



HAL
open science

Actualisation du diagnostic d'une série de 109 gliomes diffus selon la classification OMS 2016

Saeideh Khalessi

► **To cite this version:**

Saeideh Khalessi. Actualisation du diagnostic d'une série de 109 gliomes diffus selon la classification OMS 2016. Médecine humaine et pathologie. 2018. dumas-02083858

HAL Id: dumas-02083858

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02083858>

Submitted on 29 Mar 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ de CAEN NORMANDIE

FACULTÉ de MÉDECINE

Année 2017/2018

THÈSE POUR L'OBTENTION

DU GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le : 08 octobre 2018

par

Madame KHALESSI Saeideh

Née le 17/05/1989 à Mashhad (IRAN)

TITRE DE LA THÈSE :

Actualisation du diagnostic d'une série de 109 gliomes diffus selon la classification OMS 2016.

Président : Madame le Professeur CHAPON Françoise

Membres : Madame le Docteur LEVALLET Guénaëlle

Madame le Docteur BEKAERT Lien

Madame le Professeur LECHAPT ZALCMAN Emmanuèle

Directeur de thèse : Pr LECHAPT ZALCMAN Emmanuèle

Année Universitaire 2017 / 2018*Doyen**Professeur Emmanuel TOUZÉ**Assesseurs**Professeur Paul MILLIEZ (pédagogie)**Professeur Guy LAUNOY**Professeur Sonia DOLLFUS & Professeur Evelyne Emery (3^{ème} cycle)**Directrice administrative**Madame Sarah CHEMTOB***PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS**

M.	AOUBA Achille	Médecine interne
M.	AGOSTINI Denis	Biophysique et médecine nucléaire
M.	AIDE Nicolas	Biophysique et médecine nucléaire
M.	ALLOUCHE Stéphane	Biochimie et biologie moléculaire
M.	ALVES Arnaud	Chirurgie digestive
M.	BABIN Emmanuel	Oto-Rhino-Laryngologie
M.	BÉNATEAU Hervé	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
M.	BENOIST Guillaume	Gynécologie - Obstétrique
M.	BERGER Ludovic	Chirurgie vasculaire
M.	BERGOT Emmanuel	Pneumologie
M.	BIBEAU Frédéric	Anatomie et cytologie pathologique
M.	BIENVENU Boris	Médecine interne
Mme	BRAZO Perrine	Psychiatrie d'adultes
M.	BROUARD Jacques	Pédiatrie
M.	BUSTANY Pierre	Pharmacologie
Mme	CHAPON Françoise	Histologie, Embryologie
Mme	CLIN-GODARD Bénédicte	Médecine et santé au travail
M.	COQUEREL Antoine	Pharmacologie
M.	DAO Manh Thông	Hépatologie-Gastro-Entérologie
M.	DAMAJ Ghandi Laurent	Hématologie
M.	DEFER Gilles	Neurologie

M.	DELAMILLIEURE Pascal	Psychiatrie d'adultes
M.	DENISE Pierre	Physiologie
M.	DERLON Jean-Michel <small>Éméritat jusqu'au 31/08/2018</small>	Neurochirurgie
Mme	DOLLFUS Sonia	Psychiatrie d'adultes
M.	DREYFUS Michel	Gynécologie - Obstétrique
M.	DU CHEYRON Damien	Réanimation médicale
M.	DUHAMEL Jean-François <small>Éméritat jusqu'au 31/08/2018</small>	Pédiatrie
Mme	ÉMERY Evelyne	Neurochirurgie
M.	ESMAIL-BEYGUI Farzin	Cardiologie
Mme	FAUVET Raffaèle	Gynécologie – Obstétrique
M.	FISCHER Marc-Olivier	Anesthésiologie et réanimation
M.	GÉRARD Jean-Louis	Anesthésiologie et réanimation
M.	GUILLOIS Bernard	Pédiatrie
Mme	GUITTET-BAUD Lydia	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
M.	HABRAND Jean-Louis	Cancérologie option Radiothérapie
M.	HAMON Martial	Cardiologie
Mme	HAMON Michèle	Radiologie et imagerie médicale
M.	HANOUS Jean-Luc	Anesthésiologie et réanimation
M.	HÉRON Jean-François <small>Éméritat jusqu'au 31/08/2018</small>	Cancérologie
M.	HULET Christophe	Chirurgie orthopédique et traumatologique
M.	HURAUULT de LIGNY Bruno <small>Éméritat jusqu'au 31/01/2020</small>	Néphrologie
M.	ICARD Philippe	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
M.	JOIN-LAMBERT Olivier	Bactériologie - Virologie
Mme	JOLY-LOBBEDEZ Florence	Cancérologie
Mme	KOTTLER Marie-Laure	Biochimie et biologie moléculaire
M.	LAUNOY Guy	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
M.	LE COUTOUR Xavier	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
Mme	LE MAUFF Brigitte	Immunologie
M.	LEPORRIER Michel <small>Éméritat jusqu'au 31/08/2020</small>	Hématologie
M.	LEROY François	Rééducation fonctionnelle
M.	LOBBEDEZ Thierry	Néphrologie
M.	MANRIQUE Alain	Biophysique et médecine nucléaire
M.	MARCÉLLI Christian	Rhumatologie

M.	MARTINAUD Olivier	Neurologie
M.	MAUREL Jean	Chirurgie générale
M.	MILLIEZ Paul	Cardiologie
M.	MOREAU Sylvain	Anatomie/Oto-Rhino-Laryngologie
M.	MOUTEL Grégoire	Médecine légale et droit de la santé
M.	NORMAND Hervé	Physiologie
M.	PARIENTI Jean-Jacques	Biostatistiques, info. médicale et tech. de communication
M.	PELAGE Jean-Pierre	Radiologie et imagerie médicale
Mme	PIQUET Marie-Astrid	Nutrition
M.	RAVASSE Philippe	Chirurgie infantile
M.	REZNIK Yves	Endocrinologie
M.	ROUPIE Eric	Thérapeutique
Mme	THARIAT Juliette	Radiothérapie
M.	TILLOU Xavier	Urologie
M.	TOUZÉ Emmanuel	Neurologie
M.	TROUSSARD Xavier	Hématologie
Mme	VABRET Astrid	Bactériologie - Virologie
M.	VERDON Renaud	Maladies infectieuses
Mme	VERNEUIL Laurence	Dermatologie
M.	VIADER Fausto	Neurologie
M.	VIVIEN Denis	Biologie cellulaire
Mme	ZALCMAN Emmanuèle	Anatomie et cytologie pathologiques

PROFESSEUR DES UNIVERSITÉS

M.	LUET Jacques	Éméritat jusqu'au 31/08/2018	Médecine générale
----	--------------	------------------------------	-------------------

PROFESSEUR ASSOCIÉ DES UNIVERSITÉS A TEMPS PLEIN

M.	VABRET François	Addictologie
----	-----------------	--------------

PROFESSEURS ASSOCIÉS DES UNIVERSITÉS A MI-TEMPS

M.	de la SAYETTE Vincent	Neurologie
Mme	DOMPMARTIN-BLANCHÈRE Anne	Dermatologie
Mme	LESCURE Pascale	Gériatrie et biologie du vieillissement
M.	SABATIER Rémi	Cardiologie

PRCE

Mme	LELEU Solveig	Anglais
-----	---------------	---------

Année Universitaire 2017 / 2018

Doyen

Professeur Emmanuel TOUZÉ

Assesseurs

Professeur Paul MILLIEZ (pédagogie)

Professeur Guy LAUNOY

Professeur Sonia DOLLFUS & Professeur Evelyne Emery (3^{ème} cycle)

Directrice administrative

Madame Sarah CHEMTOB

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

M.	ALEXANDRE Joachim	Pharmacologie clinique
Mme	BENHAÏM Annie	Biologie cellulaire
M.	BESNARD Stéphane	Physiologie
Mme	BONHOMME Julie	Parasitologie et mycologie
M.	BOUVIER Nicolas	Néphrologie
M.	COULBAULT Laurent	Biochimie et Biologie moléculaire
M.	CREVEUIL Christian	Biostatistiques, info. médicale et tech. de communication
Mme	DEBRUYNE Danièle Éméritat jusqu'au 31/08/2019	Pharmacologie fondamentale
Mme	DERLON-BOREL Annie Éméritat jusqu'au 31/08/2020	Hématologie
Mme	DINA Julia	Bactériologie - Virologie
Mme	DUPONT Claire	Pédiatrie
M.	ÉTARD Olivier	Physiologie
M.	GABEREL Thomas	Neurochirurgie
M.	GRUCHY Nicolas	Génétique
M.	GUÉNOLÉ Fabian sera en MAD à Nice jusqu'au 31/08/18	Pédopsychiatrie
M.	HITIER Martin	Anatomie - ORL Chirurgie Cervico-faciale
M.	LANDEMORE Gérard sera en retraite à partir du 01/01/18	Histologie, embryologie, cytogénétique
M.	LEGALLOIS Damien	Cardiologie
Mme	LELONG-BOULOUARD Véronique	Pharmacologie fondamentale
Mme	LEPORRIER Nathalie Éméritat jusqu'au 31/10/2017	Génétique
Mme	LEVALLET Guénaëlle	Cytologie et Histologie
M.	LUBRANO Jean	Chirurgie générale
M.	MITTRE Hervé	Biologie cellulaire
M.	REPESSÉ Yohann	Hématologie

M. SESBOÛÉ Bruno	Physiologie
M. TOUTIRAIS Olivier	Immunologie

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIÉS DES UNIVERSITÉS A MI-TEMPS

Mme ABBATE-LERAY Pascale	Médecine générale
M. COUETTE Pierre-André	Médecine générale
M. GRUJARD Philippe	Médecine générale
M. LE BAS François	Médecine générale
M. SAINMONT Nicolas	Médecine générale

Remerciements

A Madame le Professeur Françoise CHAPON,

Qui me fait l'honneur de présider ce jury.

Je vous remercie de m'avoir fait partager durant mon internat votre passion pour la neuropathologie et de m'avoir transmis les bases de cette belle spécialité.

J'espère rester aussi investie et dynamique que vous.

Veillez trouver ici l'expression de ma respectueuse reconnaissance.

A Madame le Professeur Emmanuèle LECHAPT ZALCMAN,

Pour avoir accepté de diriger ce travail.

Je vous remercie vivement pour votre confiance et votre aide dans la réalisation de cette étude.

Vous m'avez permis, grâce à votre disponibilité, votre expérience et votre pragmatisme de mener à terme ce travail.

Veillez trouver ici le témoignage de ma gratitude et de ma profonde estime.

A Madame le Docteur Guénaëlle LEVALLET,

Qui me fait l'honneur de juger ce travail.

Veillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon plus grand respect.

A Madame le Docteur Lien BEKAERT,

Qui me fait l'honneur de juger ce travail.

Veillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon plus grand respect.

