des variants de *RTEL1* ont été identifiés comme étant associés à une diminution du risque de plusieurs cancers du cerveau et de maladies liées à l'âge. Il a également été démontré que l'interaction *RTEL1-PCNA* est essentielle pour la protection des cellules contre la tumorigenèse. Ces études ont toutes suggéré que le gène *RTEL1* pourrait fonctionner comme un gène suppresseur de tumeur. Cependant, d'autres auteurs ont récemment suggéré que *RTEL1* pourrait être considéré comme un oncogène [162, 166]. Ce gène pourrait donc changer de rôle en fonction du contexte.

Dans notre cohorte, le rs4977756, intronique au *CDKN2B-AS1*, est trouvé comme ayant un effet protecteur contre la maladie dans sa forme hétérozygote. Ce polymorphisme marqueur a été identifié par les deux premières GWAS en 2009 comme associé au risque de gliomes et

cette association est largement confirmée [59, 61]. Cependant, l'interaction de ce SNP avec l'allergie est décrite dans l'effet protecteur sur le risque de gliome [167]. Dans notre étude l'allergie n'a pas été prise en considération et la taille de l'échantillon nous empêche de tester de telles interactions.

Ce rs4977756 a été suggéré comme influençant aux stades précurseurs de la tumorigenèse du fait de son indépendance du grade de la tumeur [147]. Ceci appuie son lien négatif avec l'histologie et le grade des tumeurs dans notre cohorte. En outre, son association aux gliomes *TERT* mutés [168], à la susceptibilité aux tumeurs cérébrales pédiatriques [149] et à la méthylation globale de l'ADN dans les gliomes [169] a été rapportée, tout comme son lien au glaucome [170] et aux cancers du poumon [171].

Le gène *CDKN2B-AS1* (L'ARN anti-sens de *CDKN2B* également appelé *ANRIL* (Antisense non-coding RNA in the *INK4* Locus)) est un long ARN non codant identifié pour la première fois en 2006 dans un mélanome familial avec une délétion germinale importante (403 kb) au locus *CDKN2A/B* [172]. Ce locus (9p21.3) contient trois gènes codant pour des protéines (*CDKN2A*, *CDKN2B*, *MTAP*) et, dans leur antisens, l'ARNnc *ANRIL* (Figure 16). Le gène *CDKN2A* code pour les variants d'épissage p16<sup>INK4A</sup> et p14<sup>ARF</sup>, et le *CDKN2B* code pour p15<sup>INK4B</sup>. Le *MTAP* (*S-méthyl-5'-thioadénosine phosphorylase*, absent dans la figure) est situé à 192 kb à l'extrémité télomérique d'*ANRIL* et le *CDKN2B* est situé dans le premier intron d'*ANRIL*, dans une direction antisens [173, 174].



**Figure 19:** Organisation du locus 9p21.3 [174]

*ANRIL* est transcrit par l'ARN polymérase II puis soumis à un épissage alternatif d'une manière spécifique au tissu. Il a été impliqué dans la régulation de ses voisins suppresseurs de tumeurs *CDKN2A/B* ainsi que d'autres gènes à travers le génome par des mécanismes épigénétiques [99, 174, 175]. De nombreuses études montrent que les ARN non codants tels que *ANRIL* peuvent modifier l'expression des gènes codant pour la protéine associée par de

multiples mécanismes incluant l'ARN interférence, le remodelage de la chromatine ou la méthylation de l'ADN [176].

La région 9p21.3 comprenant le *CDKN2B-ASI*, le *MTAP* dont la délétion et l'inactivation ont été liées à la cancérogenèse [175] et les gènes suppresseurs de tumeurs *CDKN2A* et *CDKN2B*, est fréquemment mutée, délétée ou hyperméthylée dans une grande variété de tumeurs [59, 61, 174]. Le gène *CDKN2B-ASI* s'est avéré associé au risque de maladies multiples, notamment les gliomes [177].

Dans les cellules cancéreuses, le gain de fonction d'*ANRIL* augmente la prolifération, les métastases, la survie cellulaire et la transformation épithélio-mésenchymateuse, alors que la perte de fonction d'*ANRIL* diminue la taille et la croissance de la tumeur, l'invasion et la métastase et augmente l'apoptose et la sénescence. Plusieurs études suggèrent qu'*ANRIL* a non seulement un impact sur la biologie du cancer, mais joue également un rôle spécifique au type de cellule dans les maladies cardiovasculaires et métaboliques telles le diabète de type 2 et l'athérosclérose. Néanmoins, les connaissances sur sa fonction dans les cancers sont plus avancées que pour les tissus métaboliques [173, 174].

Une explication possible à la significativité des deux SNPs, rs6010620 (20q13.33, *RTEL1*) et rs4977756 (9p21.3, *CDKN2B-ASI*), uniquement dans leur forme hétérozygote est le nombre d'individus hétérozygotes bien supérieur aux mutés. Concernant l'effet protecteur du rs4977756 qui contredit ce qui est connu dans littérature, la taille réduite de notre échantillon nous empêche de tirer des conclusions.

### 2.3. Nombre total d'allèles

Selon le modèle additif le nombre total d'allèles à risque a été testé pour une éventuelle association avec la susceptibilité aux gliomes et une association statistiquement significative a été trouvée ( $p < 0,001$ ).

Le nombre total d'allèles à risque est une façon simplifiée de calculer ce qui est connu comme le score de risque polygénique « SRP » et qui est généralement calculée en tant que somme pondérée du nombre d'allèles à risque portés par un individu, où les allèles de risque et leurs poids sont définis par les loci, et leurs effets mesurés tels que détectés par des études

d'association à l'échelle du génome (GWAS). L'utilité du SRP est souvent évaluée en déterminant si, en combinaison avec des facteurs de risque cliniques, sépare la population en catégories avec des degrés de risque absolu suffisamment différents pour conduire la prise de décision clinique ou personnelle [178]. La plupart des variantes sont connues pour augmenter le risque relatif de gliome primaire chez l'adulte de 20% à 40%. Cependant, certains SNP ont un effet plus important comme le rs78378222 (*TP53*) qui confère un risque deux fois plus important (200%), et le rs557505857 sur le chromosome 8 qui confère un risque relatif six fois supérieur dans les astrocytomes IDH-mutés et les tumeurs oligodendrogiales (soit 600%) [179].

Nos résultats sont sous-jacents à l'hypothèse de *Knudson* qui stipule que le cancer est le résultat de l'accumulation de plusieurs mutations de l'ADN [180]. Par ailleurs, plusieurs études ont indiqué que chaque variant a un rôle indépendant dans la définition du risque de gliome et que le risque augmente avec l'augmentation du nombre d'allèles à risque [56, 59, 67, 156].

Machiela et ses collaborateurs [181] ont rapporté en 2015 que des variantes communes de susceptibilité avec des effets de petite taille contribuent cumulativement au cancer sporadique via un modèle polygénique. Ils ont également observé que les gènes ayant une fréquence de mutation plus élevée ont tendance à être plus proches du variant de susceptibilité le plus fortement associé et ont suggéré une interaction complexe entre la susceptibilité germinale et la mutation somatique, soulignant l'effet cumulatif de variants communs [181]. Les résultats d'une large étude chinoise menée par Zhao et ses collègues en 2016 ont révélé que les sujets porteurs d'au moins 6 allèles à risque avaient un risque deux fois plus élevé de développer un gliome par rapport à ceux porteurs d'au moins 1 allèle à risque et que ce risque était multiplié par 4 chez les individus porteurs d'au moins 7 allèles à risque [182].

Dans notre cohorte de cas nous avons 5 cas familiaux dont deux seulement ont pu être génotypés. Ils avaient un nombre total d'allèles à risque moyen (13 et 14) par rapport aux extrêmes (de 6 à 23), l'analyse n'a donc pu être poussée plus loin.

#### **2.4. SNPs non-associés**

Nous avons groupé dans le tableau qui suit les 23 SNPs n'ayant montré aucune association avec la susceptibilité aux gliomes dans notre échantillon.

**Tableau 10** : SNPs non-associés au risque de gliomes

SNP	Locus	Gène	OR	IC à 95%	p
RS12752552	1p31.3	<i>RAVER2</i>	0,18	0,02-1,67	0,2
RS12076373	1q44	<i>AKT3</i>	0,58	0,05-6,61	0,5
RS7572263	2q33.3	Près d' <i>IDHI</i>	2,10	0,72-6,14	0,3
RS11706832	3p14.1	<i>LRIG1</i>	0,88	0,31-2,5	0,4
RS1920116	3q26.2	<i>TERC</i>	1,28	0,17-9,49	0,5
RS2252586	7p11.2	<i>EGFR</i>	1,55	0,52-4,6	0,2
RS11979158	7p11.2	<i>EGFR</i>	1,12	0,37-1,61	0,5
RS55705857	8q24.21	<i>CCDC26</i>	1.379e-08	0-inf	0,3
RS1412829	9p21.3	<i>CDKN2B-AS1</i>	0,49	0,09-2,67	0,3
RS11598018	10q24.33	<i>OBFC1</i>	0,97	0,36-2,57	0,5
RS11196067	10q25.2	<i>VTIL1A</i>	0,90	0,56-1,45	0,7
RS11233250	11q14.1	Région intergénique	1,30	0,41-4,07	0,9
RS7107785	11q21	<i>MAML2</i>	0,65	0,23-1,78	0,7
RS648044	11q23.2	<i>ZBTB16</i>	1,46	0,43-4,99	0,6
RS498872	11q23.3	<i>PHLDB1</i>	0,66	0,19-2,23	0,9
RS12230172	12q21.2	Région intergénique	1,10	0,44-2,75	0,6
RS3851634	12q23.33	<i>POLR3B</i>	0,78	0,46-1,32	0,3
RS10131032	14q12	<i>AKAP6</i>	1,77	0,67-4,63	0,4
RS1801591	15q24.2	<i>ETFA</i>	2,33	0,67-8,10	0,3
RS3751667	16p13.3	<i>LMF1</i>	1,14	0,66-1,97	0,5
RS2562152	16p13.3	Près de <i>MPG</i>	1,49	0,85-2,58	0,2
RS10852606	16q12.1	<i>HEATR3</i>	0,35	0,11-1,12	0,5
RS2235573	22q13.1	<i>SLC16A8</i>	0,87	0,54-1,40	0,3

L'absence d'association entre ces polymorphismes marqueurs et le risque de gliomes ne peut être généralisée à la population. Des cohortes plus larges sont nécessaires pour tirer des conclusions solides.

### 3. Analyse de cas

L'association des SNPs avec les paramètres démographiques (sexe et âge) et cliniques (type histologique et grade de malignité) des patients a été testée par une régression logistique multinomiale et a donné les résultats montrés dans le tableau 11.

**Tableau 11** : Association entre SNPs et paramètres démographiques et cliniques

SNP	Sexe		Age		Type histologique		Grade	
	Hommes	Femmes	<50	≥50	GBM	Non-GBM	Bas grade	Haut grade
<b>RS2562152</b>								
Hétérozygote						0.049		
Muté		0.046						
<b>RS1801591</b>								
Hétérozygote	0.046			0.004				
<b>RS11979158</b>								
Hétérozygote				0.024	0.010			0.0007
Muté	0.026							
<b>RS648044</b>								
Hétérozygote				0.020				
Muté	0.002			0.026				
<b>RS12752552</b>								
Hétérozygote					0.010			0.049
Muté	0.0009							
<b>RS2736100</b>								
Muté								0.044
<b>RS11233250</b>								
Hétérozygote			0.029					
<b>RS2235573</b>								
Hétérozygote				0.026	0.034			0.022
Muté	0.021		0.012					
<b>RS4977756</b>								
Muté	0.031							
<b>RS12076373</b>								
Hétérozygote					0.018			0.022
<b>RS3751667</b>								
Hétérozygote				0.004	0.024			
<b>RS7572263</b>								
Muté			0.032					
<b>RS2252586</b>								
Hétérozygote			0.029					
Muté	0.020				0.028			
<b>RS6010620</b>								
Hétérozygote				0.011	0.017			
Muté					0.035			0.004
<b>RS498872</b>								
Hétérozygote	0.022			0.035				
Muté	0.035							
<b>RS10131032</b>								
Hétérozygote					0.011			

### 3.1. Associations avec le sexe

Nos résultats ont révélé une association positive entre le sexe des patients et 9 SNPs : 8 chez les hommes, et 1 chez les femmes (tableau 11). Jusqu'à récemment, la prévalence des gliomes plus importante chez les hommes que chez les femmes n'a pas pu être expliquée, même avec l'investigation des hormones sexuelles chez les femmes en tant que facteurs protecteurs.

La première GWAS sexe-spécifique a pu identifier l'association du rs11979158 en 7p11.2 chez les hommes uniquement ainsi qu'une large région en 3p21.31 chez les femmes seulement. De plus, le rs55705857 en 8q24.21 a été trouvé plus fortement associé chez les femmes que chez les hommes [67]. Dans notre cohorte, l'association du rs11979158 chez les hommes rejoint le résultat de la GWAS, quant au SNP associé chez les femmes (rs2562152), il est situé en 16p13.3, loin de la région identifiée par Ostrom et ses collègues [67].

Concernant le rs55705857, toute notre population est homozygote sauvage pour ce SNP, ceci peut être expliqué par la fréquence de l'allèle mineur dans la population mondiale (FAM : **0.02**) [183]. Les autres SNPs n'ont, pour le moment, pas été liés au sexe dans d'autres études.

### 3.2. Association à l'âge

Dix SNPs sont associés à l'âge dans notre cohorte ; trois chez les patients âgés de moins de 50 ans, un seul, le rs2235573 en 22q13.1, chez les 2 groupes d'âge, et 6 chez ceux âgés de 50 ans ou plus (tableau 11).

Parmi les SNPs associés chez les patients jeunes, les rs11233250 et rs7572263 ne sont associés qu'à l'âge dans notre cohorte :

Le rs11233250, localisé en 11q14.1, est l'un des 5 loci spécifiques aux GBM identifiés dans la GWAS de Melin et al., (2017) qui se trouve être la plus large jusqu'à présent [14]. Il est situé dans une région inter-génique sans candidats évidents à proximité et n'a pas été associé à l'histologie dans notre cohorte tout comme le SNP suivant.

Le rs7572263 en 2q33.3, près d'*IDH1* est l'un des 8 SNPs associés aux non-GBM dans la GWAS de 2017. Il est localisé dans l'intron 3 de *C2ORF80* à 50 kb du côté télomérique

d'*IDHI* [14, 99]. Le gène *C2ORF80* (chromosome 2 open reading frame 80) a été identifié pour la première fois en 2013 par Norling et al., dans une étude sur les désordres du développement sexuel [184]. Selon les données de l'atlas de protéines humaines (The Human Protein Atlas), les gliomes sont les seules tumeurs où l'expression de l'ARN de ce gène est conséquente. Par ailleurs, dans l'étude de Quintens et al. (2015), le *C2ORF80* était très fortement exprimé lors du développement normal du cerveau embryonnaire [185].

Le troisième SNP associé chez les patients de moins de 50 ans, le rs2252586 en 7p11.2, est également associé chez les hommes et les patients atteints de GBM. Tandis que le rs2235573 en 22q13.1, associé chez les patients jeunes dans sa forme muté et chez les plus de 50 ans dans sa forme hétérozygote, il est lié à tous les paramètres.

En ce qui concerne les SNP trouvés significatifs chez les patients âgés, nos résultats rejoignent ceux de la littérature dans l'association du rs6010620 (*RTELI*, 20q13.33) et du rs11979158 (*EGFR*, 7p11.2) [70, 71, 156]. A l'opposé, le rs498872 du *PHLDB1* en 11q23.3, trouvé chez ce même groupe d'âge dans notre cohorte, est connu pour son association chez les patients jeunes [70, 156]. Le rs6010620 est par ailleurs lié à la susceptibilité dans sa forme hétérozygote, tandis que le rs11979158 présente une association positive chez les hommes, les GBMs et les tumeurs de haut grade.

Le rs498872 ainsi que les rs1801591 et rs648044 sont associés au sexe en plus de leur association chez les patients du 2<sup>ème</sup> groupe d'âge ( $\geq 50$  ans) dans notre cohorte.

Le rs498872 en 11q23.3 a été identifié par l'équipe de Shete dans leur GWAS de 2009 [59]. A part son interaction avec l'asthme fournissant un effet protecteur sur les gliomes [167], il n'a, pour le moment, pas été trouvé dans d'autres pathologies. Ce SNP est intronique au gène *PHLDB1* dont le produit est un régulateur positif de l'activation de l'Akt qui est nécessaire au transport optimal du glucose induit par l'insuline. La sérine/thréonine kinase « Akt », également appelée protéine kinase B (PKB) est un nœud central de la signalisation cellulaire avec divers rôles, notamment la survie, la croissance, la prolifération, l'angiogenèse, le métabolisme et la migration des cellules [186]. La signalisation à l'insuline et la voie Akt jouent souvent un rôle important dans la progression du cancer [66, 99, 187].

Le SNP à risque rs1801591 (15q24.2, *ETFA*) a été associé à la susceptibilité aux gliomes dans la population chinoise et particulièrement dans le groupe des adultes [188], ce qui soutient partiellement nos résultats. Il a également été associé au non-GBM et spécialement aux tumeurs astrocytaires de grade II et aux gliomes *IDH*-mutés dans la GWAS de 2015 [13]. Une association négative de ce SNP avec le type histologique et le grade OMS est trouvée dans notre cohorte. Ce SNP est responsable de la substitution p.Thr171Ile dans l'*ETFA* (Electron Transfer Flavoprotein subunit Alpha), un gène qui participe à la bêta oxydation des acides gras mitochondriaux. Il a été rapporté que des mutations d'*ETFA* étaient une cause de l'acidémie II glutarique récessive caractérisée par une gliose [13].

Le rs648044 a été identifié pour la première fois dans la GWAS de 2015 menée par Kinnersley, comme spécifique aux non-GMBs et spécialement associé aux oligodendrogliomes de grade II [13]. Et dans l'étude de Labrèche et al., il a été associé aux tumeurs triple positives (*IDH*-mutées, promoteur du *TERT* muté et 1p/19q co-déléte) [189]. Le rs648044 est intronique au *ZBTB16* (Zinc finger and BTB domain containing 16) qui induit des changements épigénétiques par les modifications d'histones et la méthylation de l'ADN, régulant ainsi l'état de la chromatine. Ce gène est impliqué dans les processus sous-jacents à la pathogenèse du syndrome métabolique. L'expression modifiée du *ZBTB16* montre clairement son effet sur l'adipogenèse, l'hypertrophie et la fibrose cardiaques, les taux de lipides et la sensibilité à l'insuline [190].

Le dernier SNP associé chez les patients âgés, le rs3751667, est également associé à l'histologie et à la survie dans notre cohorte. Il est détaillé avec la survie et n'a pas été associé à l'âge dans d'autres études.

### 3.3. Association au type histologique

Le type de tumeur est associé à 9 variations germinales dans notre étude. Le lien spécifique entre certains variants à risque et le phénotype tumoral a été décrit pour la première fois en 2011 dans l'étude de Jenkins et al., qui ont trouvé que les SNPs de la région *CCDC26* (8q24) étaient fortement associés aux tumeurs oligodendrogliales alors que les variations de la région *RTEL* (20q13) étaient significativement associées aux glioblastomes. Ces observations génèrent des hypothèses sur les mécanismes possibles par lesquels des SNP

spécifiques (ou des altérations en déséquilibre de liaison avec de tels SNP) sont associés au développement du gliome [69].

Les SNPs associés à l'histologie dans notre cohorte diffèrent de ceux décrits par la littérature. Par exemple, en 16p13.3, le rs2562152 (près de *MPG*) trouvé chez les atteints de tumeurs non-GBM, est décrit comme spécifique aux GBMs dans l'étude de Melin et al., et inversement, le rs3751667 (intronique au *LMF1*) décrit comme spécifique aux non-GBMs et trouvé chez les GBM dans notre cohorte [14], tout comme le rs10131032 (14q12, *AKAP6*) identifiés par Melin et al., [14] et associé aux gliomes *IDH*-mutés dans l'étude de Labreche et al., [189]. Ce dernier SNP réside dans le gène *AKAP6* (Protein Kinase A–Anchoring Protein 6) qui est fortement exprimé dans diverses régions du cerveau et des muscles cardiaques et squelettiques où il se lie à la sous-unité régulatrice de la protéine kinase A (PKA) et ancre la PKA à la membrane nucléaire ou au réticulum sarcoplasmique ; ce gène est généralement délété dans les GBM [99, 191].

En 7p11.2, le rs2252586 et le rs11979158 sont associés aux GBM et aux tumeurs de haut grade pour le second, en plus de leur association à l'âge et au sexe dans notre cohorte. Ces résultats contredisent le rapport de Sanson et ses collaborateurs qui les a identifiés comme associés à tous les types de gliomes et n'a trouvé aucune corrélation entre ces SNPs et la stratification des tumeurs par grade OMS [56]. Dans ce locus, le gène du récepteur du facteur de croissance épidermique 1 « *EGFR* » est membre de la famille ErbB / *EGFR* qui est impliqué dans de multiples processus cellulaires, notamment la division, la migration, l'adhésion, la différenciation et l'apoptose des cellules. La dérégulation des composants de cette famille de récepteurs et de ligands responsables de ces processus fondamentaux peut donc provoquer le cancer et d'autres maladies. L'*EGFR* est bien connu pour jouer un rôle crucial dans l'initiation du GBM primaire et dans la progression du gliome de grade inférieur vers le grade IV; impliquant l'activation de l'*EGFR* en tant que facteur de la tumorigenèse gliale [56, 192].

Concernant les autres SNPs liés à l'histologie, les rs12752552, rs2235573 sont par ailleurs liés au grade de la tumeur, le rs12076373 à la survie et le rs6010620 à la susceptibilité.

### 3.4. Association au grade de malignité

L'association du grade OMS est significative pour 6 SNPs : tous sont trouvés chez les tumeurs de haut grade, aucun chez celles de bas grade. Nos résultats rejoignent ceux de la littérature pour les rs2736100 et rs6010620 positivement associés, ainsi que pour le rs4977756 dans son association négative [147].

Parmi ces 6 SNPs, les rs12752552, rs2235573 et rs12076373 sont également associés aux GBMs qui se trouvent être les tumeurs les plus agressives (grade IV). Ils ont été identifiés par la GWAS de 2017 [14]; les 2 premiers comme étant spécifiques aux GBM et le 3<sup>ème</sup> pour les non-GBM. Nos résultats corroborent donc avec ceux de Melin et al., pour les rs12752552 et rs2235573.

Le rs12752552 n'a, pour le moment, pas été identifié dans d'autres pathologies. Il est localisé en 1p31.3 dans le gène *RAVER2* qui fait partie de la famille des ribonucléoprotéines nucléaires hétérogènes (hnRNP). La protéine est un modulateur de l'activité de la protéine de liaison à la polypyrimidine (PTB : Polypyrimidine Tract Binding protein), l'un des répresseurs d'épissage les plus étudiés. Le *RAVER2* humain est exprimé de manière omniprésente dans les tissus adultes ainsi que dans les cellules en prolifération immortalisées, alors que chez les souris, les ARNm de *RAVER2* sont présents dans tous les tissus au cours du développement embryonnaire et dans les tissus pulmonaire et cérébral, en plus du muscle squelettique, du foie et des reins chez les souris adultes [193, 194]. L'allèle à risque du rs12752552 (T) est associé à une expression accrue de *JAK1* (Janus kinase 1) dans le cortex cérébral et l'hémisphère cérébelleux. *JAK1* est impliqué dans la contractilité de l'actomyosine dans les cellules tumorales et le stroma et une dysrégulation de la signalisation JAK – STAT jouerait un rôle important dans le développement du gliome de haut grade [99].

Le rs2235573 en 22q13.1, associé à tous les paramètres dans notre cohorte, est intronique au *SLC16A8* [14] et associé aux tumeurs avec mutation du promoteur *TERT* [189]. Les variations à ce locus ont été associées au mélanome (rs2284063), au cancer du sein (rs738321), de la vessie (rs1014971), et aux myélomes multiples (rs139371), qui semblent représenter des signaux indépendants [99]. *SLC16A8* (solute carrier family 16 member 8) joue un rôle important dans le maintien du pH des cellules épithéliales de pigment rétinien (RPE) métaboliquement actives en transportant les acides monocarboxyliques [195].

#### 4. Analyse de survie en fonction des SNPs

Au moment de l'analyse des données, 51 de nos patients étaient décédés ce qui représente 77,27% de la cohorte. La survie moyenne dans notre échantillon est de 19,7 mois, la médiane 12,9 mois dans l'intervalle de confiance à 95% [10,3-21,5]. Le taux de survie à 6 mois est de 15%.

La survie dans la cohorte est considérablement réduite comparativement à notre population d'étude épidémiologique pour laquelle la moyenne est de 50,9 mois et la médiane de 32,4 mois. Ceci peut s'expliquer d'une part par le temps de suivi relativement court (16,4 mois en moyenne) et d'autre part, par la différence de composition en types histologiques entre les deux populations. Le pourcentage de GBM par exemple est de 71% dans notre cohorte contre 49% dans l'étude épidémiologique sachant que c'est le type le plus agressif.

Comme attendu, nos résultats ont révélé que les patients âgés de 50 ans et plus présentent un risque de décès en survie globale multiplié par 2,26 (rapport de risque [HR] = 2,26, IC à 95% = 1,25 - 4,07,  $p = 0,006$ ) et que les tumeurs non-GBM sont associés à une diminution de 72% du risque de mortalité par rapport aux GBM (HR = 0,27, IC 95% = 0,13-0,56,  $p = 0,0003$ ). L'âge étant un facteur pronostic défavorable et les GBM connus pour être le type de gliomes le plus agressif.

Dans l'analyse univariée, trois SNP ont été associés à la survie des patients : le rs3851634 (12q23.33, *POLR3B*)  $p = 0,04$ , le rs3751667 (16p13.3, *LMFI*)  $p = 0,01$  et le rs12076373 (1q44, *AKT3*)  $p = 0,04$ . Cependant, en analyse multivariée, aucun d'entre eux n'a été confirmé. Ces SNPs éparpillés dans le génome sont décrits ci-dessous :

Le rs3851634 en 12q23.3 a été identifié par la GWAS de 2015 comme étant spécifique aux GBMs. Ce SNP se situe dans l'intron 12 du gène codant pour la sous-unité b de l'ARN polymérase III (*POLR3B*) qui est impliquée dans la transcription de petits ARN non codants et de courts éléments nucléaires intercalés, ainsi que de tous les ARN de transfert. Il a été montré que les mutations de *POLR3B* sont à l'origine de la leucoencéphalopathie hypomyélinisante récessive, mais rien n'indique jusqu'à présent que le gène serait impliqué dans le développement du gliome, bien que dans le sang périphérique, il existe une forte association entre l'expression

de *POLR3B* et le rs3851634 fournissant une base fonctionnelle possible de l'association 12q23.2 [13, 99].

Le rs3751667 est l'un des deux signaux d'association indépendants au locus au 16p13.3. Il est intronique au *LMFI* (Lipase Maturation Factor 1) qui est impliqué dans la maturation et le transport de la lipoprotéine lipase par la voie sécrétoire [14, 99]. Le second SNP est le rs2562152, spécifique aux GBMs, il est situé à 3 kb du côté télomérique du gène *MPG* codant pour une protéine de réparation des dommages de l'ADN qui inhibe la résistance au témozolomide dans le glioblastome [99, 196].

En 1q44, le rs12076373 se localise sur le huitième intron de *AKT3*, l'un des principaux effecteurs en aval de PI3K fortement exprimé au cours de la neurogenèse active [14, 197]. *AKT3* est un oncogène robuste fortement exprimé dans les gliomes. Il stimule leur progression et joue un rôle important dans la viabilité des tumeurs en activant les protéines de réparation de l'ADN. Une réparation améliorée de l'ADN peut permettre aux cellules endommagées ou mutées de survivre, contribuant ainsi à une résistance ultérieure aux radiations, au témozolomide et à la récurrence de la tumeur. *AKT3* peut donc représenter un facteur clé de résistance [198].

Le nombre total d'allèles à risque n'a pas été associé à la survie ( $p = 0,2$ ). Il était seulement associé au sous-type histologique et au grade de malignité ( $p < 0,001$ ).

Dans la littérature, plusieurs mutations somatiques et polymorphismes en dehors de ceux révélés par les GWAS, comme ceux des gènes *HOTAIR* et *XRCC5*, ont été identifiés comme marqueurs pronostics [199, 200]. Cependant, les SNPs identifiés par les GWAS n'ont montré qu'un seul résultat positifs quant-à l'association à la survie (rs78378222, 17p13.1, *TP53*) [201] et par conséquent, le score du risque génétique n'a pu être investigué.

5. SNPs non significatifs

Sur les 26 SNPs analysés dans notre étude, huit n'ont montré aucune association (tableau 12), ni avec la susceptibilité aux gliomes, ni aux paramètres étudiés, ni à la survie des patients. Ci-dessous un aperçu sur ces variants et leur loci.