Aux Professeurs P. ROUSSELOT, F. GALATEAU-SALLE et F. BIBEAU, aux Docteurs H. ELIE, L. JITARU, C. BAZILLE, F.COMOZ, J.J. MICHELS, G. PLANCHARD, C. LE NAOURES, M. DOXAT, L. FABRE, C. BLANC-FOURNIER, C. JEANNE-PASQUIER, V. SAGUET-RYZANEC,

Merci à tous de m'avoir fait progresser et d'avoir assuré ma formation tout au long de l'internat. Veuillez trouver ici l'expression de ma plus grande considération.

A Monsieur le Docteur Maxime Faisant,

Un immense merci pour avoir fait l'étude statistique de ce mémoire, ta gentillesse et ta disponibilité.

A Monsieur le Docteur Eric Anger,

Vous m'avez accueilli dans votre laboratoire à Alençon le temps d'un semestre et de quelques remplacements. Ces six mois ont été très enrichissants et je ne suis pas prête d'oublier tous vos conseils, mais aussi votre manière de travailler, votre gentillesse et votre confiance. Je vous remercie vivement.

Au Professeur A. L'HERMINE COULOMB et aux Docteurs S. BOUDJEMAA, J. KOURDA et R. JABBOUR,

Ces six mois de stage ont été très enrichissants sur les plans professionnel et humain. Je vous remercie pour votre accueil, votre enseignement et votre gentillesse durant cette parenthèse parisienne.

A toutes les équipes de techniciennes et secrétaires d'anatomopathologie du CHPC de Cherbourg, du CHU de Caen, du cabinet privé de pathologie d'Alençon, du CLCC François Baclesse de Caen et de l'hôpital d'Armand-Trousseau,

Merci pour tout ce que vous m'avez appris, et pour tous les moments de convivialité passés ensemble.

A mes chers co-internes, Céline, Alice-Sophie, David, Coralie, Bastien, Marie, Marine, Marc, Anne-Laure, Gauthier, Adèle et Maxime,

J'ai eu beaucoup de plaisir à travailler avec vous durant ces cinq années d'internat. Nous avons appris à nous connaître et à travailler ensemble dans la bonne humeur et l'entraide, tous ces moments sont précieux !

A Thevapriya,

Depuis le semestre d'internat aux services des urgences d'Argenteuil, notre amitié s'est renforcée. Merci pour tous ces moments agréables que nous avons eu ensemble.

A Shima,

Très bonne amie sincère depuis plus de 14 ans maintenant. J'espère que notre amitié reste telle qu'elle pour toujours.

A Monsieur le Docteur Kamran MORADKHANI,

Je n'oublierai pas les cours de biologie et de génétique que vous m'avez donnés lorsque j'étais en terminale et en PCEM1. Merci pour tous vos conseils qui m'ont toujours été précieux.

A ma famille,

A mes grands-parents maternels et paternels,

Merci pour votre amour, vos conseils et votre soutien.

A mes parents,

Vous avez toujours été présents durant toutes ces longues années d'étude. Votre soutien indéfectible et vos encouragements ont été très précieux et ils ont largement contribué à ma réussite. Je vous remercie et je vous aime profondément.

A mes sœurs Kimia et Kyana,

J'ai vraiment beaucoup de chance de vous avoir, vous êtes des perles. Je vous remercie et je vous aime.

Abréviations

1p : Bras court du chromosome 1

10p : Bras court du chromosome 10

10q : Bras long du chromosome 10

19q : Bras long du chromosome 19

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ARN : Acide Ribonucléique

ATRX : Alpha thalassemia/mental retardation syndrome X-linked

CCNU : Chloroéthyl Cyclohexyl Nitroso-Urée

CGH array : Puce d'hybridation génomique comparative

CHU : Centre hospitalo-universitaire

DIPG : Diffuse Intrinsic Pontine Glioma

FFPE : Formalin-Fixed Paraffin-Embedded

FISH : Hybridation in situ en fluorescence

HES : Hématoxyline-Eosine-Safran

IDH1 : Isocitrate deshydrogenase 1

IDH2 : Isocitrate deshydrogenase 2

LOH : Lost of heterozygoty

NEC : Not Elsewhere Specified

NGS : Next Generation Sequencing

NOS : Not Otherwise Specified

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCR : Réaction en chaîne par polymérase

PCV : Procarbazine, CCNU, Vincristine

POLA : Prise en charge des OLigodendrogliomes Anaplasiques

SNC : Système nerveux central

SNP : Système nerveux périphérique

Tableaux et figures

Figure 1: Algorithme pour la classification des gliomes diffus basé sur l'analyse histologique et moléculaire, d'après l'OMS du SNC 2016	5
Figure 2: Diagramme de flux	12
Figure 3: Courbe de survie globale de tous les patients de l'étude	14
Figure 4: Reclassification des 109 gliomes diffus selon la classification de l'OMS 2016	15
Figure 5: Répartition des tumeurs gliales reclassées selon la classification de l'OMS 2016	19
Figure 6: Courbes de survie globale des types histologiques selon l'OMS 2007	20
Figure 7: Courbes de survie globale des types histologiques selon l'OMS 2016	20
Figure 8: Courbes de survie globale des 3 groupes (Gliomes IDH^{wt} , gliomes IDH^{mut} , non codélétés et gliomes IDH^{mut} et codélétés) selon la classification de l'OMS 2016	26
Tableau 1 : Les caractéristiques des patients	13
Tableau 2 : Caractéristiques cliniques et moléculaires des 4 patients inclassés	18
Tableau 3 : Médiane de survie et la survie à 5 ans des types histologiques selon l'OMS 2007	21
Tableau 4 : Médiane de survie et la survie à 5 ans des types histologiques selon l'OMS 2016	22
Tableau 5 : Comparaisons par paires des courbes de survie globale des types histologiques selon l'OMS 2007	22
Tableau 6: Comparaisons par paires des courbes de survie globale des types histologiques selon l'OMS 2016	23
Tableau 7: Analyse multivariée (modèle de Cox) des courbes de survie globale des types histologiques selon les classifications de l'OMS 2007 et 2016	24
Tableau 8: Comparaisons par paires des courbes de survie globale des 3 groupes (Gliomes IDH^{wt} , gliomes IDH^{mut} , non codélétés et gliomes IDH^{mut} et codélétés)	27
Tableau 9 : Des exemples de diagnostics NEC chez un adulte atteint d'un gliome diffus de grade II (D'après Louis et al. 2018)	32

Table des matières

I.	Introduction.....	1
A.	Les gènes IDH (isocitrate deshydrogénase).....	2
B.	La codéletion 1p/19q	3
C.	Gène <i>TP53</i>	3
D.	Gène <i>ATRX</i>	4
E.	Objectifs.....	6
II.	Matériel et Méthodes.....	7
A.	Type d'étude.....	7
B.	Sélection des patients.....	7
1.	Critères d'inclusion.....	7
2.	Recueil des données cliniques.....	7
C.	Déroulement de l'étude immuno-moléculaire.....	8
D.	Etude immunohistochimique.....	8
1.	Technique de l'étude immunohistochimique	8
E.	Biologie moléculaire.....	8
1.	LOH (loss of heterozygosity)	9
2.	FISH (hybridation in situ en fluorescence)	9
3.	Mutations <i>IDH1/2</i>	10
F.	Analyses statistiques	10
III.	Résultats.....	12
A.	Le diagramme de flux de l'étude.....	12
B.	Les caractéristiques des patients.....	12
C.	Les gliomes diffus OMS 2007 reclassés selon l'OMS 2016.....	14
1.	Les données moléculaires	15

2.	Reclassification des oligodendrogliomes	16
3.	Reclassification des astrocytomes	16
4.	Reclassification des oligoastrocytomes.....	17
5.	Reclassification des glioblastomes.....	17
6.	Gliomatoses cérébrales	18
D.	Les gliomes diffus OMS 2007 non reclassés	18
E.	Analyses de survie.....	19
1.	Courbes de survie globale	20
2.	Analyse univariée (comparaisons par paires)	22
a)	Classification OMS 2007.....	22
b)	Classification OMS 2016.....	23
3.	Analyse multivarié (modèles de Cox).....	24
4.	Courbe de survie globale de 3 groupes de patients (Gliomes IDH^{wt} , gliomes IDH^{mut} , non codélétés et gliomes IDH^{mut} et codélétés)	26
a)	Analyse univariée (comparaisons par paires)	27
IV.	Discussion	28
A.	Mutation d' IDH et codélétion 1p/19q, des altérations moléculaires robustes	28
B.	Valeur du statut d'ATRAX en immunohistochimie.....	28
C.	Patients non reclassés :.....	30
D.	L'impact pronostique de la classification de l'OMS 2016	33
E.	Perspectives :	34
V.	Conclusion.....	36
VI.	Bibliographie	37

I. Introduction

Les gliomes diffus représentent les tumeurs malignes primitives du système nerveux central (SNC) les plus fréquentes de l'adulte (1). L'incidence annuelle est de 5,5 cas pour 100 000 habitants en Europe (2). Elles peuvent apparaître à tout âge, mais il y a une augmentation de l'incidence à partir de 40 ans, avec un pic à 65 ans. Les gliomes affectent les cellules gliales qui sont des cellules qui forment l'environnement des neurones dans le SNC. Dans le SNC, les cellules gliales incluent les astrocytes, les oligodendrocytes et les cellules épendymaires.

Les gliomes diffus étaient jusqu'en 2016, classifiés selon la 4^{ème} édition de la classification de l'OMS 2007. La classification 2007 était uniquement basée sur l'histologie et classait les gliomes selon le type cellulaire prédominant (astrocytaire, oligodendrocytaire ou mixte (oligoastrocytaire)) et le grade, allant du grade II au grade IV (3).

Cependant la classification de l'OMS 2007 comportait de nombreuses limites. Le manque de reproductibilité et la variabilité inter-observateurs étaient des points critiques de cette classification s'appuyant sur les critères pathologiques. En effet, d'après l'étude menée par Martin J. van den Bent (4), il existe 30% de discordance inter-observateurs après une seconde relecture des tumeurs gliales.

En 2016, une mise à jour de la 4^{ème} édition de la classification OMS a été publiée (5). Auparavant, en 2014, avait eu lieu à Haarlem, sous l'égide de la Société Internationale de Neuropathologie, une réunion permettant de proposer des lignes directrices pour cette révision de l'OMS (6). L'objectif de cette nouvelle classification histo-moléculaire est de regrouper les entités diagnostiques biologiquement homogènes et conduire à une plus grande précision diagnostique, une meilleure gestion des patients et à une détermination plus précise du pronostic et de la réponse au traitement (5). La classification révisée propose un diagnostic « intégré » qui oppose les gliomes diffus infiltrants aux gliomes circonscrits.