**Tableau 12 :** Liste des SNPs négatifs dans toutes les associations

SNP	Locus	Gène
<b>rs11706832</b>	3p14.1	<i>LRIG1</i>
<b>rs1920116</b>	3q26.2	<i>TERC</i>
<b>rs1412829</b>	9p21.3	<i>CDKN2B-ASI</i>
<b>rs11598018</b>	10q24.33	<i>OBFC1</i>
<b>rs11196067</b>	10q25.2	<i>VTG1A</i>
<b>rs7107785</b>	11q21	<i>MAML2</i>
<b>rs12230172</b>	12q21.2	Région intergénique
<b>rs10852606</b>	16q12.1	<i>HEATR3</i>

Le locus 3p14.1, associé aux non-GBMs, abrite le rs11706832 dans l'intron 2 du gène *LRIG1*. *LRIG1* (leucine rich repeats and immunoglobulin like domains 1) est une protéine de surface cellulaire transmembranaire hautement exprimée dans le cerveau et qui régule négativement la voie de signalisation de l'EGFR. L'expression réduite de *LRIG1* a été liée à l'agressivité de la tumeur, à la résistance au témozolomide et à la radiorésistance [14, 202].

Le rs1920116 en 3q26.2 est intronique au gène *TERC* codant pour la composante ARN de la télomérase. Ce SNP a été identifié dans l'étude de Walsh et al., et a été fortement associé, avec les allèles du gène *TERT* et à des télomères plus longs [156]. Son association avec le risque de gliome était constante dans tous les sous-groupes de tumeurs dans une population chinoise et un effet spécifiques à l'âge de ce SNP sur le risque de développer un gliome ont été décrits chez les personnes âgées [203].

Le rs1412829 en 9p21.3 (*CDKN2B-ASI*) est le 2<sup>ème</sup> SNP étudié dans ce locus. Il n'a montré aucune association contrairement au rs11979158 qui était associé à tous les paramètres (âge, sexe, type histologique et grade OMS).

En 10q24.33, le rs11598018 est intronique au gène *OBFC1* (oligonucleotide/oligosaccharide-binding fold-containing protein 1) également appelé *STN1* et qui fonctionne dans le complexe CST (CTC1, STN1 et TEN1). Ce complexe limite l'action de la télomérase [204] et contribue au maintien du génome par la régulation de la longueur des télomères. Le CST accomplit ces tâches en bloquant les télomères et en régulant l'accès de la télomérase et de l'ADN polymérase alpha-primase (pol $\alpha$ -primase) aux télomères, processus étroitement coordonné avec le complexe shelterin qui est également essentiel à la fonction des télomères [205, 206]. Le rs11598018 est associé à une augmentation de la longueur des télomères leucocytaires, soutenant ainsi une relation entre génotype et biologie [14].

Le rs11196067 en 10q25.2, situé dans l'intron 7 du gène *VTI1A* (vesicle transport through interaction with t-SNAREs 1A), a été identifié pour la première fois dans l'étude de Kinnersley et al., en 2015 comme fortement associé au risque de tumeurs non-GBM spécialement les gliomes de grade II [13]. L'association entre ce SNP et le risque de gliomes (non-GBM) a été confirmé dans la population chinoise et spécialement dans le groupe des adultes [188]. D'autres SNPs en 10q25.2 ou région *VTI1A*-*TCF7L2* ont été associés à la susceptibilité du cancer du sein (rs7903146 et rs7904519), du poumon (rs7086803) et du cancer colorectal (rs11196172, rs12241008 et rs10506868) soulignant, ainsi, le rôle important de la région *VTI1A*-*TCF7L2* dans la pathogenèse du cancer humain. L'absence de corrélation entre les SNPs des différents types suggère l'existence de multiples loci à risque dans la région avec des effets spécifiques à un tissu. [13, 99, 207]. En plus de participer à la régulation du trafic stimulé par l'insuline des vésicules sécrétoires, le *VTI1A* joue un rôle clé dans le développement neuronal et dans le maintien sélectif de la libération spontanée de neurotransmetteurs. Il a été rapporté que la perte d'activité de *VTI1A* réduit les neurotransmetteurs spontanés à haute fréquence et la neurodégénérescence progressive rapide dans les ganglions périphériques [99, 207].

En 11q21, le SNP spécifique aux non-GBMs rs7107785 se situe dans le gène *MAML2*, codant pour la protéine de type Mastermind (Mastermind-like protein 2). Cette famille de protéines a été rapportée pour fonctionner en tant que co-activateurs de la signalisation de Notch [99]. La voie Notch dirige de nombreuses fonctions cellulaires, notamment la croissance et la différenciation cellulaires et la régulation de la maintenance des cellules souches. La dérégulation de cette voie est impliquée dans plusieurs cancers humains. De plus, l'activité de

Notch peut avoir un effet oncogène ou un suppresseur de tumeur. Son rôle essentiel dans l'oncogénèse en fait une cible d'intérêt pour le traitement des cancers [208, 209].

Le RS12230172 est situé en 12q21.2, dans un long ARN intergénique non codant (lincRNA), le RP11-114H23.1, de fonction actuellement inconnue [99].

Le RS10852606 en 16q12.1 identifié par la GWAS de Melin et al. a été associé à l'expression réduite de *HEATR3* (HEAT repeat containing 3) dans les tissus cérébraux. Ce gène reste très peu connu mais l'association de la variation à ce locus avec risque de cancer des testicules et de l'œsophage suggèrent des effets pléiotropes sur le risque tumoral [14].

#### 6. SNPs non analysés

Parmi les 29 SNPs sélectionnés (cf tableau 2, p 25), le rs4252707 en 1q32.1 (*MDM4*) n'a pu être génotypé pour des raisons techniques (les 700 pb sélectionnés n'ont pu être amplifiés), et les rs78378222 dans le gène *TP53* en 17p13.1 et rs4295627 dans le gène *CCDC26* en 8q24.21 n'étaient pas en équilibre de Hardy-Weinberg chez les témoins ce qui nous a laissé 26 SNPs à analyser.

L'identification des SNPs à risque par les GWAS se fait par NGS (Next Generation Sequencing) sur des milliers d'échantillons, ceci explique l'identification de variant dans des régions répétées ailleurs dans le génome tel le rs4252707 (1q32.1, *MDM4*), qui n'a pu être génotypé par la technique iPLEX Sequenom, ainsi que l'identification de variantes rares (FAM < 0.01) tel le rs78378222 (17p13.1, *TP53*). La taille réduite de notre échantillon était, par contre, probablement la raison de l'absence de l'équilibre de Hardy-Weinberg pour le rs4295627 (8q24.21, *CCDC26*) qui n'est pas un variant rare (FAM = 0,19).

Le rs4252707 (1q32.1, *MDM4*) n'a été décrit que dans les gliomes pour le moment. Il a été identifié par Melin et al., en 2017 comme spécifique aux non-GBM [14], et a été associé à la survie indépendamment de l'âge et du groupe moléculaire dans l'étude de Labreche et al., [189].

Le rs78378222 a été identifié pour la première fois par une GWAS comme associé au risque du carcinome cutané à cellules basales. Il a, par la suite, été associé à plusieurs cancers comme celui de la prostate, l'adénome colorectal, le carcinome épidermoïde de l'œsophage et le neuroblastome [210–212]. Ce SNP est le premier variant rare à être confirmé pour les gliomes et associé à une survie meilleure [201]. L'association à la susceptibilité aux gliomes a été confirmée mais pas à la survie [213]. Contrairement à la plupart des variantes qui augmentent le risque de 20 à 40%, le rs78378222 augmente le risque de 200% [179]. Il est impliqué dans l'initiation et la progression des gliomes [214] et a été associé aux tumeurs IDH-TERT mutées [189].

Le rs4295627 (8q24.21, *CCDC26*) est l'un des deux SNPs dans ce locus sélectionné pour cette étude. Il a été identifié pour la première fois dans la GWAS de Shete et al., [59] et son association avec la susceptibilité aux gliomes a été confirmée par plusieurs méta-analyses [215–217]. Cet SNP a été inversement associé au grade de la tumeur [147, 218] et a été trouvé fortement associé aux tumeurs oligodendrogiales au point de le suggérer comme marqueur moléculaire lorsque la chirurgie ou la biopsie s'avère difficile [69].

*Discussion  
générale*

## **Discussion générale**

L'objectif principal de cette thèse était de dresser un profil épidémiologique et génétique pour les patients atteints de gliomes dans une population de l'Est Algérien.

La première partie de ce travail avait pour but de décrire les paramètres démographiques et cliniques d'une large cohorte de patients du service d'oncologie-radiothérapie du CHU de Constantine et d'analyser leur survie. La seconde visait à investiguer la prédisposition génétique à cette pathologie que présentait les patients pouvant être recrutés.

Dans le volet épidémiologique, les hommes étaient prédominants avec un taux de 64%. La moyenne d'âge était de 44,6 ans et la médiane de 46 ans. Une augmentation du nombre de cas avec l'âge jusqu'à la soixantaine et une diminution au-delà a été observée. Les patients jeunes avaient beaucoup plus des lésions infra-tentorielles et de bas grade contrairement aux sujets âgés qui présentaient majoritairement des tumeurs supra-tentorielles et de haut grade. Cette répartition est globalement comparable aux données de la littérature [106, 219–222].

L'analyse de survie a, d'une part révélé des résultats qui rejoignent ce qui est connu pour les gliomes comme la diminution de la survie avec l'âge croissant [1, 6, 10, 15] et avec l'augmentation du degré de malignité [2, 3]. Elle a d'autre part, fait ressortir que la survie globale de notre cohorte était supérieure à celle des populations de pays développés, et que la survie des épendymomes était plus basse [117, 126]. En outre, nos patients ayant eu une résection partielle ont vécu plus longtemps que ceux ayant subi une exérèse large.

Le mauvais pronostic de nos patients avec des épendymomes contraste avec les données sur les autres populations malgré une distribution selon l'âge et le grade comparable à la littérature [126, 127, 223]. Ces tumeurs constituent un groupe assez spécifique dont la biologie est généralement davantage associée au site anatomique plutôt que d'être spécifique à l'âge et dont les facteurs pronostics peuvent différer entre enfants et adultes. Les études récentes ont révélé que les épendymomes comprenaient au moins 9 entités distinctes sur le plan moléculaire, démographique et clinique et ont remis en cause le concept selon lequel les grades histologiques prédisent le pronostic [30, 34, 223, 224]. Dans notre échantillon du volet génétique nous n'avions eu que 3 cas d'épendymomes, ce qui nous est très insuffisant pour caractériser ce type de gliomes.

La bonne survie globale dans notre population peut être expliquée par des patients déclarés guéris et qui ont donc arrêté leur suivi médical. Pour ces patients, à travers nos appels téléphoniques, nous avons obtenu des dates de dernière nouvelle plus récentes que celles portées sur leur dossier médical, chose qui n'est pas de routine dans les études sur bases de données.

A propos de la meilleure survie des patients ayant reçu une résection partielle comparativement à ceux ayant bénéficié d'une exérèse large, cela peut être dû à un biais de sélection ou bien à une évaluation biaisée de l'étendue de la résection du fait que l'IRM post-opératoire (48-72H) n'est pas faite systématiquement, en Algérie, faute de moyens. Des investigations plus approfondies sont nécessaires pour l'expliquer. L'âge relativement jeune de notre cohorte (moyenne : 44,6 ans) et l'inclusion de la tranche pédiatrique n'aurait pas affecté les taux de survie vu que la différence entre survie des enfants et des jeunes adultes n'est pas grande (moyenne : 76,1 et 70,6 mois respectivement). De plus, aucune association entre le type de chirurgie et l'âge ou le type de gliomes n'a été trouvée.

Concernant les facteurs pronostics, l'âge, le grade de malignité et le traitement oncologique sont les seuls prédicteurs de survie confirmés pour notre cohorte. Le type histologique, la localisation tumorale et le type de chirurgie n'ont pas été confirmés. Nos facteurs pronostics ne rejoignent donc, qu'en partie, les données sur les populations mondiales [2, 3, 17–19].

Dans le volet génétique, la susceptibilité aux gliomes était liée au rs2736100 (5p15.33, *TERT*) ainsi qu'aux rs6010620 (20q13.33, *RTEL1*) et rs4977756 (9p21.3, *CDKN2B-AS1*) dans leur forme hétérozygote. Trois autres SNPs : le rs3851634 (12q23.33, *POLR3B*), le rs3751667 (16p13.3, *LMF1*) et le rs12076373 (1q44, *AKT3*) ont été trouvés comme marqueurs pronostics mais cette association n'a pu être confirmée. Huit (8) des 26 SNPs analysés, n'ont montré aucune association dans cette étude. Le nombre total d'allèles à risque était lié à la susceptibilité aux gliomes, au type histologique et au grade de malignité mais pas à la survie des patients.

Le nombre restreint de SNPs associés au risque de gliomes dans notre cohorte par rapport au panel confirmé par les GWAS sur les populations européenne et américaine laisse suggérer que la base génétique de la susceptibilité aux gliomes dans notre population pourrait être différente mais chevauchante. Le fait que seulement environ 27% du risque familial des

GBM et environ 37% pour les non GBM, aient été identifiés jusqu'à présent [14] renforce notre théorie.

Les tests de corrélation des différents SNPs avec les caractéristiques des patients ont donné plusieurs résultats positifs. Cela rejoint la littérature où plusieurs SNPs ont été associés aux différents types histologiques et groupes moléculaires des tumeurs gliales [69, 189, 218, 225]. Cependant, pour le moment, leur utilisation en tant que marqueurs diagnostics reste difficilement réalisable.

À notre connaissance, notre travail constitue l'une des premières études sur l'épidémiologie et la génétique des gliomes en Algérie. La cohorte de la partie épidémiologique peut être considérée comme représentative de la population générale à l'égard de sa taille (366 dossiers) et au fait que le service d'oncologie-radiothérapie du CHU de Constantine prend en charge la majorité des cancéreux de l'Est Algérien. L'échantillon de l'étude génétique, même réduit, représente un exemple de la population algérienne et nord-africaine dont la composition génétique est un amalgame de différentes composantes ancestrales provenant du Moyen-Orient, d'Europe, d'Afrique subsaharienne et d'autochtones d'Afrique du Nord [226–230] et sur laquelle très peu d'études ont été faites.

Dans le volet épidémiologique, nous avons été limités par le nombre important de dossiers incomplets exclus de l'étude ainsi que par le manque de données, telles que le temps de récurrence qui aurait pu nous permettre de calculer la survie sans maladie et le statut de performance. Une autre limite était le nombre restreint d'études sur les gliomes dans le Maghreb et en Afrique avec lesquelles on aurait pu faire des comparaisons. De plus, la comparaison entre notre étude mono-centrique et des études multicentriques, parfois même multinationales peut être considérée comme biais.