Dans cette nouvelle classification, les statuts des mutations des gènes *IDH 1* et *2*, de la codélétion 1p/19q, du gène *TP53* et du gène *ATRX* (alpha thalassemia/mental retardation syndrome X-linked) sont intégrés au diagnostic. Ces marqueurs moléculaires sont également considérés comme des facteurs pronostiques et/ou prédictifs (7). En se basant sur ces marqueurs moléculaires, cette nouvelle classification permet de séparer les gliomes diffus de phénotype astrocytaire des gliomes diffus de phénotype oligodendrogial.

Les astrocytomes *IDH* mutés (*IDH*^{mut}) sont définis par :

- La mutation des gènes *IDH*
- L'absence de codélétion 1p/19q
- La perte d'expression nucléaire de l'ATRAX

Les oligodendrogliomes *IDH*^{mut} codélétés sont définis par :

- La mutation des gènes *IDH*
- La codélétion 1p/19q
- La conservation de l'expression nucléaire de l'ATRAX

La nouvelle classification de l'OMS introduit également la notion de NOS (Not Otherwise Specified). Ce terme NOS est réservé aux gliomes diffus de bas grade dans lesquels une caractérisation moléculaire (statut mutationnel *IDH* et/ou le statut de codélétion des chromosomes 1p/19q) n'est pas réalisable. Ceci peut-être dû à plusieurs raisons : soit l'analyse moléculaire n'a pas pu être effectuée soit les résultats ont été peu concluants.

Le grading des tumeurs gliale n'a pas changé. Il est basé sur l'analyse de la différenciation tumorale, de la cellularité, des atypies cytonucléaires, de l'activité mitotique, de la prolifération endothélio-capillaire et de la nécrose permettant de classer la tumeur en grade II (gliomes infiltrants de bas grade), III (gliomes anaplasiques) ou IV (glioblastomes) (1).

Dans les astrocytomes, l'existence de deux images de mitoses indiscutables conduit vers un grade III. Pour les oligodendrogliomes, l'OMS ne donne pas d'indication précise. En France, le seuil de six mitoses pour dix champs à l'objectif x40 est préconisé depuis la publication de l'étude POLA (Prise en charge des OLigodendrogliomes Anaplasiques). Le diagnostic de glioblastome est porté en cas de présence d'une prolifération endothélio-capillaire et/ou nécrose quel que soit le type de prélèvement et quelle que soit la présence des autres critères (nombre de mitoses, atypies cytonucléaires).

A. Les gènes *IDH* (isocitrate deshydrogénase)

Plus récemment, la pratique de la neuro-oncologie a été modifiée par la découverte de la mutation *IDH* comme altération clé et précoce de la gliomagenèse (8).

Les mutations des gènes *IDH* sont fréquentes dans les gliomes adultes de grade II et III ainsi que le glioblastome secondaire et sont un facteur pronostique significatif. La

présence d'une mutation dans les gènes *IDH* est associée à un pronostic plus favorable, à une chimiosensibilité accrue et à une meilleure survie globale dans les gliomes de grades II, III et IV (9).

Les deux isoformes *IDH1* et *IDH2* sont les plus étudiées en neuro-oncologie. Les mutations d'*IDH1* sont beaucoup plus fréquentes que celles d'*IDH2*, respectivement dans 85% et 3% des gliomes de grade II (9). Ces mutations d'*IDH1* et d'*IDH2* sont mutuellement exclusives. Quand une mutation d'*IDH1* est présente, il s'agit dans plus de 93 % des cas de la mutation R132H dont le produit est reconnu par l'anticorps anti-R132H utilisé en pratique diagnostique.

B. La codélation 1p/19q

La codélation 1p/19q connue depuis plusieurs années, est l'apanage des oligodendrogliomes. Elle résulte de la translocation déséquilibrée avec point de cassure centromérique $t(1;19)(q10;p10)$. Elle est associée à une meilleure survie et à une chimiosensibilité accrue (10). En effet, cette altération apparaît être un marqueur prédictif de réponse au PCV (Procarbazine, CCNU, Vincristine). A l'inverse, la perte partielle de chromosome 1p, souvent associée au phénotype astrocytaire, est associée à une survie beaucoup plus faible que la perte du bras entier (11).

C. Gène *TP53*

La mutation *TP53* est retrouvée dans plus de 60% des astrocytomes (12). Les mutations de *TP53* conduisent à l'accumulation intranucléaire de la protéine mutée aisément détectable en immunohistochimie. En pratique, on considère que l'immunomarquage anti-P53 est significatif si plus de 10% des noyaux tumoraux sont positifs avec un signal d'expression intense. La surexpression de la protéine p53 est liée à une chimiorésistance acquise et à une croissance tumorale accrue (13). Par ailleurs, la codélation 1p/19q et la mutation *TP53* représentent deux altérations moléculaires mutuellement exclusives (9).

D. Gène *ATRX*

Les mutations somatiques du gène thalassémie alpha lié au chromosome X avec retard mental (*ATRX*) sont fréquentes chez les tumeurs gliales astrocytaires *IDH* mutés. Les mutations de l'*ATRX* peuvent être détectées en immunohistochimie à l'aide d'un anticorps spécifique d'*ATRX*. La perte d'expression de la protéine *ATRX* en immunohistochimie témoigne d'une mutation d'*ATRX* (14). D'après l'étude réalisée sur 405 patients menée par l'équipe de Reuss (14), en appliquant l'approche intégrant les données moléculaires, les auteurs ont démontré 97 % de mutation d'*ATRX* chez les astrocytomes *IDH*^{mut} de grade II ou III. En revanche, aucun oligodendrogliome de grade II et 3% des oligodendrogliomes de grade III ont présenté une mutation de l'*ATRX*. Une autre étude menée par l'équipe de Ebrahimi (15) sur 1064 patients a démontré 85 % de mutation d'*ATRX* chez les astrocytomes *IDH*^{mut} de grade II ou III.

Cette distribution montre clairement le potentiel du statut *ATRX* comme marqueur moléculaire utile permettant de distinguer l'astrocytome de l'oligodendrogliome dans les tumeurs présentant une mutation des gènes *IDH*.

Dans la classification de l'OMS 2016, le groupe des gliomes mixtes (oligoastrocytomes) qui faisait l'objet de désaccord entre les neuropathologistes, a pratiquement disparu et il est fortement recommandé de ne plus faire ces diagnostics. Les gliomes mixtes présentent soit un profil de type astrocytaire soit de type oligodendrogliol. Si le profil moléculaire est discordant ou si ces altérations n'ont pas été recherchées, il s'agira d'un gliome mixte NOS.

En résumé, le diagnostic intégré s'effectue comme présenté ci-dessous (Figure 1) :

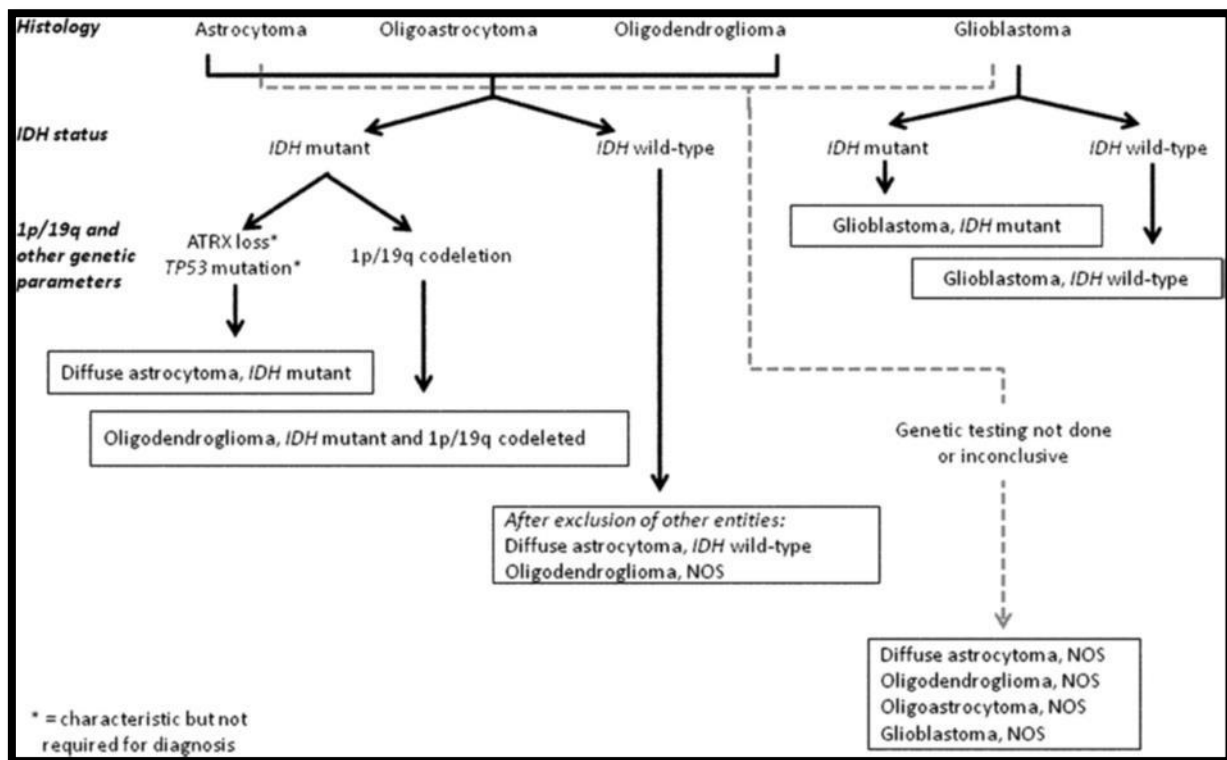


Figure 1 : Algorithme pour la classification des gliomes diffus basé sur l'analyse histologique et moléculaire, d'après l'OMS du SNC 2016

En outre, la nouvelle classification OMS 2016 reconnaît de nouvelles entités comme les "gliomes diffus de la ligne médiane, avec la mutation *H3K27M*". Elles sont définies par des mutations faux-sens dans les gènes codant pour les protéines des histones H3.3 (*H3F3A*) ou H3.1 (*HIST1H3B/C*), qui génèrent de la lysine à la substitution de la méthionine au niveau de l'acide aminé 27 (K27M). Ces gliomes prédominent chez les enfants mais peuvent aussi se voir chez l'adulte, et se localisent par définition sur la ligne médiane (tronc cérébral, au thalamus, cervelet et la moëlle épinière). Anciennement, ces tumeurs étaient appelées DIPG (diffuse intrinsic pontine glioma) ou gliome infiltrant du tronc cérébral. La découverte d'une mutation *H3 K27M*, quel que soit l'aspect morphologique confère un pronostic plus défavorable par rapport aux gliomes diffus sans mutation des histones *IDH* wildtype (*IDH^{wt}*). En effet, malgré les thérapies actuelles, le taux de survie à 2 ans est de 10% (7). Ces tumeurs présentent le même phénotype moléculaire qu'un glioblastome primaire *IDH^{wt}* (*IDH^{wt}*, codélation intacte et *ATRX* conservé). Cependant 10 à 15% de mutation d'*ATRX* est également rapporté dans la littérature (7).

La gliomatose cérébrale est également supprimée de la nouvelle classification de l'OMS 2016 car il s'agit d'une présentation clinico-radiologique particulière mais non associée avec un type histomoléculaire précis. Elle se caractérisait par une infiltration généralisée et généralement bilatérale du cerveau impliquant trois lobes ou plus.

Depuis la publication de cette nouvelle classification, plusieurs auteurs se sont intéressés à reclasser leur tumeurs gliales et à évaluer sa faisabilité. En 2016, l'équipe française de Tabouret et *al.* (16) a étudié la faisabilité et l'impact pronostique de la nouvelle classification sur 1041 patients inclus dans la cohorte nationale française POLA. Ces patients étaient suspects de présenter un gliome diffus de haut grade avec une composante oligodendrogliale. Dans les principaux résultats, les auteurs ont noté un changement de grade (III versus IV) avec une fréquence accrue du glioblastome. En effet plus de 50% des oligoastrocytomes de grade III ont été reclassés en glioblastome (*IDH* muté ou *IDH* wild-type) de grade IV. Sur le plan de l'intérêt pronostique, ils ont montré que la nouvelle classification OMS 2016 a un impact pronostique significatif sur la survie sans progression et la survie globale ($p < 0.001$).

Les auteurs n'ont pas mis en évidence de différence de pronostic significative dans les groupes de grade III et IV des gliomes *IDH*^{mut} sans codélétion 1p/19q et *IDH*^{wt}. Ceci est en partie expliqué par la définition de l'anaplasie qui repose sur l'index mitotique, un paramètre qui n'est pas toujours reproductible.

E. Objectifs

L'objectif de notre étude était d'appliquer le diagnostic intégré sur une série de 109 gliomes adultes de différents types histologiques et de grade de malignité afin de démontrer sa faisabilité et son impact pronostique.

II. Matériel et Méthodes

A. Type d'étude

Il s'agit d'une étude de cohorte rétrospective, analytique, observationnelle et monocentrique réalisée au centre hospitalo-universitaire (CHU) de Caen.

B. Sélection des patients

1. Critères d'inclusion

Pour cette étude nous avons sélectionné les 113 patients âgés de plus de 18 ans, atteints de gliomes diffus de grade II à IV, opérés entre 1990 à 2014, inclus dans différentes études d'imagerie ou observationnelles réalisées par le service de neuropathologie du CHU de Caen (ClinicalTrials.gov identifier: NCT00850278, NCT01200134). Les prélèvements étaient archivés au sein de la collection du service d'anatomie et cytologie pathologiques du CHU de Caen. Seuls 109 patients pour lesquels un bloc de tissu tumoral était disponible pour la réalisation des analyses complémentaires ont été inclus.

2. Recueil des données cliniques

Les données cliniques des patients ont été recueillies sur les dossiers informatisés du CHU de Caen ou du centre de lutte contre le cancer de François Baclesse ou à partir des dossiers papiers archivés pour les plus anciens non informatisés.

Les critères suivants étaient recueillis pour chaque patient inclus :

- Âge
- Sexe
- Date de diagnostic
- Date de chirurgie
- Type histologique avec grade initial
- Le type d'exérèse (totale, subtotale >90%, partielle < 90%, biopsie)
- Traitement complémentaire à la chirurgie (Aucun, Stupp (radio-chimiothérapie concomitante, radiothérapie seule, chimiothérapie seule ou autres)
- Évolution : apparition de récurrence

- Survie globale (date des dernières nouvelles) et sans progression

C. Déroulement de l'étude immuno-moléculaire

1) Pour tous les patients, le statut de la mutation d'*IDH1R132H* a été recherché en immunohistochimie. En l'absence de mutation *IDH1R132H*, comme préconisé par la classification de l'OMS 2016, les mutations minoritaires d'*IDH1/2* ont été recherchées en biologie moléculaire pour tous les patients de moins de 55 ans. En parallèle, le statut de l'ATRX a été recherché en immunohistochimie pour les patients dont la tumeur gliale n'avait pas une morphologie typique de glioblastome.

2) Pour les cas *IDH* mutés, une recherche de la codélétion 1p/19q ainsi que du statut de l'ATRX en immunohistochimie a été effectuée.

D. Etude immunohistochimique

1. Technique de l'étude immunohistochimique

L'étude immunohistochimique a été réalisée sur automate de coloration BenchMark XT (VentanaMedical Systems Inc, Tucson, AZ) avec les anticorps suivants :

- Anticorps anti-*IDH1R132H* (clone H09, Dilution 1/20^e, Clinisciences)
- Anticorps anti-ATRX (clone polyclonal, Dilution 1/200^e, SIGMA)

Les anticorps fixés ont été détectés avec un complexe avidine-biotine-peroxydase et un kit de Ventana avec du réactif 3,3'-diaminobenzidine (DAB).

Lorsque les résultats de l'immunohistochimie *IDH1R132H* étaient négatifs ou peu fiables, le statut des mutations *IDH1* et *IDH2* a été abordé par séquençage direct à l'aide de méthode de Sanger.

E. Biologie moléculaire

Nous avons analysé la codélétion des chromosomes 1p/19q par perte d'hétérozygotie (LOH = loss of heterozygosity) ou par hybridation in situ en fluorescence (FISH).

1. LOH (loss of heterozygosity)

Une coupe colorée à l'HES a été évaluée par une neuropathologiste, qui a marqué sur cette coupe la zone tumorale contenant au minimum 70% de cellules tumorales. Pour rechercher la codélétion 1p/19q, de l'ADN génomique (ADNg) a été extrait du tissu tumoral et du sang total utilisant le kit QiaAmp DNA mini (Qiagen SA, Courtaboeuf, France) selon les instructions du fabricant. Cent nanogrammes d'ADNg normal et tumoral ont été utilisés comme matrice pour l'amplification en chaîne par polymérase (polymerase chain reaction, PCR) en présence de 1µl d'amorce sens et antisens (20pmol/µL), 1µL MgCl₂ (25µM), 1µL dNTP (10µM), 0.1µL Hot Start Taq (Qiagen), et 2.5µL Buffer 10x (Qiagen), dans un volume final de 25µL. Les amorces sens et anti-sens utilisées sont mentionnées en annexe 1. Les conditions de l'amplification étaient conformes à celles précisées par le fabricant de l'ADN-polymérase. Pour vérifier l'absence de contamination, des contrôles négatifs (sans ADN) ont été réalisés. Les produits de la PCR ont été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose à 2% pendant 20 minutes à 130V.

La LOH sur les chromosomes 1p, 19q a été évaluée à l'aide d'une analyse microsatellite. De multiples marqueurs microsatellites polymorphes ont été utilisés pour effectuer une analyse approfondie de ces régions chromosomiques. Nous avons utilisé 12 marqueurs microsatellites dans cette analyse : D1S206, D1S226, D1S476, D1S2734, D1S199, et D1S214 pour 1p et D19S254, D19S206, D19S219, D19S418, D19S409 et D19S433 pour 19q. L'analyse des fragments obtenus se fait en comparaison des profils 'tissu sain' et 'tissu tumoral' pour chaque microsatellite.

2. FISH (hybridation in situ en fluorescence)

Des coupes représentatives non colorées de 3 à 5 µm d'épaisseur ont été découpées depuis des blocs inclus en paraffine, étalées sur des lames Superfrost et séchées à température ambiante. Ces coupes ont été déparaffinées par 2 bains successifs d'Histo-Clear™ de 10 minutes, réhydratées dans des bains successifs d'éthanol à 100%, 80%, 70% pendant 3 minutes et lavées dans du tampon de lavage Dako pendant 3 minutes. Les lames ont été ensuite immergées pendant 15 minutes dans la solution de prétraitement Dako chauffée à 97°C, puis refroidies à l'air pendant 15 minutes. Les coupes ont ensuite été digérées dans une solution de pepsine Dako pendant 15 minutes à 37°C, lavées avec le tampon de lavage Dako, déshydratées dans des bains successifs d'éthanol à 70%, 80% et 100% pendant 2 minutes et séchées à l'air. Les sondes ont été préparées selon les

instructions du fabricant. Les sondes utilisées étaient : Sonde ZytoLight SPEC 19q13/19p13 *zytovision* et Sonde ZytoLight SPEC 1p36/1q25 *zytovision*. 5 µl du mélange a été déposé sur 20x20mm de la surface de la lame puis scellé avec du rubber cement. Les lames scellées ont été placées sur la plaque chauffante de l'appareil à hybridation et le programme correspondant à la sonde a été lancé. Après l'hybridation, toutes les lames ont été lavées dans du tampon de lavage stringent Dako chauffée à 65°C (±2) pendant 10 minutes, puis déshydratées dans des bains successifs d'éthanol à 70%, 80% et 100% pendant 2 minutes et séchées verticalement à l'air et à l'abri de la lumière. Pour la contre-coloration, 1 à 3 µl de milieu de montage/DAPI (fourni avec le kit Dako) a été appliqué. Les lames ont été ensuite montées. Il a fallu respecter un temps d'incubation d'au moins 2 heures au frigo avant l'observation. Puis les lames ont été observées au microscope à fluorescence. La lecture se fait sur 100 cellules tumorales sur lesquelles on compte le nombre de signaux rouge et vert. Le bras court du chromosome 1 et le bras long du chromosome 19, s'hybrident avec la sonde rouge. Le bras long du chromosome 1 et le bras court du chromosome 19 s'hybrident avec la sonde verte. Une cellule est considérée codélétée si elle a deux signaux verts et un seul signal rouge.

3. Mutations *IDH1/2*

Les mutations des gènes *IDH1* et *IDH2*, ont été évaluées par séquençage cyclique bidirectionnel des fragments amplifiés par PCR.

Les amorces utilisées étaient les suivants : *IDH1*-sens: 5'-CTCCTGATGAGAAGAGGGTTG-3', *IDH1*-anti-sens: 5'-TGGAAATTTCTGGGCCATG-3', *IDH2*-sens: 5'-TGGAACTATCCGGAACATCC-3', *IDH2*-anti-sens: 5'-AGTCTGTGGCCTTGTACTGC-3'.

F. Analyses statistiques

La collection des données a été effectuée sur tableur informatique Excel (version 14.0.7194.5000). L'étude de survie (analyses et graphiques) a été réalisée avec le logiciel R (version 3.5.0). Les courbes de survie globale ont pris en considération comme événement la survenue d'un décès de toutes causes confondues et ont été construites par la méthode de Kaplan-Meier. Pour comparer les courbes de survie des différents groupes, un test de Log-rank a été utilisé. Une analyse multivariée a été réalisée selon un modèle de Cox, après

vérification de l'hypothèse d'homogénéité des risques instantanés pour chaque covariable. Cette vérification a été réalisée par analyse des résidus de Schoenfeld. Pour chaque test statistique réalisé, le risque alpha de premier ordre a été fixé à 0.05 et les hypothèses ont été formulées de manière bilatérale.