Bien que l'identification des SNPs associés à une maladie par les études GWAS ait tendance à avoir une faible concordance lorsque différentes populations sont comparées [231], la taille réduite de notre échantillon nous a empêché de confirmer que les SNPs liés au risque de gliomes ne sont pas tous valables pour notre population et que certains de ces variants à risque sont associés à la survie des patients et non au risque de la pathologie. Un échantillon plus important est nécessaire pour identifier tous les SNPs réellement impliqués dans la susceptibilité aux gliomes dans la population de l'est algérien.

# *Conclusion*

## Conclusion

Dans cette étude sur les gliomes dans l'est algérien, nous avons constaté que notre cohorte est relativement jeune. Les gliomes de bas grade et les tumeurs infra-tentorielles sont plus fréquentes chez les patients jeunes, tandis que les gliomes de haut grade et les lésions supra-tentorielles sont plus répandues chez les sujets âgés.

L'analyse de survie a révélé des taux assez élevés (67,2% à 1 an et 38,1% à 5 ans) ainsi que trois facteurs pronostics majeurs, à savoir l'âge, le degré de malignité et la stratégie de traitement. Par ailleurs, nous avons constaté deux particularités liées à ce paramètre : les patients ayant eu une résection partielle ont vécu plus longtemps que ceux ayant eu une résection large, alors que les épendymomes ont présenté une survie intermédiaire dans notre population contrairement à ce qui est connu de leur bon pronostic.

La partie génétique a dévoilé que le rs2736100 (5p15.33, *TERT*) est le marqueur le plus puissant de la susceptibilité aux gliomes dans notre population. Deux autres polymorphismes marqueurs ont donné des valeurs p significatives dans leur forme hétérozygote. Le rs6010620 (20q13.33, *RTEL1*) a montré une association avec le risque de gliomes pendant que le rs4977756 (9p21.3, *CDKN2B-AS1*) a montré un effet protecteur contre la susceptibilité à ces tumeurs.

Trois variants germinaux sont associés à la survie des patients en analyse univariée : le rs3851634 (12q23.33, *POLR3B*), le rs3751667 (16p13.3, *LMF1*) et le rs12076373 (1q44, *AKT3*). Cependant, l'analyse multivariée ne les a pas confirmés. Le nombre total d'allèles à risque a été lié à la susceptibilité aux gliomes mais pas à la survie des patients.

Nos résultats indiquent donc que les variantes à risque pour les gliomes dans notre population pourraient être différentes de celles identifiées par les GWAS.

# *Perspectives*

## **Perspectives**

Toutes les particularités liées à la survie dans notre population, nécessitent des investigations plus approfondies pour élucider ce « mystère », notamment par rapport à la survie globale meilleure comparativement à celles des populations de pays développés.

Une étude sur le lien entre l'étendue de la résection et la survie en fonction de différents paramètres cliniques, démographiques et génétiques pourrait nous éclairer sur la bonne survie des patients ayant subi une exérèse subtotale par rapport à la résection large dans notre cohorte.

Des analyses plus larges et plus poussées sont nécessaires pour caractériser les épendymomes dont la distribution selon l'âge et le grade est comparable à la littérature et dont la survie contraste avec celle des autres populations [126, 127] et avec la globale dans la nôtre. L'analyse des épendymomes au sein de notre population, doit se faire non seulement sur le plan clinique, mais surtout sur le plan génétique, aussi bien somatique (sur des pièces tumorales) que germinale.

Le manque de significativité des 3 SNPs en tant que marqueurs pronostics ainsi que l'absence de telles associations dans la littérature nous conduit à l'exclusion de telles corrélations dans les études futures.

Le séquençage des régions 5p15.33, 9p21.3 et 20q13.33 pourrait révéler des mutations ponctuelles spécifiques à la population.

Une collaboration entre les services de neurochirurgie et d'anatomie-pathologique afin de constituer une banque d'échantillons biologiques serait une excellente base pour les études futures. Le commencement s'opérerait par l'intégration d'un consentement pour l'utilisation d'échantillons biologiques (sang et pièces tumorales) à des fins de recherche avec le consentement préalable à la chirurgie et la mise d'un congélateur à -80°C dans le service de neurochirurgie pour recevoir les échantillons sanguins prélevés en préopératoire sur tubes EDTA.

Par ce modeste travail, nous espérons avoir apporté une pierre à l'« édifice » de la recherche sur les gliomes et ouvert des horizons aux futurs chercheurs afin qu'ils apportent la leur.

*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques

1. Ostrom QT, Gittleman H, Liao P, et al (2017) CBTRUS Statistical Report: Primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2010-2014. *Neuro-oncology* 19:v1–v88. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nox158>
2. Miranda-Filho A, Piñeros M, Soerjomataram I, et al (2017) Cancers of the brain and CNS: global patterns and trends in incidence. *Neuro Oncol* 19:270–280. <https://doi.org/10.1093/neuonc/now166>
3. Bondy ML, Scheurer ME, Malmer B, et al (2008) Brain tumor epidemiology: consensus from the Brain Tumor Epidemiology Consortium. *Cancer* 113:1953–1968. <https://doi.org/10.1002/cncr.23741>
4. Gu J, Liu Y, Kyritsis AP, Bondy ML (2009) Molecular epidemiology of primary brain tumors. *Neurotherapeutics* 6:427–435. <https://doi.org/10.1016/j.nurt.2009.05.001>
5. Ostrom QT, Bauchet L, Davis FG, et al (2014) The epidemiology of glioma in adults: a “state of the science” review. *Neuro-oncology* 16:896–913. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nou087>
6. Carlberg M, Hardell L (2014) Decreased survival of glioma patients with astrocytoma grade IV (glioblastoma multiforme) associated with long-term use of mobile and cordless phones. *Int J Environ Res Public Health* 11:10790–10805. <https://doi.org/10.3390/ijerph111010790>
7. Carlberg M, Hardell L (2017) Evaluation of Mobile Phone and Cordless Phone Use and Glioma Risk Using the Bradford Hill Viewpoints from 1965 on Association or Causation. *Biomed Res Int* 2017:. <https://doi.org/10.1155/2017/9218486>
8. de Vocht F (2016) Inferring the 1985-2014 impact of mobile phone use on selected brain cancer subtypes using Bayesian structural time series and synthetic controls. *Environ Int* 97:100–107. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.10.019>
9. Lehrer S, Green S, Rendo A, Rosenzweig KE (2015) Measles may be a Risk Factor for Malignant Brain Tumors. *Brain Tumor Res Treat* 3:65–67. <https://doi.org/10.14791/btrt.2015.3.2.65>
10. Johnson KJ, Hainfellner JA, Lau CC, et al (2016) Immune factors and viral interactions in brain cancer etiology and outcomes, The 2016 Brain Tumor Epidemiology Consortium Meeting report. *Clin Neuropathol* 35:280–286. <https://doi.org/10.5414/NP300985>
11. Shete S, Hosking FJ, Robertson LB, et al (2009) Genome-wide association study identifies five susceptibility loci for glioma. *Nat Genet* 41:899–904. <https://doi.org/10.1038/ng.407>

12. Wrensch M, Jenkins RB, Chang JS, et al (2009) Variants in the CDKN2B and RTEL1 regions are associated with high-grade glioma susceptibility. *Nat Genet* 41:905–908. <https://doi.org/10.1038/ng.408>
13. Kinnersley B, Labussière M, Holroyd A, et al (2015) Genome-wide association study identifies multiple susceptibility loci for glioma. *Nat Commun* 6:. <https://doi.org/10.1038/ncomms9559>
14. Melin BS, Barnholtz-Sloan JS, Wrensch MR, et al (2017) Genome-wide association study of glioma subtypes identifies specific differences in genetic susceptibility to glioblastoma and non-glioblastoma tumors. *Nat Genet* 49:789–794. <https://doi.org/10.1038/ng.3823>
15. Tortora GJ, Derrickson B (2007) *Principes d’anatomie et de physiologie*, de boeck. John Wiley & Sons, Inc
16. Kamina P (2013) *Système nerveux*. In: *L’essentiel en ANATOMIE*, Maloine. pp 294–325
17. Schwegler J, Lucius R (2013) *Le corps humain: anatomie et physiologie*, Maloine
18. Laug D, Glasgow SM, Deneen B (2018) A Glial Blueprint for Gliomagenesis. *Nat Rev Neurosci* 19:393–403. <https://doi.org/10.1038/s41583-018-0014-3>
19. Lu QR, Qian L, Zhou X (2019) Developmental origins and oncogenic pathways in malignant brain tumors. *WIREs Dev Biol* 8:e342. <https://doi.org/10.1002/wdev.342>
20. Lee JH, Lee JE, Kahng JY, et al (2018) Human glioblastoma arises from subventricular zone cells with low-level driver mutations. *Nature* 560:243–247. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0389-3>
21. Azzarelli R, Simons BD, Philpott A (2018) The developmental origin of brain tumours: a cellular and molecular framework. *Development* 145:. <https://doi.org/10.1242/dev.162693>
22. Bready D, Placantonakis DG (2019) Molecular Pathogenesis of Low-Grade Glioma. *Neurosurgery Clinics of North America* 30:17–25. <https://doi.org/10.1016/j.nec.2018.08.011>
23. Park S-H, Won J, Kim S-I, et al (2017) Molecular Testing of Brain Tumor. *J Pathol Transl Med* 51:205–223. <https://doi.org/10.4132/jptm.2017.03.08>
24. Reifenberger G, Wirsching H-G, Knobbe-Thomsen CB, Weller M (2017) Advances in the molecular genetics of gliomas - implications for classification and therapy. *Nat Rev Clin Oncol* 14:434–452. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2016.204>
25. Reiter-Brennan C, Semmler L, Klein A (2018) The effects of 2-hydroxyglutarate on the tumorigenesis of gliomas. *Contemp Oncol (Pozn)* 22:215–222. <https://doi.org/10.5114/wo.2018.82642>

26. Appin CL, Brat DJ (2015) Molecular Pathways in Gliomagenesis and Their Relevance to Neuropathologic Diagnosis: Advances In Anatomic Pathology 22:50–58. <https://doi.org/10.1097/PAP.0000000000000048>
27. Alentorn A, Labussière M, Sanson M, et al (2013) Génétique et gliomes cérébraux. La Presse Médicale 42:806–813. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2012.05.013>
28. Talagas M, Marcorelles P, Uguen A, et al (2012) Identification of a novel population in high-grade oligodendroglial tumors not deleted on 1p/19q using array CGH. J Neurooncol 109:405–413. <https://doi.org/10.1007/s11060-012-0909-1>
29. Ray M, Goldstein S, Zhou S, et al (2013) Discovery of structural alterations in solid tumor oligodendroglioma by single molecule analysis. BMC Genomics 14:505. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-505>
30. Wu J, Armstrong TS, Gilbert MR (2016) Biology and management of ependymomas. Neuro-Oncology 18:902–913. <https://doi.org/10.1093/neuonc/now016>
31. Yao Y, Mack SC, Taylor MD (2011) Molecular genetics of ependymoma. Chin J Cancer 30:669–681. <https://doi.org/10.5732/cjc.011.10129>
32. Ferris SP, Hofmann JW, Solomon DA, Perry A (2017) Characterization of gliomas: from morphology to molecules. Virchows Arch 471:257–269. <https://doi.org/10.1007/s00428-017-2181-4>
33. Mack SC, Taylor MD (2009) The genetic and epigenetic basis of ependymoma. Childs Nerv Syst 25:1195–1201. <https://doi.org/10.1007/s00381-009-0928-1>
34. Mack SC, Taylor MD (2017) Put away your microscopes: The ependymoma molecular era has begun. Curr Opin Oncol 29:443–447. <https://doi.org/10.1097/CCO.0000000000000411>
35. Kondo T (2017) Molecular mechanisms involved in gliomagenesis. Brain Tumor Pathol 34:1–7. <https://doi.org/10.1007/s10014-017-0278-8>
36. Crespo I, Vital AL, Gonzalez-Tablas M, et al (2015) Molecular and Genomic Alterations in Glioblastoma Multiforme. Am J Pathol 185:1820–1833. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.02.023>
37. Delgado-López PD, Saiz-López P, Gargini R, et al (2020) A comprehensive overview on the molecular biology of human glioma: what the clinician needs to know. Clin Transl Oncol. <https://doi.org/10.1007/s12094-020-02340-8>
38. D'Alessio A, Proietti G, Sica G, Scicchitano BM (2019) Pathological and Molecular Features of Glioblastoma and Its Peritumoral Tissue. Cancers (Basel) 11:. <https://doi.org/10.3390/cancers11040469>
39. Khani P, Nasri F, Khani Chamani F, et al (2019) Genetic and epigenetic contribution to astrocytic gliomas pathogenesis. J Neurochem 148:188–203. <https://doi.org/10.1111/jnc.14616>

40. Pop S, Enciu A-M, Necula LG, Tanase C (2018) Long non-coding RNAs in brain tumours: Focus on recent epigenetic findings in glioma. *J Cell Mol Med* 22:4597–4610. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13781>
41. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al (2015) Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 136:E359-386. <https://doi.org/10.1002/ijc.29210>
42. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al (2018) Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 68:394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
43. Bauchet L, Ostrom QT (2019) Epidemiology and Molecular Epidemiology. *Neurosurgery Clinics* 30:1–16. <https://doi.org/10.1016/j.nec.2018.08.010>
44. Ostrom QT, Cioffi G, Gittleman H, et al (2019) CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2012-2016. *Neuro-oncology* 21:v1–v100. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noz150>
45. Leece R, Xu J, Ostrom QT, et al (2017) Global incidence of malignant brain and other central nervous system tumors by histology, 2003–2007. *Neuro Oncol* 19:1553–1564. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nox091>
46. Baan R, Grosse Y, Lauby-Secretan B, et al (2011) Carcinogenicity of radiofrequency electromagnetic fields. *The Lancet Oncology* 12:624–626. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(11\)70147-4](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(11)70147-4)
47. Carlberg M, Hardell L (2017) Evaluation of Mobile Phone and Cordless Phone Use and Glioma Risk Using the Bradford Hill Viewpoints from 1965 on Association or Causation. *Biomed Res Int* 2017:. <https://doi.org/10.1155/2017/9218486>
48. Karipidis K, Elwood M, Benke G, et al (2018) Mobile phone use and incidence of brain tumour histological types, grading or anatomical location: a population-based ecological study. *BMJ Open* 8:e024489. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-024489>
49. Olsson A, Bouaoun L, Auvinen A, et al (2019) Survival of glioma patients in relation to mobile phone use in Denmark, Finland and Sweden. *J Neurooncol* 141:139–149. <https://doi.org/10.1007/s11060-018-03019-5>
50. Li X, Cao H, Liu Y (2018) Genetic epidemiology and risk factors for brain tumors. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 43:345–353. <https://doi.org/10.11817/j.issn.1672-7347.2018.04.003>
51. McNeill KA (2016) Epidemiology of Brain Tumors. *Neurol Clin* 34:981–998. <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2016.06.014>
52. Wiedmann MKH, Brunborg C, Di Ieva A, et al (2017) The impact of body mass index and height on the risk for glioblastoma and other glioma subgroups: a large prospective cohort study. *Neuro-oncology* 19:976–985. <https://doi.org/10.1093/neuonc/now272>