III. Résultats

A. Le diagramme de flux de l'étude

En se basant sur la nouvelle classification histomoléculaire de l'OMS 2016, sur les 109 patients sélectionnés pour l'étude, 105 patients ont été reclassés et 4 patients n'ont pas pu être reclassés. Sur les 105 patients reclassés, 8 patients étaient en récurrence au moment de leur inclusion dans l'étude. Finalement, 97 patients ont été retenus pour l'analyse statistique.

La figure 2, montre le diagramme de flux de l'étude.

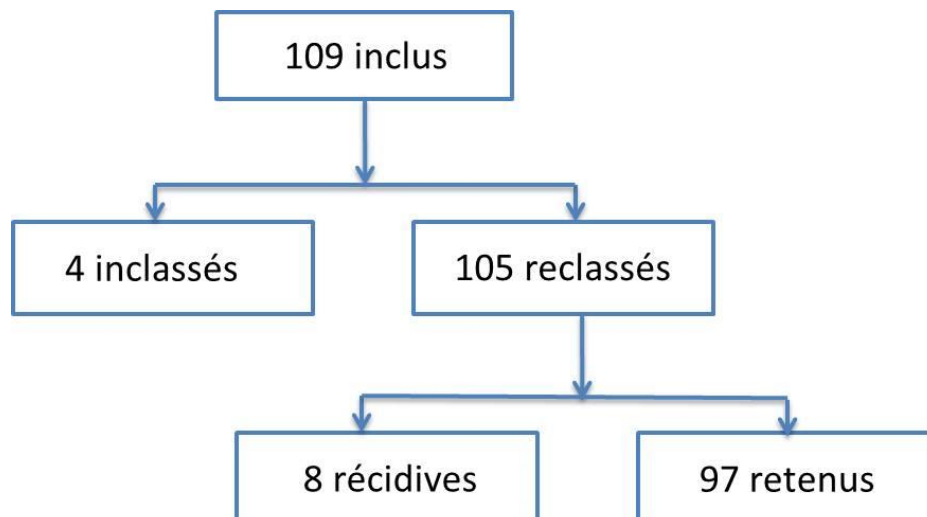


Figure 2 : Diagramme de flux

B. Les caractéristiques des patients

Au total, 109 patients atteints de gliome diffus de grade II à IV opérés entre 1990 à 2014 ont été inclus dans cette étude. L'âge médian au diagnostic était de 50,25 ans. 38,53% des patients ont bénéficié d'une exérèse chirurgicale complète et le traitement de la première ligne correspondait à l'association de la chimiothérapie et de la radiothérapie pour 41,28 % des patients. Plus de la moitié des patients ont récidivé malgré leur traitement initial (57,79%). 65,13 % des patients étaient décédés. La médiane de survie globale de tous les patients était de 5,11 ans (Figure 3).

Les caractéristiques cliniques des patients de notre cohorte sont résumées dans le tableau 1.

Facteurs	N	%
Age (moyenne) avec les écarts en années	50,25 (22-79)	
Le sexe (Homme-Femme)	69 / 40	63,3/36,69
Type d'exérèse ¹		
Totale	42/109	38,53
Subtotale >90%	17/109	15,59
Partielle < 90%	40/109	36,69
Biopsie	8/109	7,33
Inconnu	2/109	1,83
Traitement complémentaire		
Aucun	27/109	24,77
Radiothérapie seule	16/109	14,67
Chimiothérapie seule	15/109	13,7
Protocole Stupp	45/109	41,28
Autres	6/109	5,50
Immunohistochimie et les Altérations moléculaires		
Mutations <i>IDH1/2</i>	63/109	57,79
Codélétion 1p/19q	27/109	24,77
Perte de l'ATRAX	30/109	27,52
Survenue d'une récurrence		
OUI	63/109	57,79
NON	46/109	42,2
Décès		
OUI	71/109	65,13
NON	31/109	28,44
Perdus de vue	7/109	6,42

Tableau 1 : Les caractéristiques des patients

¹ Le type d'exérèse a été déterminé selon le compte-rendu opératoire du neurochirurgien.

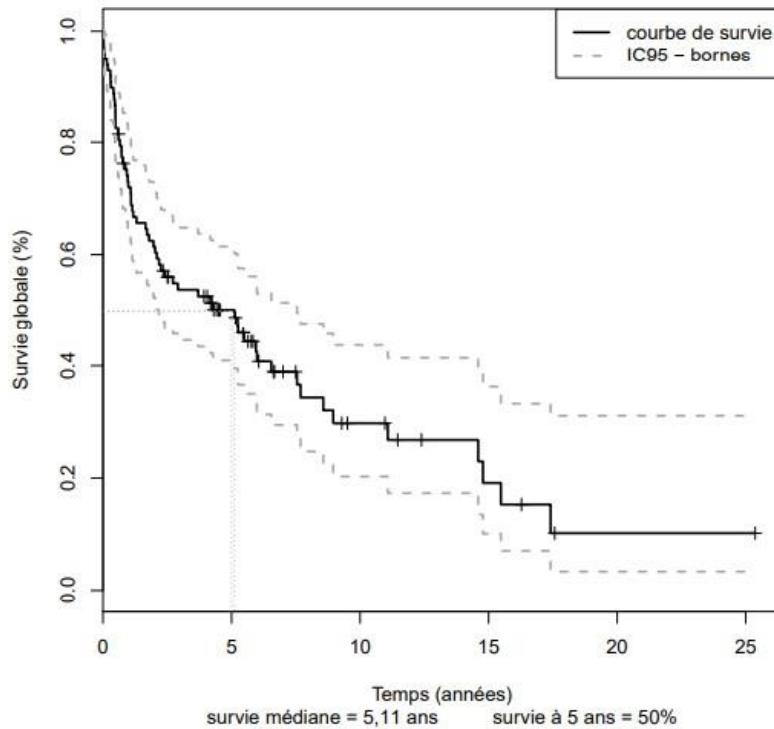


Figure 3 : Courbe de survie globale de tous les patients de l'étude

C. Les gliomes diffus OMS 2007 reclassés selon l'OMS 2016

Ces 109 patients étaient classifiés comme suit : Astrocytome diffus (3), oligodendrogliome diffus (17), oligoastrocytome (13), astrocytome anaplasique (5), oligodendrogliome anaplasique (19), oligoastrocytome anaplasique (9), glioblastome (41) et gliomatose cérébrale (2).

105 patients ont été reclassés (Figure 4).

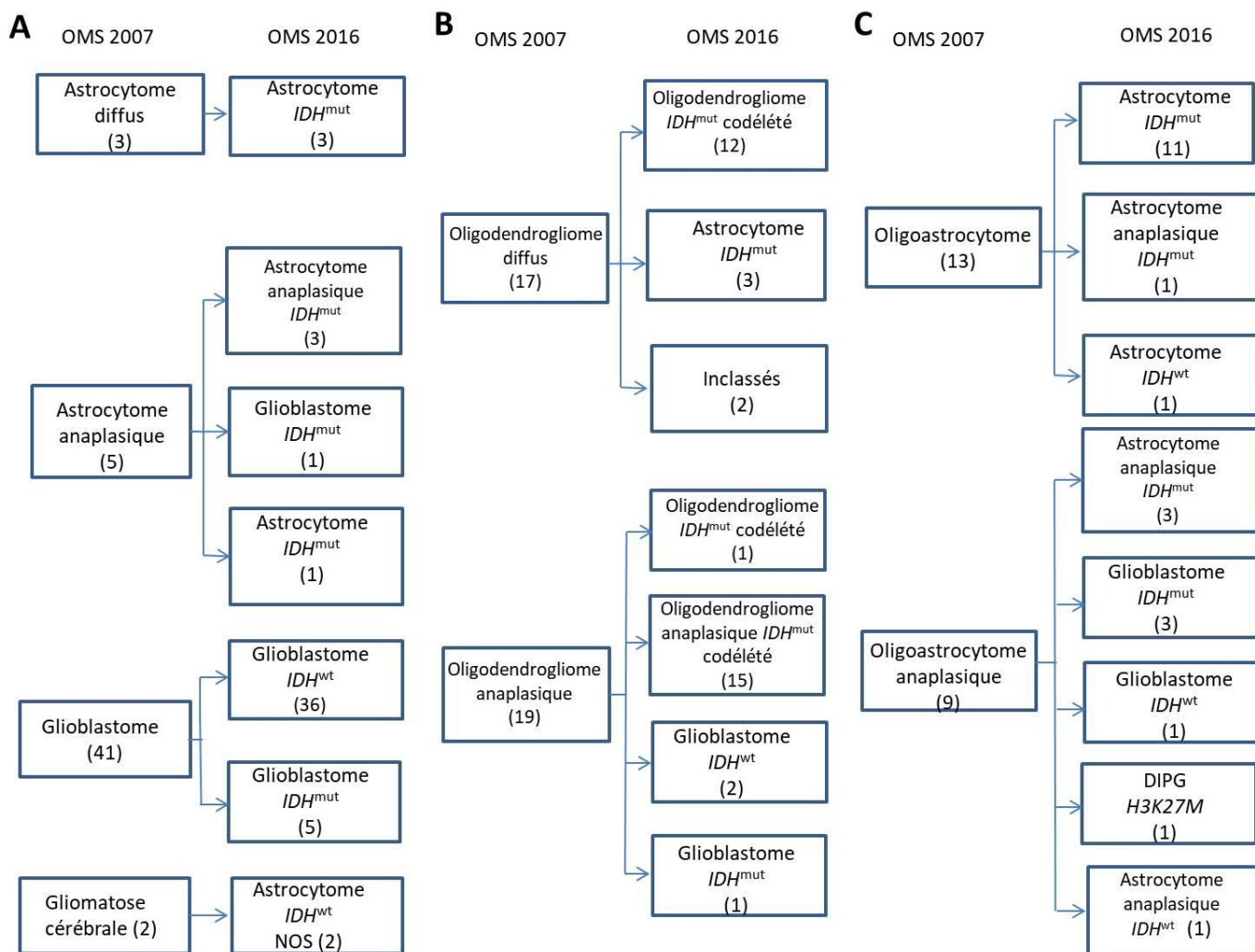


Figure 4: Reclassification des 109 gliomes diffus selon la classification de l'OMS 2016

A : Tumeurs astrocytaires B: Les oligodendrogliomes C: Les oligoastrocytomes

1. Les données moléculaires

63/109 (57,79 %) des patients avaient une tumeur gliale avec mutation des gènes *IDH*. Aucune mutation rare des gènes *IDH1/2* n'a été trouvée chez 7 patients ayant un glioblastome et âgés de moins de 55 ans. 27/109 (24,77%) des patients avaient une tumeur avec la codélétion 1p/19q. 30/109 (27,52%) des patients avaient une tumeur gliale exprimant l'*ATRX* en immunohistochimie.

2. Reclassification des oligodendrogliomes

Les 36 oligodendrogliomes de grade II ou III selon l'OMS 2007 sont reclassés comme suit :

- 28 oligodendrogliomes IDH^{mut} codélétés
- 3 astrocytomes IDH^{mut}
- 1 glioblastome IDH^{mut}
- 2 glioblastomes IDH^{wt}

Aucun cas n'a présenté de discordance entre la codélétion 1p/19q et l'ATRX.

Concernant le grade :

- Sur les 17 oligodendrogliomes diffus de grade II :
 - ✓ 16 patients ont conservé leur grade initial
 - ✓ 1 patient a été reclassé en grade III comportant plus de 6 mitoses pour 10 champs de fort grandissement (x400)
- Sur les 19 oligodendrogliomes anaplasiques de grade III :
 - ✓ 15 patients ont conservé leur grade initial
 - ✓ 1 patient a été reclassé en grade II
 - ✓ 3 patients ont été reclassés en glioblastome de grade IV (1 glioblastome IDH^{mut} , non codélété, ATRX conservé et 2 glioblastomes IDH^{wt})

3. Reclassification des astrocytomes

Les 8 astrocytomes de grade II ou III selon l'OMS 2007 présentaient une mutation IDH . Aucun ne présentait de codélétion 1p/19q mais un astrocytome était IDH^{mut} , non codélété et avec ATRX conservé.

Concernant le grade :

- Sur les 3 astrocytomes diffus de grade II :

- ✓ Tous les patients ont conservé leur grade initial
- Sur les 5 astrocytomes anaplasiques de grade III :
 - ✓ 3 patients ont conservé leur grade initial
 - ✓ 1 patient a été reclassé en grade II
 - ✓ 1 patient a été reclassé en glioblastome de grade IV comportant de la prolifération endothélio-capillaire

4. Reclassification des oligoastrocytomes

Parmi les 22 oligoastrocytomes de grade II ou III selon l'OMS 2007, aucun n'est reclassé comme un oligodendrogliome IDH^{mut} , codéléété. Ils sont reclassés comme suit :

- 15 astrocytomes IDH^{mut} (4/15 patients conservent l'expression de l'ATRX en immunohistochimie)
- 3 glioblastomes IDH^{mut}
- 1 glioblastome IDH^{wt}
- 1 Gliome diffus de la ligne médiane

Concernant le grade :

- Sur les 13 oligoastrocytomes de grade II :
 - ✓ 12 patients ont conservé leur grade initial
 - ✓ 1 patient a été reclassé en grade III
- Sur les 9 oligoastrocytomes anaplasiques de grade III :
 - ✓ 4 patients ont conservé leur grade initial
 - ✓ 5 patients ont été reclassés en glioblastomes de grade IV comportant de la prolifération endothélio-capillaire

5. Reclassification des glioblastomes

Parmi les 41 glioblastomes selon l'OMS 2007, une mutation d' IDH avec perte d'expression d'ATRX a été retrouvée dans 5 cas. Tous ces 5 patients avaient moins de 55 ans sauf un (Age médian = 40 ans).

6. Gliomatoses cérébrales

Les deux gliomatoses cérébrales avaient une morphologie de tumeur astrocytaire et étaient *IDH*^{1/2} wildtype. Ils ont été reclassés en astrocytome *IDH*^{wt} de grade II.

D. Les gliomes diffus OMS 2007 non reclassés

Nous n'avons pas reclassé 4 cas. Le tableau 2 résume leurs caractéristiques cliniques et moléculaires.

Cas	Age au diagnostic	Localisations	Diagnostic 2007	Mutations <i>IDH1/2</i>	Codélétion 1p/19q	ATRX	Récidive	Décès
1 ^e	44 ans (2004)	Temporale gauche	Oligoastrocytome grade II	Absentes	Absente	Conservé	Inconnu	Inconnu
2 ^e	41 ans (1995)	Frontale gauche	Oligodendrogliome grade II	Absentes	Non interprétable	Conservé	Non	Oui (2017)
3 ^e	49 ans (2011)	Frontale droite	Oligodendrogliome grade II	Absentes	Absente	Conservé	Oui (2013)	Non
4 ^e	47 ans (2014)	Temporale gauche	Oligoastrocytome grade III	Absentes	Absente	Perdu	Non	Non

Tableau 2 : Caractéristiques cliniques et moléculaires des 4 patients inclasés

- Aucun de ces gliomes classés comme des gliomes infiltrants sur l'examen morphologique ne présentait les mutations d'*IDH1/2*. L'absence des mutations d'*IDH1/2* a été reconstrôlée dans un second laboratoire (Dr R. SAFFROY, Plateforme de bio-pathologie des tumeurs-Groupe hospitalier Paul Brousse-Bicêtre-Antoine Beclère).
- L'expression de la protéine ATRX était conservée pour 3 des cas sauf pour l'oligoastrocytome anaplasique de grade III.
- La recherche de la codélétion 1p/19q a été effectuée de façon systématique. Elle était absente pour 3 cas et non interprétable dans un cas.

8 patients en récurrence au moment de leur inclusion dans l'étude n'ont pas été retenus pour l'analyse statistique de survie.

La figure 5, montre la répartition des 97 patients conservés pour l'étude statistique.

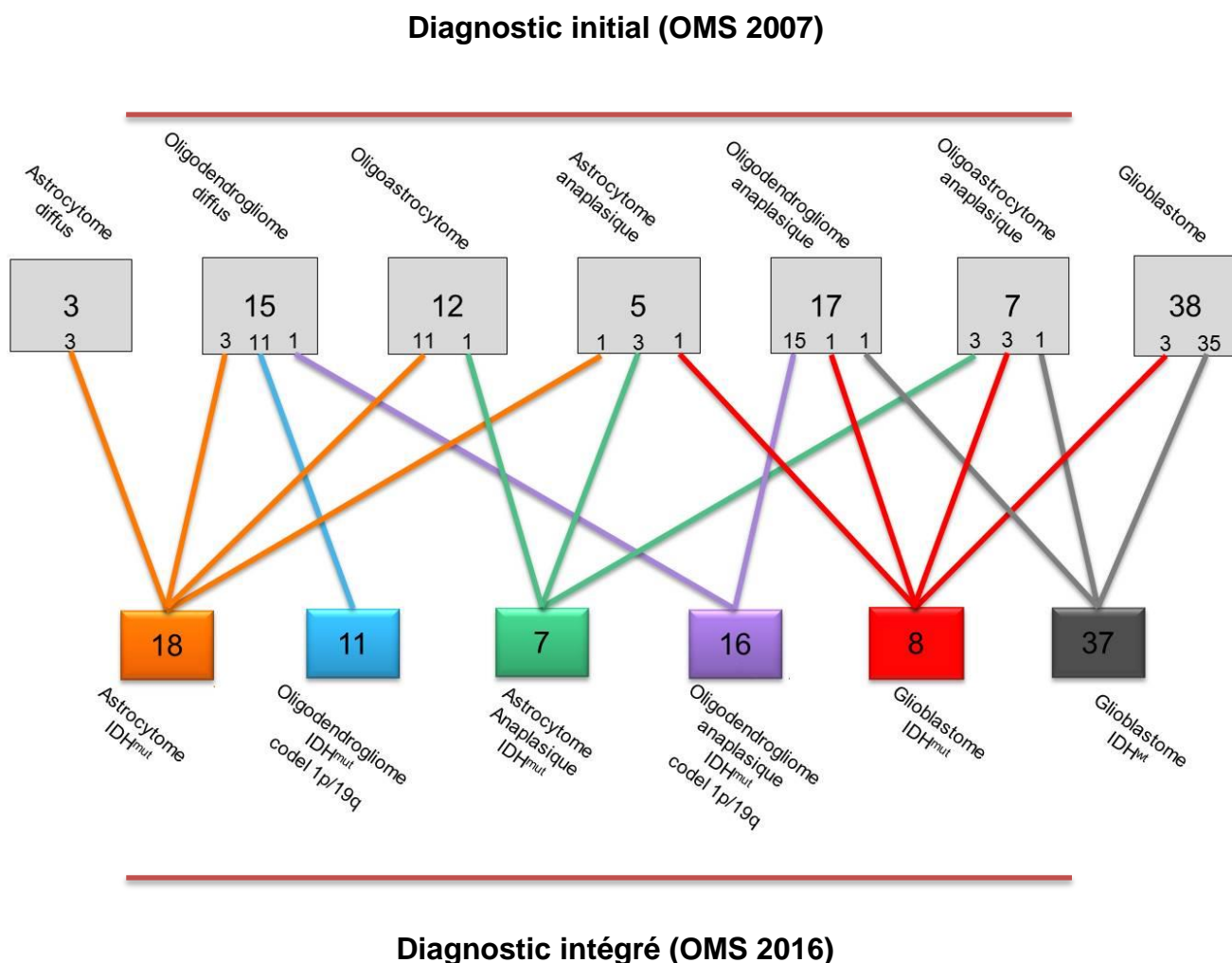


Figure 5 : Répartition des tumeurs gliales reclassées selon la classification de l'OMS 2016