53. Howell AE, Robinson JW, Wootton RE, et al (2020) Testing for causality between systematically identified risk factors and glioma: a Mendelian randomization study. *BMC Cancer* 20:508. <https://doi.org/10.1186/s12885-020-06967-2>
54. Ahn S, Han K-D, Park Y-M, et al (2020) Cigarette Smoking Is Associated with Increased Risk of Malignant Gliomas: A Nationwide Population-Based Cohort Study. *Cancers (Basel)* 12:. <https://doi.org/10.3390/cancers12051343>
55. Malmer B, Adatto P, Armstrong G, et al (2007) GLIOGENE an International Consortium to Understand Familial Glioma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 16:1730–1734. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-07-0081>
56. Sanson M, Hosking FJ, Shete S, et al (2011) Chromosome 7p11.2 (EGFR) variation influences glioma risk. *Hum Mol Genet* 20:2897–2904. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddr192>
57. Walsh KM, Anderson E, Hansen HM, et al (2013) Analysis of 60 Reported Glioma Risk SNPs Replicates Published GWAS Findings but Fails to Replicate Associations From Published Candidate-Gene Studies. *Genet Epidemiol* 37:222–228. <https://doi.org/10.1002/gepi.21707>
58. Liu Y, Shete S, Hosking F, et al (2010) Genetic Advances in Glioma: Susceptibility Genes and Networks. *Curr Opin Genet Dev* 20:239–244. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2010.02.001>
59. Shete S, Hosking FJ, Robertson LB, et al (2009) Genome-wide association study identifies five susceptibility loci for glioma. *Nat Genet* 41:899–904. <https://doi.org/10.1038/ng.407>
60. LU J, G. BURNETT M, SHPAK M (2016) A Comparative Study of the Molecular Characteristics of Familial Gliomas and Other Cancers. *Cancer Genomics Proteomics* 13:467–474
61. Wrensch M, Jenkins RB, Chang JS, et al (2009) Variants in the CDKN2B and RTEL1 regions are associated with high grade glioma susceptibility. *Nat Genet* 41:905–908. <https://doi.org/10.1038/ng.408>
62. Chen H, Chen G, Li G, et al (2019) Two novel genetic variants in the STK38L and RAB27A genes are associated with glioma susceptibility. *International Journal of Cancer* 145:2372–2382. <https://doi.org/10.1002/ijc.32179>
63. Enciso-Mora V, Hosking FJ, Kinnersley B, et al (2013) Deciphering the 8q24.21 association for glioma. *Hum Mol Genet* 22:2293–2302. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt063>
64. Melin B, Jenkins R (2013) Genetics in glioma- lessons learned from genome wide association studies. *Curr Opin Neurol* 26:688–692. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000033>
65. Jenkins RB, Xiao Y, Sicotte H, et al (2012) A low frequency variant at 8q24.21 is strongly associated with risk of oligodendroglial tumors and IDH1 or IDH2 mutated astrocytomas. *Nat Genet* 44:1122–1125. <https://doi.org/10.1038/ng.2388>

66. Chen H, Sun B, Zhao Y, et al (2012) Fine Mapping of a Region of Chromosome 11q23.3 Reveals Independent Locus Associated with Risk of Glioma. *PLoS ONE* 7:e52864. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052864>
67. GliomaScan consortium, Ostrom QT, Kinnersley B, et al (2018) Sex-specific glioma genome-wide association study identifies new risk locus at 3p21.31 in females, and finds sex-differences in risk at 8q24.21. *Scientific Reports* 8:. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24580-z>
68. Ostrom QT, Coleman W, Huang W, et al (2019) Sex-specific gene and pathway modeling of inherited glioma risk. *Neuro-oncology* 21:71–82. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noy135>
69. Jenkins RB, Wrensch MR, Johnson D, et al (2011) Distinct germline polymorphisms underlie glioma morphologic heterogeneity. *Cancer Genet* 204:13–18. <https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2010.10.002>
70. Walsh KM, Rice T, Decker PA, et al (2013) Genetic variants in telomerase-related genes are associated with an older age at diagnosis in glioma patients: evidence for distinct pathways of gliomagenesis. *Neuro Oncol* 15:1041–1047. <https://doi.org/10.1093/neuonc/not051>
71. Ostrom QT, Kinnersley B, Armstrong G, et al (2018) Age-specific genome-wide association study in glioblastoma identifies increased proportion of ‘lower grade glioma’-like features associated with younger age: Age-specific glioma GWAS. *International Journal of Cancer* 143:2359–2366. <https://doi.org/10.1002/ijc.31759>
72. Eckel-Passow JE, Decker PA, Kosel ML, et al (2019) Using germline variants to estimate glioma and subtype risks. *Neuro-oncology* 21:451–461. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noz009>
73. Wu WY-Y, Johansson G, Wibom C, et al (2019) The Genetic Architecture of Gliomagenesis-Genetic Risk Variants Linked to Specific Molecular Subtypes. *Cancers (Basel)* 11:. <https://doi.org/10.3390/cancers11122001>
74. Atkins I, Kinnersley B, Ostrom QT, et al (2019) Transcriptome-Wide Association Study Identifies New Candidate Susceptibility Genes for Glioma. *Cancer Res* 79:2065–2071. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-2888>
75. Louis DN (2012) The next step in brain tumor classification: “Let us now praise famous men”...or molecules? *Acta Neuropathol* 124:761–762. <https://doi.org/10.1007/s00401-012-1067-4>
76. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, et al (2016) The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol* 131:803–820. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1545-1>
77. Huse JT, Aldape KD (2014) The Evolving Role of Molecular Markers in the Diagnosis and Management of Diffuse Glioma. *Clinical Cancer Research* 20:5601–5611. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-0831>

78. Bush NAO, Chang SM, Berger MS (2017) Current and future strategies for treatment of glioma. *Neurosurg Rev* 40:1–14. <https://doi.org/10.1007/s10143-016-0709-8>
79. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al (2007) The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. *Acta Neuropathol* 114:97–109. <https://doi.org/10.1007/s00401-007-0243-4>
80. Ahmed R, Oborski MJ, Hwang M, et al (2014) Malignant gliomas: current perspectives in diagnosis, treatment, and early response assessment using advanced quantitative imaging methods. *Cancer Management and Research* 6:149. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S54726>
81. KOMORI T (2017) The 2016 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System: The Major Points of Revision. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 57:301–311. <https://doi.org/10.2176/nmc.ra.2017-0010>
82. Kristensen BW, Priesterbach-Ackley LP, Petersen JK, Wesseling P (2019) Molecular pathology of tumors of the central nervous system. *Ann Oncol* 30:1265–1278. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz164>
83. Paul Y, Mondal B, Patil V, Somasundaram K (2017) DNA methylation signatures for 2016 WHO classification subtypes of diffuse gliomas. *Clin Epigenetics* 9:. <https://doi.org/10.1186/s13148-017-0331-9>
84. WANG L, ZHANG L, SHEN W, et al (2016) High expression of VEGF and PI3K in glioma stem cells provides new criteria for the grading of gliomas. *Exp Ther Med* 11:571–576. <https://doi.org/10.3892/etm.2015.2906>
85. Lasocki A, Tsui A, Tacey MA, et al (2015) MRI Grading versus Histology: Predicting Survival of World Health Organization Grade II–IV Astrocytomas. *American Journal of Neuroradiology* 36:77–83. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A4077>
86. Chang SM, Cahill DP, Aldape KD, Mehta MP (2016) Treatment of Adult Lower-Grade Glioma in the Era of Genomic Medicine. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 35:75–81. [https://doi.org/10.1200/EDBK\\_158869](https://doi.org/10.1200/EDBK_158869)
87. Nasser MM, Mehdipour P (2018) Exploration of Involved Key Genes and Signaling Diversity in Brain Tumors. *Cell Mol Neurobiol* 38:393–419. <https://doi.org/10.1007/s10571-017-0498-9>
88. Diwanji TP, Engelman A, Snider JW, Mohindra P (2017) Epidemiology, diagnosis, and optimal management of glioma in adolescents and young adults. *Adolesc Health Med Ther* 8:99–113. <https://doi.org/10.2147/AHMT.S53391>
89. Jooma R, Waqas M, Khan I (2019) Diffuse low-grade glioma – Changing concepts in diagnosis and management: A review. *Asian Journal of Neurosurgery* 14:356. [https://doi.org/10.4103/ajns.AJNS\\_24\\_18](https://doi.org/10.4103/ajns.AJNS_24_18)
90. O’Neill BE, Hochhalter CB, Carr C, et al (2018) Advances in Neuro-Oncology Imaging Techniques. *TOJ* 18:236–241. <https://doi.org/10.31486/toj.17.0062>

91. Khosla D (2016) Concurrent therapy to enhance radiotherapeutic outcomes in glioblastoma. *Ann Transl Med* 4:54. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2305-5839.2016.01.25>
92. Martin V, Moyal É, Delannes M, et al (2013) Radiothérapie des tumeurs cérébrales : quelles marges ? *Cancer/Radiothérapie* 17:434–443. <https://doi.org/10.1016/j.canrad.2013.07.136>
93. Goldbrunner R, Ruge M, Kocher M, et al (2018) The Treatment of Gliomas in Adulthood. *Dtsch Arztebl Int* 115:356–364. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2018.0356>
94. Uhm JH, Porter AB (2017) Treatment of Glioma in the 21st Century: An Exciting Decade of Postsurgical Treatment Advances in the Molecular Era. *Mayo Clinic Proceedings* 92:995–1004. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2017.01.010>
95. Xiong L, Wang F, Qi Xie X (2019) Advanced treatment in high-grade gliomas. *J BUON* 24:424–430
96. Zhang H, Wang R, Yu Y, et al (2019) Glioblastoma Treatment Modalities besides Surgery. *J Cancer* 10:4793–4806. <https://doi.org/10.7150/jca.32475>
97. Berger TR, Wong ET (2020) Tumor treating fields in neuro-oncology: integration of alternating electric fields therapy into promising treatment strategies. *Chin Clin Oncol*. <https://doi.org/10.21037/cco.2020.02.04>
98. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 16:1215
99. Kinnersley B, Houlston RS, Bondy ML (2018) Genome-Wide Association Studies in Glioma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 27:418–428. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-17-1080>
100. Oeth P, Beaulieu M, Park C, Kosman D (2005) iPLEX™ Assay: Increased Plexing Efficiency and Flexibility for MassARRAY□ System Through Single Base Primer Extension with Mass-Modified Terminators. 12
101. 51-20061R3.0\_iPLEX\_Chemistry\_App\_Note\_0216\_WEB.pdf
102. Netgen Quels bénéfices pour les cliniciens de la mise en place du MALDI-TOF/MS dans le laboratoire de bactériologie ? In: *Revue Médicale Suisse*. <https://www.revmed.ch/RMS/2014/RMS-N-450/Quels-benefices-pour-les-cliniciens-de-la-mise-en-place-du-MALDI-TOF-MS-dans-le-laboratoire-de-bacteriologie>. Accessed 4 Nov 2018
103. Courcol R (2009) Quelles utilisations de la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF en microbiologie médicale ? *Revue Francophone des Laboratoires* 2009:61–64. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(09\)70251-5](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(09)70251-5)
104. Dragan AI, Casas-Finet JR, Bishop ES, et al (2010) Characterization of PicoGreen Interaction with dsDNA and the Origin of Its Fluorescence Enhancement upon Binding. *Biophys J* 99:3010–3019. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2010.09.012>

105. Trabelsi S, Brahim DH-B, Ladib M, et al (2014) Glioma epidemiology in the central Tunisian population: 1993-2012. *Asian Pac J Cancer Prev* 15:8753–8757
106. Rasmussen BK, Hansen S, Laursen RJ, et al (2017) Epidemiology of glioma: clinical characteristics, symptoms, and predictors of glioma patients grade I-IV in the the Danish Neuro-Oncology Registry. *J Neurooncol* 135:571–579. <https://doi.org/10.1007/s11060-017-2607-5>
107. Yang P, Wang Y, Peng X, et al (2013) Management and survival rates in patients with glioma in China (2004-2010): a retrospective study from a single-institution. *J Neurooncol* 113:259–266. <https://doi.org/10.1007/s11060-013-1103-9>
108. Yuan Y, Ross J, Shi Q, Davis FG (2017) Conditional survival after a diagnosis of malignant brain tumour in Canada: 2000-2008. *Curr Oncol* 24:e341–e347. <https://doi.org/10.3747/co.24.3579>
109. Berntsson SG, Merrell RT, Amirian ES, et al (2018) Glioma-related seizures in relation to histopathological subtypes: a report from the glioma international case–control study. *J Neurol* 265:1432–1442. <https://doi.org/10.1007/s00415-018-8857-0>
110. Ndubuisi CA, Ohaegbulam SC, Chikani MO, et al (2017) Some characteristics of gliomas managed at a Neurosurgery centre in Nigeria. *Niger Postgrad Med J* 24:44–47. [https://doi.org/10.4103/npmj.npmj\\_2\\_17](https://doi.org/10.4103/npmj.npmj_2_17)
111. Yang W, Warrington NM, Taylor SJ, et al (2019) Sex differences in GBM revealed by analysis of patient imaging, transcriptome, and survival data. *Sci Transl Med* 11:. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aao5253>
112. Darlix A, Zouaoui S, Rigau V, et al (2017) Epidemiology for primary brain tumors: a nationwide population-based study. *J Neurooncol* 131:525–546. <https://doi.org/10.1007/s11060-016-2318-3>
113. Bergqvist J, Iderberg H, Mesterton J, Henriksson R (2018) The effects of clinical and sociodemographic factors on survival, resource use and lead times in patients with high-grade gliomas: a population-based register study. *J Neurooncol* 139:599–608. <https://doi.org/10.1007/s11060-018-2899-0>
114. Deb S, Pendharkar AV, Schoen MK, et al (2017) The effect of socioeconomic status on gross total resection, radiation therapy and overall survival in patients with gliomas. *J Neurooncol* 132:447–453. <https://doi.org/10.1007/s11060-017-2391-2>
115. Dho Y-S, Jung K-W, Ha J, et al (2017) An Updated Nationwide Epidemiology of Primary Brain Tumors in Republic of Korea, 2013. *Brain Tumor Res Treat* 5:16–23. <https://doi.org/10.14791/btrt.2017.5.1.16>
116. Jazayeri SB, Rahimi-Movaghar V, Shokraneh F, et al (2013) Epidemiology of primary CNS tumors in Iran: a systematic review. *Asian Pac J Cancer Prev* 14:3979–3985

117. Crocetti E, Trama A, Stiller C, et al (2012) Epidemiology of glial and non-glial brain tumours in Europe. *European Journal of Cancer* 48:1532–1542. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2011.12.013>
118. WHO | Life expectancy increased by 5 years since 2000, but health inequalities persist. In: WHO. <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/health-inequalities-persist/en/>. Accessed 17 Jan 2018
119. Larjavaara S, Mäntylä R, Salminen T, et al (2007) Incidence of gliomas by anatomic location. *Neuro-oncology* 9:319–325. <https://doi.org/10.1215/15228517-2007-016>
120. Brodbelt A, Greenberg D, Winters T, et al (2015) Glioblastoma in England: 2007-2011. *Eur J Cancer* 51:533–542. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2014.12.014>
121. ALTWAIRGI AK, ALGAREEB W, YAHYA G, et al (2016) Outcome of patients with glioblastoma in Saudi Arabia: Single center experience. *Mol Clin Oncol* 4:756–762. <https://doi.org/10.3892/mco.2016.818>
122. Liang J, Lv X, Lu C, et al (2020) Prognostic factors of patients with Gliomas - an analysis on 335 patients with Glioblastoma and other forms of Gliomas. *BMC Cancer* 20:35. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-6511-6>
123. Shieh L-T, Guo H-R, Chang Y-K, et al (2020) Clinical implications of multiple glioblastomas: An analysis of prognostic factors and survival to distinguish from their single counterparts. *Journal of the Formosan Medical Association* 119:728–734. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2019.08.024>
124. Hollon T, Nguyen V, Smith BW, et al (2016) Supratentorial hemispheric ependymomas: an analysis of 109 adults for survival and prognostic factors. *Journal of Neurosurgery* 125:410–418. <https://doi.org/10.3171/2015.7.JNS151187>
125. Leeper H, Felicella MM, Walbert T (2017) Recent Advances in the Classification and Treatment of Ependymomas. *Curr Treat Options in Oncol* 18:55. <https://doi.org/10.1007/s11864-017-0496-7>
126. Villano JL, Parker CK, Dolecek TA (2013) Descriptive epidemiology of ependymal tumours in the United States. *Br J Cancer* 108:2367–2371. <https://doi.org/10.1038/bjc.2013.221>
127. Vera-Bolanos E, Aldape K, Yuan Y, et al (2015) Clinical course and progression-free survival of adult intracranial and spinal ependymoma patients. *Neuro Oncol* 17:440–447. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nou162>
128. Strauss I, Jonas-Kimchi T, Bokstein F, et al (2013) Gliomas of the posterior fossa in adults. *J Neurooncol* 115:401–409. <https://doi.org/10.1007/s11060-013-1231-2>
129. Bagley JH, Babu R, Friedman AH, Adamson C (2013) Improved survival in the largest national cohort of adults with cerebellar versus supratentorial low-grade astrocytomas. *Neurosurg Focus* 34:E7. <https://doi.org/10.3171/2012.12.FOCUS12343>

130. Amirian ES, Armstrong TS, Aldape KD, et al (2012) Predictors of survival among pediatric and adult ependymoma cases: a study using Surveillance, Epidemiology, and End Results data from 1973 to 2007. *Neuroepidemiology* 39:116–124. <https://doi.org/10.1159/000339320>
131. Choudry UK, Shaikh HI, Nisar A, et al (2018) Role of extent of resection on quality of life in patients with newly diagnosed GBM. *J Pak Med Assoc* 68:142–144
132. Ding X, Wang Z, Chen D, et al (2018) The prognostic value of maximal surgical resection is attenuated in oligodendroglioma subgroups of adult diffuse glioma: a multicenter retrospective study. *J Neurooncol* 140:591–603. <https://doi.org/10.1007/s11060-018-2985-3>
133. Sanai N, Berger MS (2008) Glioma extent of resection and its impact on patient outcome. *Neurosurgery* 62:753–764; discussion 264-266. <https://doi.org/10.1227/01.neu.0000318159.21731.cf>
134. Tang S, Liao J, Long Y (2019) Comparative assessment of the efficacy of gross total versus subtotal total resection in patients with glioma: A meta-analysis. *Int J Surg* 63:90–97. <https://doi.org/10.1016/j.ijso.2019.02.004>
135. Wrensch M, Rice T, Miike R, et al (2006) Diagnostic, treatment, and demographic factors influencing survival in a population-based study of adult glioma patients in the San Francisco Bay Area. *Neuro-oncology* 8:12–26. <https://doi.org/10.1215/S1522851705000268>
136. Carroll KT, Bryant AK, Hirshman B, et al (2018) Interaction Between the Contributions of Tumor Location, Tumor Grade, and Patient Age to the Survival Benefit Associated with Gross Total Resection. *World Neurosurg* 111:e790–e798. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2017.12.165>
137. Li J, Niu X, Gan Y, et al (2019) Clinical and Pathologic Features and Prognostic Factors for Recurrent Gliomas. *World Neurosurgery* 128:e21–e30. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2019.02.210>
138. J L, M L, P J, et al (2018) [Analysis of prognostic factors for survival in elderly patients with glioma]. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 43:403–409. <https://doi.org/10.11817/j.issn.1672-7347.2018.04.011>
139. Wang T, Niu X, Gao T, et al (2018) Prognostic Factors for Survival Outcome of High-Grade Multicentric Glioma. *World Neurosurgery* 112:e269–e277. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2018.01.035>
140. Stoyanov GS, Dzhenkov DL, Kitanova M, et al Demographics and Incidence of Histologically Confirmed Intracranial Tumors: A Five-year, Two-center Prospective Study. *Cureus* 9:. <https://doi.org/10.7759/cureus.1476>
141. Thakkar JP, Dolecek TA, Horbinski C, et al (2014) Epidemiologic and Molecular Prognostic Review of Glioblastoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 23:1985–1996. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-14-0275>

142. Akincilar SC, Unal B, Tergaonkar V (2016) Reactivation of telomerase in cancer. *Cell Mol Life Sci* 73:1659–1670. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2146-9>
143. Liu R, Xing M (2016) TERT Promoter Mutations in Thyroid Cancer. *Endocr Relat Cancer* 23:R143–R155. <https://doi.org/10.1530/ERC-15-0533>
144. Pestana A, Vinagre J, Sobrinho-Simões M, Soares P (2017) TERT biology and function in cancer: beyond immortalisation. *Journal of Molecular Endocrinology* 58:R129–R146. <https://doi.org/10.1530/JME-16-0195>
145. Mushiroda T, Wattanapokayakit S, Takahashi A, et al (2008) A genome-wide association study identifies an association of a common variant in TERT with susceptibility to idiopathic pulmonary fibrosis. *J Med Genet* 45:654–656. <https://doi.org/10.1136/jmg.2008.057356>
146. McKay JD, Hung RJ, Gaborieau V, et al (2008) Lung cancer susceptibility locus at 5p15.33. *Nat Genet* 40:1404–1406. <https://doi.org/10.1038/ng.254>
147. Simon M, Hosking FJ, Marie Y, et al (2010) Genetic risk profiles identify different molecular etiologies for glioma. *Clin Cancer Res* 16:5252–5259. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-1502>
148. Zhou P, Wei L, Xia X, et al (2014) Association between telomerase reverse transcriptase rs2736100 polymorphism and risk of glioma. *J Surg Res* 191:156–160. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2014.03.043>
149. Adel MF, Lavebratt C, Schüz J, et al (2015) CCDC26, CDKN2BAS, RTEL1 and TERT Polymorphisms in pediatric brain tumor susceptibility. *Carcinogenesis* 36:876–882. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgv074>
150. Turnbull C, Rapley EA, Seal S, et al (2010) Variants near DMRT1, TERT and ATF7IP are associated with testicular germ cell cancer. *Nat Genet* 42:604–607. <https://doi.org/10.1038/ng.607>
151. Kinnersley B, Migliorini G, Broderick P, et al (2012) The TERT variant rs2736100 is associated with colorectal cancer risk. *Br J Cancer* 107:1001–1008. <https://doi.org/10.1038/bjc.2012.329>
152. Terry KL, Tworoger SS, Vitonis AF, et al (2012) Telomere length and genetic variation in telomere maintenance genes in relation to ovarian cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 21:504–512. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-11-0867>
153. Kim J, Jones-Hall YL, Wei R, et al (2013) Association between hTERT rs2736100 polymorphism and sensitivity to anti-cancer agents. *Front Genet* 4:162–162. <https://doi.org/10.3389/fgene.2013.00162>
154. Melin BS, Nordfjäll K, Andersson U, Roos G (2012) hTERT cancer risk genotypes are associated with telomere length. *Genet Epidemiol* 36:368–372. <https://doi.org/10.1002/gepi.21630>

155. Rafnar T, Sulem P, Stacey SN, et al (2009) Sequence variants at the TERT-CLPTM1L locus associate with many cancer types. *Nat Genet* 41:221–227. <https://doi.org/10.1038/ng.296>
156. Walsh KM, Codd V, Smirnov IV, et al (2014) Variants near TERT and TERC influencing telomere length are associated with high-grade glioma risk. *Nat Genet* 46:731–735. <https://doi.org/10.1038/ng.3004>
157. Shay JW, Wright WE (2011) Role of telomeres and telomerase in cancer. *Semin Cancer Biol* 21:349–353. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2011.10.001>
158. Melin B, Dahlin AM, Andersson U, et al (2013) Known glioma risk loci are associated with glioma with a family history of brain tumours - a case-control gene association study. *Int J Cancer* 132:2464–2468. <https://doi.org/10.1002/ijc.27922>
159. Houlston RS, Cheadle J, Dobbins SE, et al (2010) Meta-analysis of three genome-wide association studies identifies susceptibility loci for colorectal cancer at 1q41, 3q26.2, 12q13.13 and 20q13.33. *Nat Genet* 42:973–977. <https://doi.org/10.1038/ng.670>
160. Sun LD, Xiao FL, Li Y, et al (2011) Genome-wide association study identifies two new susceptibility loci for atopic dermatitis in the Chinese Han population. *Nat Genet* 43:690–694. <https://doi.org/10.1038/ng.851>
161. Barber LJ, Youds JL, Ward JD, et al (2008) SPAR1/RTEL1 maintains genomic stability by suppressing homologous recombination. *Cell* 135:261–271. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.08.016>
162. Lu S, Zhong J, Wu M, et al (2019) Genetic analysis of the relation of telomere length-related gene (*R<sub>TEL</sub>1*) and coronary heart disease risk. *Molecular Genetics & Genomic Medicine* 0:e550. <https://doi.org/10.1002/mgg3.550>
163. Rong H, He X, Zhu L, et al (2017) Association between regulator of telomere elongation helicase 1 (*RTEL1*) gene and HAPE risk. *Medicine (Baltimore)* 96:. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000008222>
164. Speckmann C, Sahoo SS, Rizzi M, et al (2017) Clinical and Molecular Heterogeneity of *RTEL1* Deficiency. *Front Immunol* 8:. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00449>
165. Deng Z, Glousker G, Molczan A, et al (2013) Inherited mutations in the helicase *RTEL1* cause telomere dysfunction and Hoyeraal–Hreidarsson syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110:E3408–E3416. <https://doi.org/10.1073/pnas.1300600110>
166. Ding Y, Xu H, Yao J, et al (2017) Association between *RTEL1* gene polymorphisms and COPD susceptibility in a Chinese Han population. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 12:931–936. <https://doi.org/10.2147/COPD.S131246>
167. Schoemaker MJ, Robertson L, Wigertz A, et al (2010) Interaction between 5 genetic variants and allergy in glioma risk. *Am J Epidemiol* 171:1165–1173. <https://doi.org/10.1093/aje/kwq075>

168. Jenkins RB, Decker P, Kosel M, et al (2014) MUTATION-BASED MOLECULAR GLIOMA CLASSIFICATION: PREVALENCE AND ASSOCIATION WITH GERMLINE RISK SNPS. *Neuro Oncol* 16:iii1–iii1. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nou206.3>
169. Dahlin AM, Wibom C, Ghasimi S, et al (2016) Relation between Established Glioma Risk Variants and DNA Methylation in the Tumor. *PLoS One* 11:e0163067–e0163067. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163067>
170. Burdon KP, Macgregor S, Hewitt AW, et al (2011) Genome-wide association study identifies susceptibility loci for open angle glaucoma at TMCO1 and CDKN2B-AS1. *Nat Genet* 43:574–578. <https://doi.org/10.1038/ng.824>
171. Park SL, Fesinmeyer MD, Timofeeva M, et al (2014) Pleiotropic associations of risk variants identified for other cancers with lung cancer risk: the PAGE and TRICL consortia. *J Natl Cancer Inst* 106:dju061–dju061. <https://doi.org/10.1093/jnci/dju061>
172. Pasmant E, Laurendeau I, Héron D, et al (2007) Characterization of a germ-line deletion, including the entire INK4/ARF locus, in a melanoma-neural system tumor family: identification of ANRIL, an antisense noncoding RNA whose expression coclusters with ARF. *Cancer Res* 67:3963–3969. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-2004>
173. Hannou SA, Wouters K, Paumelle R, Staels B (2015) Functional genomics of the CDKN2A/B locus in cardiovascular and metabolic disease: what have we learned from GWASs? *Trends in Endocrinology & Metabolism* 26:176–184. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2015.01.008>
174. Kong Y, Hsieh C-H, Alonso LC (2018) ANRIL: A lncRNA at the CDKN2A/B Locus With Roles in Cancer and Metabolic Disease. *Front Endocrinol (Lausanne)* 9:. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00405>
175. Congrains A, Kamide K, Ohishi M, Rakugi H (2013) ANRIL: Molecular Mechanisms and Implications in Human Health. *Int J Mol Sci* 14:1278–1292. <https://doi.org/10.3390/ijms14011278>
176. Jarinova O, Stewart AFR, Roberts R, et al (2009) Functional Analysis of the Chromosome 9p21.3 Coronary Artery Disease Risk Locus. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 29:1671–1677. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.109.189522>
177. Zhao J, Wu X, Nie S, et al (2017) Association of CDKN2B-AS1 rs1333049 with Brain Diseases: A Case-control Study and a Meta-analysis. *Clin Psychopharmacol Neurosci* 15:53–58. <https://doi.org/10.9758/cpn.2017.15.1.53>
178. Torkamani A, Wineinger NE, Topol EJ (2018) The personal and clinical utility of polygenic risk scores. *Nat Rev Genet* 19:581–590. <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0018-x>
179. Rice T, Lachance DH, Molinaro AM, et al (2016) Understanding inherited genetic risk of adult glioma – a review. *Neurooncol Pract* 3:10–16. <https://doi.org/10.1093/nop/npv026>
180. Nordling CO (1953) A New Theory on the Cancer-inducing Mechanism. *Br J Cancer* 7:68–72