E. Analyses de survie

1. Courbes de survie globale

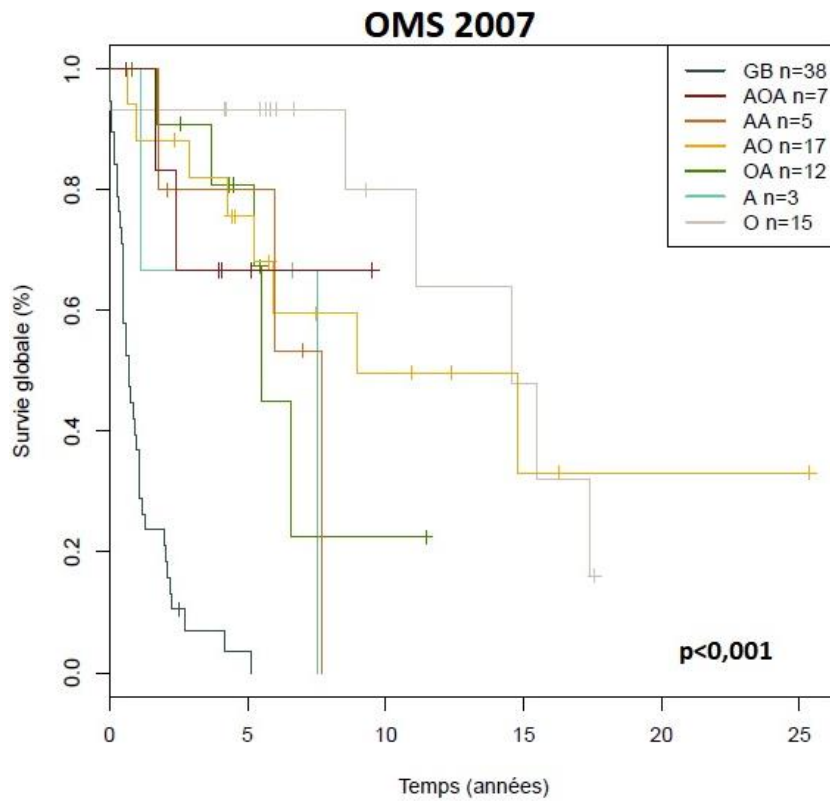


Figure 6 : Courbes de survie globale des types histologiques selon l'OMS 2007

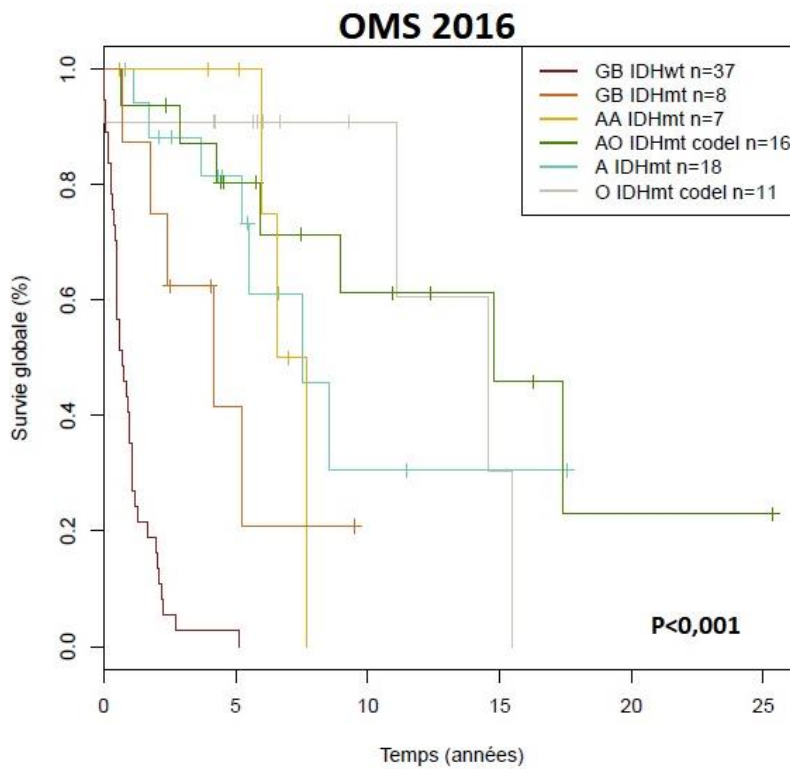


Figure 7 : Courbes de survie globale des types histologiques selon l'OMS 2016

Graphiquement, on peut conclure ceci :

- Pour les deux graphiques la p-value globale est significative ($p < 0,001$).
- Les courbes de survie des types histologiques sont plus distinctes (se croisent moins) avec la classification OMS 2016 (Figure 7) qu'avec celle de 2007 (Figure 6).
- La courbe des glioblastomes selon la classification 2007 comme celle des glioblastomes *IDH^{mt}* de la classification OMS 2016 ne croisent aucune autre courbe. Il semble donc que la survie de ces groupes explique en grande partie la significativité globale des tests du log-rank ($p < 0,001$ pour les deux classifications).

NB : Une p-value significative d'un test de log-rank global réalisé entre plus de deux courbes signifie qu'au moins une des courbes diffère significativement d'au moins une autre.

Pour chaque groupe les médianes de survie et à la survie à 5 ans sont indiquées dans les tableaux suivants :

Histologie 2007	Médiane de survie (Années)	Survie à 5 ans (%)	Nombre d'effectif
O	14,6	95	15
A	7,5	65	3
OA	5,4	80	12
AO	8,9	75	17
AA	7,6	80	5
AOA	Non applicable	65	7
GBM	0,7	5	38

Tableau 3 : Médiane de survie et la survie à 5 ans des types histologiques selon l'OMS 2007

O: Oligodendrogliome, A: Astrocytome, OA: Oligoastrocytome, AO: Oligodendrogliome anaplasique, AA: Astrocytome anaplasique, AOA: Oligoastrocytome anaplasique, GBM: Glioblastome

Histologie 2016	Médiane de survie (Années)	Survie à 5 ans (%)	Nombre d'effectif
O IDH^{mut} codéléte	14,5	90	11
A IDH^{mut}	7,5	82	18
AO IDH^{mut} codéléte	14,7	80	16
AA IDH^{mut}	7,11	100	7
GBM IDH^{mut}	4	41	8
GBM IDH^{wt}	0,7	4	37

Tableau 4 : Médiane de survie et la survie à 5 ans des types histologiques selon l'OMS 2016

O IDH^{mut} codéléte : Oligodendrogliome IDH muté codéléte, A IDH^{mut} : Astrocytome IDH muté, AO IDH^{mut} codéléte: Oligodendrogliome anaplasique IDH muté codéléte, AA IDH^{mut} : Astrocytome anaplasique IDH muté
 GBM IDH^{mut} : Glioblastome IDH muté, GBM IDH^{wt} : Glioblastome IDH wildtype

2. Analyse univariée (comparaisons par paires)

Afin de déterminer, pour chacune des deux classifications, quelles courbes sont significativement différentes, une solution est de les comparer deux à deux :

a) Classification OMS 2007

	O	A	OA	AO	AA	AOA	GBM
O (15)		0.01²	0.03²	0.27 ²	0.01²	0.25 ²	< 0.0001¹
A (3)			0.95 ²	0.55 ²	0.63 ²	0.47 ²	0.0135¹
OA (12)				0.66 ²	0.72 ²	0.79 ²	< 0.0001¹
AO (17)					0.62 ²	0.79 ²	< 0.0001¹
AA (5)						0.87 ²	0.0009¹
AOA (7)							0.0005¹
GBM(38)							

Tableau 5 : Comparaisons par paires des courbes de survie globale des types histologiques selon l'OMS 2007

O: Oligodendrogliome, A: Astrocytome, OA: Oligoastrocytome, AO: Oligodendrogliome anaplasique, AA: Astrocytome anaplasique, AOA: Oligoastrocytome anaplasique, GBM: Glioblastome

¹: Test de Mantel-Haenszel si les deux courbes ne se croisent pas

²: Test de Gehan-Wilcoxon si les deux courbes se croisent

Les p-values significatives (<0,05) sont mises en gras.

Dans la classification de l'OMS 2007, il s'avère que :

- La courbe de survie des glioblastomes diffère significativement de tous les autres types : les glioblastomes sont de moins bon pronostic que les autres types de gliomes diffus ($p < 0,001$, sauf vis-à-vis des astrocytomes diffus $p = 0.01$).
- Les oligodendrogliomes de grade II ont une meilleure survie par rapport :
 - ✓ Aux astrocytomes de grade II ($p=0,01$)
 - ✓ Aux oligoastrocytomes de grade II ($p=0,03$)
 - ✓ Aux astrocytomes anaplasiques ($p=0,01$)
- Le grade n'impacte pas significativement la survie des astrocytomes diffus :
 - ✓ Absence de différence significative entre les A et les AA ($p=0,63$)
 - ✓ Absence de différence significative entre les A et les AOA ($p=0,48$)
- Le grade n'impacte pas significativement la survie des oligodendrogliomes diffus :
 - ✓ Absence de différence significative entre les O et les AO ($p=0,27$)
 - ✓ Absence de différence significative entre les O et les AOA ($p=0,26$)

b) Classification OMS 2016

	O	A	AO	AA	GBM ^{mut}	GBM ^{wt}
O (11)		0.21 ²	0.96 ²	0.12 ²	0.02 ²	< 0.0001 ¹
A (18)			0.43 ²	0.74 ²	0.15 ¹	< 0.0001 ¹
AO (16)				0.57 ²	0.03 ²	< 0.0001 ¹
AA (7)					0.06 ²	< 0.0001 ¹
GBM ^{mut} (8)						0.0002 ¹
GBM ^{wt} (37)						

Tableau 6: Comparaisons par paires des courbes de survie globale des types histologiques selon l'OMS 2016

O: Oligodendrogliome *IDH* muté codé-lété A: Astrocytome *IDH* muté AO: Oligodendrogliome anaplasique *IDH* muté codé-lété AA: Astrocytome anaplasique GBM^{mut}: Glioblastome *IDH* muté, GBM^{wt}: Glioblastome *IDH* wildtype

¹: Test de Mantel-Haenszel si les deux courbes ne se croisent pas

²: Test de Gehan-Wilcoxon si les deux courbes se croisent

Les p-values significatives ($<0,05$) sont mises en gras.

Dans la classification de l'OMS 2016 :

- La courbe des glioblastomes IDH^{wt} diffère significativement de tous les autres groupes avec une survie moins bonne, y compris avec le groupe des glioblastomes IDH^{mut} .
- La courbe de survie des glioblastomes IDH^{mut} diffère significativement des oligodendrogliomes de grade II et III (respectivement $p=0,02$ et $p=0.03$).
- Aucune différence significative n'existe entre les glioblastomes IDH^{mut} et les astrocytomes de grade II et III.
- Aucune différence significative n'existe entre les groupes des gliomes de grade II et III, autant en comparant les grades entre eux et les types histologiques entre eux.

3. Analyse multivarié (modèles de Cox)

Une étude de survie multivariée a été réalisée par modèle de Cox pour chacune des deux classifications OMS 2007 et 2016. Préalablement à l'interprétation de ces deux modèles, l'hypothèse de l'homogénéité des survies instantanées (essentielle pour obtenir un modèle de Cox mathématiquement valide) a été vérifiée par analyse des résidus de Schoenfeld (p -value > 0,05 pour chaque résidu de chaque covariable des deux modèles de Cox).

		HR	IC95	p-value
OMS 2007	O	Référence	-	-
	A	3.88	0,72-20.81	0.11
	OA	3.01	0.84-10.75	0.09
	AO	1.55	0.53-4.50	0.42
	AA	3.65	0.84-15.88	0.08
	AOA	2.53	0.48-13.38	0.28
	GBM	34.26	11.11-105.67	<0.001
OMS 2016	O	Référence	-	-
	A	1.57	0.45-5.46	0.48
	AO	0.94	0.27-3.28	0.93
	AA	2.04	0.44-9.47	0.36
	GBM ^{mut}	4.55	1.17-17.67	0.03
	GBM ^{wt}	34.82	10.23-118.50	<0.001

Tableau 7: Analyse multivariée (modèle de Cox) des courbes de survie globale des types histologiques selon les classifications de l'OMS 2007 et 2016

HR : hazard ratio

IC95 : intervalle de confiance à 95%

2007: O: Oligodendrogliome A: Astrocytome OA: Oligoastrocytome AA: Astrocytome anaplasique

AOA: Oligoastrocytome anaplasique GBM: Glioblastome

2016: O: Oligodendrogliome *IDH* muté codé-lété A: Astrocytome *IDH* muté AO: Oligodendrogliome anaplasique *IDH* muté codé-lété AA: Astrocytome anaplasique GBM^{mut} : Glioblastome *IDH* muté GBM^{wt} : Glioblastome *IDH* wildtype

Etant donné que les oligodendrogliomes sont réputés être le type de gliome diffus de meilleure survie, pour chacun des deux modèles de Cox, ce type a été choisi comme référence.