181. Machiela MJ, Ho BM, Fisher VA, et al (2015) Limited evidence that cancer susceptibility regions are preferential targets for somatic mutation. *Genome Biol* 16:. <https://doi.org/10.1186/s13059-015-0755-5>
182. Zhao Y, Chen G, Yu H, et al (2016) Development of risk prediction models for glioma based on genome-wide association study findings and comprehensive evaluation of predictive performances. *Oncotarget* 9:8311–8325. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.10882>
183. rs55705857 (SNP) - Explore this variant - Homo sapiens - Ensembl genome browser 96. [https://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Explore?r=8:129632946-129633946;v=rs55705857;vdb=variation;vf=381670480](https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?r=8:129632946-129633946;v=rs55705857;vdb=variation;vf=381670480). Accessed 30 Jun 2019
184. Norling A, Lindén Hirschberg A, Iwarsson E, et al (2013) Novel candidate genes for 46,XY gonadal dysgenesis identified by a customized 1 M array-CGH platform. *European Journal of Medical Genetics* 56:661–668. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2013.09.003>
185. Quintens R, Verreet T, Janssen A, et al (2015) Identification of novel radiation-induced p53-dependent transcripts extensively regulated during mouse brain development. *Biol Open* 4:331–344. <https://doi.org/10.1242/bio.20149969>
186. Manning BD, Cantley LC (2007) AKT/PKB Signaling: Navigating Downstream. *Cell* 129:1261–1274. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.06.009>
187. Zhou QL, Jiang ZY, Mabardy AS, et al (2010) A Novel Pleckstrin Homology Domain-containing Protein Enhances Insulin-stimulated Akt Phosphorylation and GLUT4 Translocation in Adipocytes. *J Biol Chem* 285:27581–27589. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.146886>
188. Wang N, Deng Z, Wang M, et al (2017) Additional evidence supports association of common genetic variants in VTI1A and ETFA with increased risk of glioma susceptibility. *Journal of the Neurological Sciences* 375:282–288. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2017.02.013>
189. Labreche K, Kinnersley B, Berzero G, et al (2018) Diffuse gliomas classified by 1p/19q co-deletion, TERT promoter and IDH mutation status are associated with specific genetic risk loci. *Acta Neuropathol* 135:743–755. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1825-z>
190. Šeda O, Šedová L, Bendlová B (2017) ZBTB16 and Metabolic Syndrome: a Network Perspective. 66:9
191. Andrews SJ, Das D, Anstey KJ, Eastaer S (2017) Association of *AKAP6* and *MIR2113* with cognitive performance in a population-based sample of older adults: *AKAP6* and *MIR2113* in cognitive decline. *Genes, Brain and Behavior* 16:472–478. <https://doi.org/10.1111/gbb.12368>
192. Huang PH, Xu AM, White FM (2009) Oncogenic EGFR signaling networks in glioma. *Sci Signal* 2:re6. <https://doi.org/10.1126/scisignal.287re6>
193. Kleinhenz B, Fabienke M, Swiniarski S, et al (2005) Raver2, a new member of the hnRNP family. *FEBS Letters* 579:4254–4258. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.07.001>

194. Romanelli MG, Lorenzi P, Diani E, et al (2012) Transcriptional regulation of the human Raver2 ribonucleoprotein gene. *Gene* 493:243–252. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2011.11.036>
195. Sharma K, Tyagi R, Singh R, et al (2017) Serum Levels of TIMP-3, LIPC, IER3, and SLC16A8 in CFH-Negative AMD Cases: S ERUM L EVELS OF TIMP-3, LIPC, IER3, AND SLC16A8. *Journal of Cellular Biochemistry* 118:2087–2095. <https://doi.org/10.1002/jcb.25837>
196. Xipell E, Aragón T, Martínez-Velez N, et al (2016) Endoplasmic reticulum stress-inducing drugs sensitize glioma cells to temozolomide through downregulation of MGMT, MPG, and Rad51. *Neuro Oncol* 18:1109–1119. <https://doi.org/10.1093/neuonc/now022>
197. Boland E, Clayton-Smith J, Woo VG, et al (2007) Mapping of Deletion and Translocation Breakpoints in 1q44 Implicates the Serine/Threonine Kinase AKT3 in Postnatal Microcephaly and Agenesis of the Corpus Callosum. *Am J Hum Genet* 81:292–303
198. Turner KM, Sun Y, Ji P, et al (2015) Genomically amplified Akt3 activates DNA repair pathway and promotes glioma progression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112:3421–3426. <https://doi.org/10.1073/pnas.1414573112>
199. He X, Zhu X, Li L, et al (2016) The relationship between polymorphisms of XRCC5 genes with astrocytoma prognosis in the Han Chinese population. *Oncotarget* 7:85283–85290. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13297>
200. Xavier-Magalhães A, Oliveira AI, de Castro JV, et al (2017) Effects of the functional HOTAIR rs920778 and rs12826786 genetic variants in glioma susceptibility and patient prognosis. *J Neurooncol* 132:27–34. <https://doi.org/10.1007/s11060-016-2345-0>
201. Egan KM, Nabors LB, Olson JJ, et al (2012) Rare TP53 genetic variant associated with glioma risk and outcome. *J Med Genet* 49:420–421. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2012-100941>
202. Guo D, Nilsson J, Haapasalo H, et al (2006) Perinuclear leucine-rich repeats and immunoglobulin-like domain proteins (LRIG1-3) as prognostic indicators in astrocytic tumors. *Acta Neuropathologica* 111:238–246. <https://doi.org/10.1007/s00401-006-0032-5>
203. Wang D, Hu E, Wu P, et al (2015) Genetic variant near TERC influencing the risk of gliomas with older age at diagnosis in a Chinese population. *J Neurooncol* 124:57–64. <https://doi.org/10.1007/s11060-015-1819-9>
204. Chen L-Y, Redon S, Lingner J (2012) The human CST complex is a terminator of telomerase activity. *Nature* 488:540–544. <https://doi.org/10.1038/nature11269>
205. Xin H, Liu D, Songyang Z (2008) The telosome/shelterin complex and its functions. *Genome Biol* 9:232. <https://doi.org/10.1186/gb-2008-9-9-232>
206. Rice C, Skordalakes E (2016) Structure and function of the telomeric CST complex. *Comput Struct Biotechnol J* 14:161–167. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2016.04.002>

207. Zhang M, Tang M, Fang Y, et al (2018) Cumulative evidence for relationships between multiple variants in the *VTIIA* and *TCF7L2* genes and cancer incidence: *VTIIA-TCF7L2* variants and cancer susceptibility. *International Journal of Cancer* 142:498–513. <https://doi.org/10.1002/ijc.31074>
208. Brahmi M, Bally O, Eberst L, Cassier P (2017) Ciblage thérapeutique de la voie Notch en oncologie. *Bulletin du Cancer* 104:883–891. <https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2017.07.007>
209. Platonova N, Lesma E, Basile A, et al (2017) Targeting Notch as a Therapeutic Approach for Human Malignancies. *Curr Pharm Des* 23:108–134. <https://doi.org/10.2174/1381612822666161006160524>
210. Diskin SJ, Capasso M, Diamond M, et al (2014) Rare variants in TP53 and susceptibility to neuroblastoma. *J Natl Cancer Inst* 106:dju047–dju047. <https://doi.org/10.1093/jnci/dju047>
211. Stacey SN, Sulem P, Jonasdottir A, et al (2011) A germline variant in the TP53 polyadenylation signal confers cancer susceptibility. *Nat Genet* 43:1098–1103. <https://doi.org/10.1038/ng.926>
212. Zhou L, Yuan Q, Yang M (2012) A functional germline variant in the P53 polyadenylation signal and risk of esophageal squamous cell carcinoma. *Gene* 506:295–297. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.07.007>
213. Enciso-Mora V, Hosking FJ, Di Stefano AL, et al (2013) Low penetrance susceptibility to glioma is caused by the TP53 variant rs78378222. *Br J Cancer* 108:2178–2185. <https://doi.org/10.1038/bjc.2013.155>
214. Wang Z, Rajaraman P, Melin BS, et al (2015) Further Confirmation of Germline Glioma Risk Variant rs78378222 in TP53 and Its Implication in Tumor Tissues via Integrative Analysis of TCGA Data. *Hum Mutat* 36:684–688. <https://doi.org/10.1002/humu.22799>
215. Lu HW, Huang M, Wang JH, et al (2015) CCDC26 rs4295627 polymorphism (8q24.21) and glioma risk: a meta-analysis. *Genet Mol Res* 14:12074–12084. <https://doi.org/10.4238/2015.October.5.20>
216. Wang X, Luo T, Ruan M, et al (2016) Association of the CCDC26 rs4295627 polymorphism with the risk of glioma: Evidence from 7,290 cases and 11,630 controls. *Mol Clin Oncol* 4:878–882. <https://doi.org/10.3892/mco.2016.813>
217. Wu Q, Peng Y, Zhao X (2016) An Updated and Comprehensive Meta-Analysis of Association Between Seven Hot Loci Polymorphisms from Eight GWAS and Glioma Risk. *Mol Neurobiol* 53:4397–4405. <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9346-4>
218. Di Stefano AL, Enciso-Mora V, Marie Y, et al (2013) Association between glioma susceptibility loci and tumour pathology defines specific molecular etiologies. *Neuro Oncol* 15:542–547. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nos284>

219. Bhurgri Y, Bhurgri H, Kayani N, et al (2011) Trends and morphology of central nervous system malignancies in Karachi. *Asian Pac J Cancer Prev* 12:2013–2017
220. Dobes M, Shadbolt B, Khurana VG, et al (2011) A multicenter study of primary brain tumor incidence in Australia (2000-2008). *Neuro-oncology* 13:783–790. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nor052>
221. McKean-Cowdin R, Razavi P, Barrington-Trimis J, et al (2013) Trends in childhood brain tumor incidence, 1973-2009. *J Neurooncol* 115:153–160. <https://doi.org/10.1007/s11060-013-1212-5>
222. Johnson KJ, Cullen J, Barnholtz-Sloan JS, et al (2014) Childhood Brain Tumor Epidemiology: A Brain Tumor Epidemiology Consortium Review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 23:2716–2736. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-14-0207>
223. Roldán Urgoiti GB, Singh AD, Tsang RY, et al (2014) Population Based Analysis Ependymoma Patients in Alberta from 1975 to 2007. *Canadian Journal of Neurological Sciences / Journal Canadien des Sciences Neurologiques* 41:742–747. <https://doi.org/10.1017/cjn.2014.107>
224. Pajtler KW, Mack SC, Ramaswamy V, et al (2017) The current consensus on the clinical management of intracranial ependymoma and its distinct molecular variants. *Acta Neuropathol* 133:5–12. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1643-0>
225. Ghasimi S, Wibom C, Dahlin AM, et al (2016) Genetic risk variants in the CDKN2A/B, RTEL1 and EGFR genes are associated with somatic biomarkers in glioma. *J Neurooncol* 127:483–492. <https://doi.org/10.1007/s11060-016-2066-4>
226. Amir N, Sahnoune M, Chikhi L, Atmani D (2015) STR-based genetic structure of the Berber population of Bejaia (Northern Algeria) and its relationships to various ethnic groups. *Gene* 574:140–148. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.08.002>
227. Arauna LR, Mendoza-Revilla J, Mas-Sandoval A, et al (2016) Recent historical migrations have shaped the gene pool of Arabs and Berbers in North Africa. *Molecular Biology and Evolution* msw218. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw218>
228. Bekada A, Arauna LR, Deba T, et al (2015) Genetic Heterogeneity in Algerian Human Populations. *PLOS ONE* 10:e0138453. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138453>
229. Font-Porterias N, Solé-Morata N, Serra-Vidal G, et al (2018) The genetic landscape of Mediterranean North African populations through complete mtDNA sequences. *Annals of Human Biology* 45:98–104. <https://doi.org/10.1080/03014460.2017.1413133>
230. Henn BM, Botigué LR, Gravel S, et al (2012) Genomic Ancestry of North Africans Supports Back-to-Africa Migrations. *PLOS Genetics* 8:e1002397. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002397>
231. Yang T-H, Kon M, Hung J-H, DeLisi C (2011) Combinations of newly confirmed Glioma-Associated loci link regions on chromosomes 1 and 9 to increased disease risk. *BMC Med Genomics* 4:63. <https://doi.org/10.1186/1755-8794-4-63>

# *Annexes*

**ETUDE GENETIQUE SUR LES GLIOMES**

**Questionnaire n° : -----**

Date :.....

Dossier du patient n° .....

Nom : ..... Prénom : .....

Sexe : M  F  Age :.....

Lieu de résidence : .....

Niveau d'étude :.....

Profession :.....

Statut social :.....

Date d'apparition de la maladie :.....

Consanguinité des parents et degré de parenté: .....

.....

Antécédents familiaux de cancers et autres pathologies :

.....

.....

.....

.....

Remarques (Stress):.....

.....

.....

---

## Questionnaire Témoin sain

N° : -----

Date : .....

Nom et prénom : .....

Sexe :     M                     F                     Age : .....

Lieu de résidence : .....

Niveau d'études : .....

Profession : .....

Statut social : .....

Consanguinité des parents et degré de parenté : .....

.....

Statut tabagique : .....

Antécédents personnels : .....

.....

.....

Antécédents familiaux : .....

.....

.....

.....

.....

Je soussigné(e), reconnais être indemne de maladie(s) génétique(s) et donne mon consentement pour un prélèvement sanguin afin d'effectuer ou de faire effectuer les études génétiques sur ADN qui peuvent aider au diagnostic ou à la prévention de pathologies génétiques.

Signature



## ETUDE GENETIQUE SUR LES GLIOMES

**Chercheur :** Touati Sabrina, Doctorante en génétique moléculaire

**Directeur de thèse :** Pr Djekkoune Rachid, onco-radiothérapeute

### Fiche de consentement

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

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

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

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

Signature

## Consentement pour utilisation de données biologiques.

**TOUATI Sabrina**

Doctorante en Génétique Moléculaire

Département de Biologie Animale - Faculté SNV

Université des frères Mentouri - Constantine I

Tel : 031 81 82 49 / Courriel : [touati21sabrina@gmail.com](mailto:touati21sabrina@gmail.com)

Je soussigné : .....  
Né(e) le ...../...../..... à .....

Certifie avoir reçu de **Melle TOUATI Sabrina** une information exhaustive et compréhensible concernant les utilisations possibles de mes données cliniques et biologiques. J'ai eu la possibilité de poser toutes les questions que je souhaitais.

J'ai compris qu'une analyse génétique m'est proposée à partir d'un prélèvement sanguin duquel mon ADN sera extrait. Cette analyse a pour but de déterminer si mon génome présente une anomalie ou une variation. J'ai bien compris les implications possibles de cette étude et je pourrai obtenir, si je le souhaitais, toute information complémentaire. Il m'a été précisé qu'une partie de cette analyse génétique se fera à l'étranger.

Les résultats de ces analyses me seront transmis si je le désire. Ils resteront confidentiels et ne pourront être communiqués qu'avec mon autorisation exclusive.

Je peux à tout moment décider de ne pas poursuivre cette démarche. Les données génétiques et le matériel biologique me concernant pourront être détruits à ma demande.

J'accepte que mes échantillons biologiques soient conservés et utilisés à des fins de recherche médicale et/ou biologique sans restriction sous couvert d'anonymat.

Fait à ..... le ..../...../.....

**Signature de l'intéressé**

**Signature du chercheur**

Consentement établi selon la déclaration d'Helsinki : Principes éthiques applicables aux recherches médicales sur des sujets humains. 1964.

En accord avec les recommandations du conseil national de l'éthique des sciences de la santé Algérien.

---

## Protocole d'extraction d'ADN

### 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 associées sont digérées et éliminées par précipitation au NaCl. La pelote d'ADN est formée dans le surnageant par précipitation avec l'éthanol (Miller et al., 1988).

### I / Lyse des globules rouges :

- Dans un tube Falcon de 50ml, verser le sang total prélevé sur tubes EDTA et compléter le volume à 25ml de TE 20:5 (ou à 50ml si deux tubes de sang) ;
- Bien agiter et mettre au bain de glace pendant 10 min ;
- Centrifuger 10 min à 3400t/min puis verser le surnageant ;
- 2<sup>ème</sup> lavage avec 25ml de TE 20:5 et mêmes étapes ;
  - ⇒ Obtention d'un culot de leucocytes.

### II/ Lyse des globules blancs :

- Dans un tube Falcon de 15ml mettre :
  - 3ml de tampon de lyse (Na cl 400 mM, EDTA 2 mM, Tris 10mM, pH 8.2)
  - 200 µl de SDS à 10%
  - 100 µl de protéinase K à 10 mg/ml. Cette enzyme est une protéase végétale très active même en présence d'EDTA, et qui n'a aucun effet d'hydrolyse sur les acides nucléiques (ADN). Elle hydrolyse les protéines de toutes origines en quelques heures, avec une préférence pour les liaisons peptidiques situées après les acides aminés hydrophobes (leucine, par exemple).
- Ajouter le culot de leucocytes, bien agiter puis mettre dans une roue agitatrice à 37°C pendant une nuit.

### III/ Précipitation des protéines

Le lendemain :

- Mettre les tubes au bain de glace durant 5min ;
- Ajouter 1ml de NACL 4M ;
- Agiter par retournement et remettre 5min au bain de glace ;
- Centrifuger 5min à 3400t/min ;

On obtient ainsi un culot organique au fond du tube contenant les débris (protéines, lipides...), un surnageant contenant de l'ADN et l'interface contient en majorité des protéines et peu l'ADN.

### IV/ Précipitation/ Concentration de l'ADN

- Verser le surnageant dans un tube Falcon 50ml ;
- Ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi ;
- Agiter par retournement => formation de la pelote d'ADN visible à l'œil nu (Laisser éventuellement 30 min à  $-20^{\circ}\text{C}$  si la pelote d'ADN ne se forme pas) ;
- La récupérer par un ambout stérile, la mettre dans un tube Eppendorf et rincer à l'éthanol 70% afin d'éliminer les traces de sels ;
- Mettre à sécher une nuit.

### V/ Solubilisation

L'ADN séché est réhydraté en ajoutant 500 $\mu\text{l}$  d' $\text{H}_2\text{O}$ . Cette solubilisation nécessite une agitation continue sur un agitateur rotatoire à  $37^{\circ}\text{C}$  et à température ambiante jusqu'à dissolution complète (de 3 à 7 jours). Après dissolution complète, la DO de la solution d'ADN obtenu est mesurée à 260 nm et à 280 nm afin de déterminer la concentration et la pureté de l'ADN extrait. L'ADN dissout peut être conservé à  $+4^{\circ}\text{C}$  pendant quelques jours ou à  $-20^{\circ}\text{C}$  pour une conservation à plus long terme. D'ailleurs, l'ADN pur se conserve à  $-20^{\circ}\text{C}$ , plus de 10 ans.

## Protocole iPLEX

### 1/ PCR multiplex d'élongation :

10% des échantillons doivent être dupliqués pour la confirmation (en pratique nous avons dupliqué 21 échantillons ce qui fait 13% environ)

Réactifs PCR	[ ] finale	Vol (1x) ( $\mu$ L)	Vol (x+18%)
H2O pur	N/A	1,35	286,7
10 x PCR Buffer avec MgCl <sub>2</sub> 15mM	1.5 mM MgCl <sub>2</sub>	0,25	53,1
MgCl <sub>2</sub> 25mM	2.5 mM	0,25	53,1
dNTP Mix 25mM	500 $\mu$ M	0,05	10,6
Primer Mix 0.5 $\mu$ M	0.1 $\mu$ M	0,5	106,2
Enzyme Sequenom PCR 5U/ $\mu$ l	1 Unité	0,1	21,2
<b>Total</b>		<b>2,5</b>	<b>509,8</b>

### Conditions PCR (~2h45)

94°C durant 15 min

94°C durant 20	}	sec	45 cycles
56°C durant 30		sec	
72°C durant 1		min	

72°C durant 3 min

Conservation à 4°C

### 2/ Traitement SAP « shrimp alkaline phosphatase »

SAP (45min)		
Réactifs	Vol (1x) ( $\mu$ L)	Vol (x+18%)
H2O	0,76	161,4
Buffer SAP (10x)	0,09	19,1
Enzyme SAP (1.7 U/ $\mu$ L)	0,15	31,9
<b>Total par puit</b>	<b>1</b>	<b>212,4</b>

## 3/ Réaction iPLEX d'extension d'une base unique

<b>EXTEND (~3h30)</b>		
<b>Réactifs</b>	<b>Vol (1x)(uL)</b>	<b>Vol (x+30%)</b>
<b>H2O</b>	<b>0,31</b>	<b>72,5</b>
<b>iPlex buffer plus (10x)</b>	<b>0,1</b>	<b>23,4</b>
<b>iPlex terminator</b>	<b>0,1</b>	<b>23,4</b>
<b>Primer mix *</b>	<b>0,47</b>	<b>110,0</b>
<b>iPlex enzyme</b>	<b>0,02</b>	<b>4,7</b>
<b>Total par puit</b>	<b>1</b>	<b>234,0</b>

**Conditions PCR**

94°C durant 30 sec  
 5X { 94°C durant 5 } sec  
       { 52°C durant 5 } sec     40 cycles  
       { 80°C durant 5 } sec  
 72°C durant 3 min  
 4°C pour 23.4 sec

Les étapes de 52 et 80°C sont répétées 5 fois /cycle

# *Résumés*

## Résumé

Les gliomes représentent le plus vaste groupe de tumeurs cérébrales malignes chez l'adulte. Les recherches épidémiologiques, cliniques, translationnelles et fondamentales ont notablement fait avancé notre compréhension de ces tumeurs. Néanmoins, les données sur les population des pays en voie de développement restent très insuffisante, surtout du fait de la rareté de ces tumeurs. Le but de notre étude était de dresser un profil épidémiologique et génétique des patients atteints de gliomes dans la population est-Algérienne.

La partie épidémiologique s'est basée sur les dossiers de patients admis au niveau du service d'oncologie-radiothérapie du Centre Hospitalo-Universitaire de Constantine entre Janvier 2008 et Octobre 2016, au total 366 dossiers ont été examinés. La partie génétique a concerné 66/77 patients recrutés au niveau du même CHU entre Mars 2014 et Octobre 2016 ainsi que 72/82 témoins. Nous avons analysé une série de 26/29 polymorphismes identifiées par les GWAS comme associées au risque de gliomes.

Notre population s'est révélée jeune (moyenne d'âge 44,6 ans) avec une survie globale relativement bonne (taux à 5 ans de 38,1%). L'analyse génétique a montré un seul polymorphisme fortement associé au risque de gliomes ; le rs2736100 (5p15.33, TERT). Deux autres variants germinaux ont donné des valeurs p significatives dans leur forme hétérozygote ; le rs6010620 (20q13.33, RTEL1) pour association et le rs4977756 (9p21.3, CDKN2B-AS1) pour protection. Le nombre total d'allèles à risque a été associé à la susceptibilité mais pas à la survie des patients. La survie a été associée aux rs3851634 (12q23.33, POLR3B), rs3751667 (16p13.3, LMF1) et rs12076373 (1q44, AKT3). Le profil de susceptibilité génétique aux gliomes dans notre population pourrait donc être différent des autres populations mondiales déjà décrite.

## **Abstract**

Gliomas are the largest group of malignant brain tumors in adults. Epidemiological, clinical, translational, and fundamental research have made significant progress in our understanding of these tumors. Nevertheless, the data on the populations of the developing countries remain very scarce, especially because of the rarity of these tumors. The purpose of our study was to develop an epidemiological and genetic profile of patients with glioma in the East-Algerian population.

The epidemiological part was based on the records of patients admitted to the radiotherapy-oncology department of the University Hospital Center of Constantine between January 2008 and October 2016, in total 366 records were examined. The genetic part concerned 66/77 patients enrolled at the same hospital between March 2014 and October 2016 as well as 72/82 controls. We analyzed a series of 26/29 polymorphisms identified by GWAS as associated with the risk of gliomas.

Our population was young (average age 44.6 years) with a relatively good overall survival (5-year rate of 38.1%). Genetic analysis showed a single polymorphism strongly associated with glioma risk; rs2736100 (5p15.33, TERT). Two other germinal variants gave significant p-values in their heterozygous form; rs6010620 (20q13.33, RTEL1) for association and rs4977756 (9p21.3, CDKN2B-AS1) for protection. The total number of alleles at risk was associated with susceptibility but not with patient survival. Survival was associated with rs3851634 (12q23.33, POLR3B), rs3751667 (16p13.3, LMF1) and rs12076373 (1q44, AKT3). The profile of genetic susceptibility to gliomas in our population may therefore be different from other global populations already described

## الملخص

تمثل الأورام الدبقية أوسع مجموعة من السرطانات العصبية الخبيثة عند البالغين.

قامت البحوث الوبائية، العيادية و الأساسية بتنمية فهمنا لهذه السرطانات، إلا أن المعطيات حول شعوب البلدان النامية تبقى جد ناقصة خاصة بسبب ندرة هذه الأورام. كان الهدف من دراستنا هذه إنشاء مظهر وبائي و وراثي(جيني) للمرضى الحاملين للأورام الدبقية على مستوى سكان الشرق الجزائري.

يقوم الجزء الوبائي من الدراسة على ملفات المرضى المسجلين على مستوى مصلحة أشعة الأورام السرطانية بالمستشفى الجامعي بقسنطينة ما بين جانفي 2008 و أكتوبر 2016 بمجموع 366 ملفا تم فحصه. أما بالنسبة للجزء الوراثة (الجيني) فقد تعلق الأمر ب: 77/66 مريضا مسجلا بنفس المستشفى ما بين مارس 2014 و اكتوبر 2016 مع 82/72 شاهدا. لقد حللنا سلسلة من 29/26 نموذجا متباينا تم التعرف عليه من طرف دراسات GWAS كمرتبطة بخطر الأورام الدبقية

يعتبر مجتمع مرضانا مجتمع شاب بالنظر الى متوسط العمر (44.6 سنة) مع استمرارية عامة ايجابية نوعا ما (معدل النجاة لخمس سنوات 38.1%). وضح التحليل الوراثة (الجيني) تباينا واحدا مرتببا بشكل قوي بخطر الأورام الدبقية (TERT, 5p15.33, rs2736100) و متغيرين آخرين أظهرنا نسب كاشفة على مستوى شكلها المتباين: (rs6010620, RTEL1, 20q13.33) للإقتران و(rs4977756, 9p21.3, CDKN2B-AS1) للحماية. كان العدد الإجمالي لأليات الخطر متعلقا بقابلية التأثير و ليس متعلقا باستمرارية المريض. إن المظهر الجانبي لقابلية التأثير الوراثة وسط مجتمع مرضانا يمكن أن يكون إذا مختلفا عن باقي شعوب العالم التي تم وصف حالتها.

## **Profils épidémiologique et de susceptibilité génétique aux gliomes dans une population de l'est Algérien**

### **Thèse pour l'obtention du diplôme de Docteur en Sciences en Génétique Moléculaire**

#### **Résumé :**

Les gliomes représentent le plus vaste groupe de tumeurs cérébrales malignes chez l'adulte. Les recherches épidémiologiques, cliniques, translationnelles et fondamentales ont notablement fait avancé notre compréhension de ces tumeurs. Néanmoins, les données sur les population des pays en voie de développement restent très insuffisante, surtout du fait de la rareté de ces tumeurs. Le but de notre étude était de dresser un profil épidémiologique et génétique des patients atteints de gliomes dans la population est-Algérienne.

La partie épidémiologique s'est basée sur les dossiers de patients admis au niveau du service d'oncologie-radiothérapie du Centre Hospitalo-Universitaire de Constantine entre Janvier 2008 et Octobre 2016, au total 366 dossiers ont été examinés. La partie génétique a concerné 77/66 patients recrutés au niveau du même CHU entre Mars 2014 et Octobre 2016 ainsi que 82/72 témoins. Nous avons analysé une série de 26/29 polymorphismes identifiées par les GWAS comme associées au risque de gliomes.

Notre population s'est révélée jeune (moyenne d'âge 44,6 ans) avec une survie globale relativement bonne (taux à 5 ans de 38,1%). L'analyse génétique a montré un seul polymorphisme fortement associé au risque de gliomes ; le rs2736100 (5p15.33, TERT). Deux autres variants germinaux ont donné des valeurs p significatives dans leur forme hétérozygote ; le rs6010620 (20q13.33, RTEL1) pour association et le rs4977756 (9p21.3, CDKN2B-AS1) pour protection. Le nombre total d'allèles à risque a été associé à la susceptibilité mais pas à la survie des patients. La survie a été associée aux rs3851634 (12q23.33, POLR3B), rs3751667 (16p13.3, LMF1) et rs12076373 (1q44, AKT3). Le profil de susceptibilité génétique aux gliomes dans notre population pourrait donc être différent des autres populations mondiales déjà décrite.

**Mots-clefs :** Gliomes, épidémiologie, susceptibilité génétique, GWAS, SNP, survie.

#### **Laboratoires de recherche :**

Laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire (Université Constantine 3),  
Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire (Université Frères Mentouri, Constantine 1),  
Plateforme de séquençage et de génotypage des génomes, Axe neurosciences, Centre de Recherche CHU Québec, Université Laval, Canada.