Ainsi, avec la classification OMS 2007, il s'avère que :

- Les glioblastomes sont significativement de plus mauvais pronostic, avec un hazard ratio significatif (34,26 ; intervalle de confiance = 11,11-105,65 ; p-value<0,001).
 - ✓ En d'autres termes, selon la classification OMS 2007, les glioblastomes ont une survie globale diminuée d'un facteur 34,3 par rapport à celle des oligodendrogliomes diffus.
- Les hazard ratio des autres groupes ne sont pas significatifs.

Avec la classification OMS 2016 :

- Les glioblastomes *IDH* mutés et wildtype présentent des hazard ratio statistiquement significatifs :
 - ✓ Les glioblastomes *IDH*^{mut} ont une survie globale diminuée d'un facteur 4,6 par rapport à celle des oligodendrogliomes diffus (p=0,03).
 - ✓ Les glioblastomes *IDH*^{wt} ont une survie globale diminuée d'un facteur 34,8 par rapport à celle des oligodendrogliomes diffus (p<0.001).
- Les glioblastomes dans la classification de l'OMS 2007 et les glioblastomes *IDH*^{wt} diffèrent significativement de tous les autres groupes avec une survie moins bonne (p<0,001).

Pour déterminer si la présence d'une mutation *IDH* d'un glioblastome induit un impact significatif de survie, un autre modèle de Cox a été réalisé, après vérification de l'homogénéité des risques instantanés selon la même méthode, mais en prenant cette fois comme référence de risque le groupe des glioblastomes *IDH*^{wt}.

- Ainsi, il s'avère que la présence d'une mutation *IDH* d'un glioblastome améliore le pronostic d'un facteur 7,7 ([2,75-21,31] ; $p < 0,001$).

4. Courbes de survie globale des 3 groupes de patients (Gliomes *IDH*^{wt}, gliomes *IDH*^{mut}, non codélétés et gliomes *IDH*^{mut} et codélétés)

Nous avons séparé l'échantillon en 3 groupes selon leurs statuts de mutation *IDH* et de la codélétion 1p/19q :

- Gliomes *IDH*^{wt} (Que des glioblastomes de grade IV)
- Gliomes *IDH*^{mut}, non codélétés (Grades II + III + IV)
- Gliomes *IDH*^{mut} et codélétés (Grades II + III)

Nous avons étudié la survie globale de chacun de ces trois groupes (Figure 8).

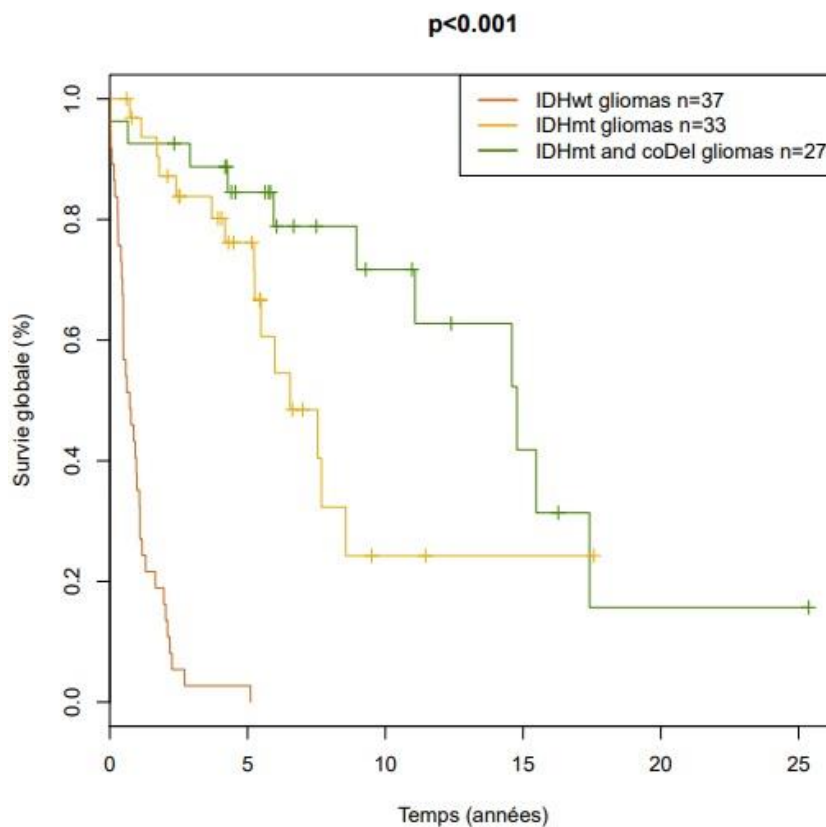


Figure 8: Courbes de survie globale des 3 groupes (Gliomes *IDH*^{wt}, gliomes *IDH*^{mut}, non codélétés et gliomes *IDH*^{mut} et codélétés) selon la classification de l'OMS 2016

Graphiquement, on peut conclure ceci :

- La p-value globale est significative ($p < 0,001$).
- Les courbes de survie globales des 3 groupes histo-moléculaires sont distinctes.
- La courbe des glioblastomes IDH^{wt} ne croise aucune autre courbe. Il semble donc que la survie de ce groupe (moins bonne) explique en grande partie la significativité globale des tests du log-rank ($p < 0,001$).
- La médiane de survie globale du groupe des oligodendrogliomes IDH^{mut} codélétés de grades II ou III est meilleure par rapport à celle du groupe des gliomes IDH^{mut} sans codélétion de grades II, III ou IV (15 versus 6,8 ans).

NB : Une p-value significative d'un test de log-rank global réalisé entre plus de deux courbes signifie qu'au moins une des courbes diffère significativement d'au moins une autre.

a) Analyse univariée (comparaisons par paires)

	Gliomes IDH^{mut} , codélétés	Gliomes IDH^{mut} , non codélétés	GBM IDH^{wt}
Gliomes IDH^{mut} , codélétés (27)		0,04	<0,001
Gliomes IDH^{mut} , non codélétés (33)			<0,001
GBM IDH^{wt} (37)			

Tableau 8: Comparaisons par paires des courbes de survie globale des 3 groupes (Gliomes IDH^{wt} , gliomes IDH^{mut} , non codélétés et gliomes IDH^{mut} et codélétés)

Les courbes de survie des 3 groupes diffèrent significativement l'une avec l'autre :

- La courbe de survie du groupe des gliomes IDH^{mut} et codélétés diffère significativement (meilleur pronostic) avec celles des groupes de gliomes IDH^{mut} , non codélétés et des glioblastomes IDH^{wt} (mauvais pronostic) (respectivement $p=0,04$ et $p < 0,001$).
- La courbe de survie du groupe des gliomes IDH^{mut} , non codélétés diffère significativement avec celle des glioblastomes IDH^{wt} ($p < 0,001$).

IV. Discussion

A. Mutation d'*IDH* et codélation 1p/19q, des altérations moléculaires robustes

Dans cette série, nous avons reclassé 96% des gliomes diffus. Sur les 113 gliomes initialement retrouvés, seul 4 n'ont pas pu être relus faute de matériel suffisant et répondent à la définition des gliomes diffus NOS.

Si dans notre expérience, la recherche par séquençage de mutation *IDH* a pu être mise en défaut, l'étude immunohistochimique s'avère fiable y compris sur les blocs de paraffine conservés depuis plus de 20 ans. La recherche de la codélation 1p/19q réalisée dans 18 cas par technique de FISH a été interprétable dans 90 %.

B. Valeur du statut d'*ATRX* en immunohistochimie

Finalement, l'étude immunohistochimique de l'expression d'*ATRX* s'est avérée la moins robuste. En effet la perte d'expression nécessite un pourcentage de cellules tumorales suffisantes avec une validité des contrôles internes (Marquage des neurones, cellules endothéliales). Si le diagnostic d'astrocytome repose aujourd'hui sur la présence d'une mutation d'*IDH* sans codélation 1p/19q, la perte d'expression d'*ATRX* est reconnue comme suffisante et ne nécessite pas la recherche de codélation par des techniques de biologie moléculaire. Dans le groupe des oligodendrogliomes, comme attendu la codélation ne s'est pas accompagnée d'une perte d'expression d'*ATRX*. Par contre, dans le groupe des patients reclassés en astrocytomes *IDH*^{mut} de grade II ou III, l'expression nucléaire d'*ATRX* s'est avérée conservée dans 20% des cas (5/25). Il est rapporté dans la littérature, qu'une minorité des astrocytomes *IDH*^{mut}, peuvent ne pas perdre l'*ATRX*.

D'après l'étude menée par l'équipe de Reuss (14), 3% des astrocytomes *IDH*^{mut} de grade II ou III, ne perdent pas l'expression nucléaire d'*ATRX* en immunohistochimie. L'expression nucléaire d'*ATRX* en immunohistochimie n'est pas toujours corrélée à la biologie moléculaire. En effet, ces tumeurs peuvent porter la mutation d'*ATRX* sans perte d'expression nucléaire en immunohistochimie (mutations faux-sens) (14). Il est également possible que l'expression de la protéine d'*ATRX* soit régulée par d'autres mécanismes que les mutations du gène d'*ATRX*, comme la méthylation de son promoteur. Ainsi devant un astrocytome *IDH*^{mut}, il faut avant tout s'assurer de l'absence de codélation 1p/19q et si possible rechercher la mutation d'*ATRX* en biologie moléculaire.

Dans un astrocytome *IDH*^{mut}, en l'absence de perte d'expression d'ATRAX, une expression nucléaire de P53 élevée plaide en faveur du diagnostic d'astrocytome *IDH*^{mut}.

Un patient présentait un glioblastome *IDH*^{mt} avec perte d'expression nucléaire d'ATRAX. Ce rare phénotype moléculaire a été déjà rapporté par l'équipe E.Tabouret et al. (16). Il est intéressant de s'assurer du bon déroulement de l'étude moléculaire. Chez notre patient, les mutations rares d'*IDH* étaient recherchées en 2007. Aujourd'hui les méthodes moléculaires sont plus sensibles. Ainsi nous avons reconstruit la technique (Dr R. SAFFROY, Plateforme de bio-pathologie des tumeurs - Groupe hospitalier Paul Brousse-Bicêtre-Antoine Beclère) et confirmé la négativité des mutations rares d'*IDH1/2*.

La perte d'ATRAX n'est pas pathognomonique du diagnostic d'astrocytome *IDH*^{mut}. En effet, d'autres gliomes sans mutations *IDH* peuvent présenter une perte d'expression d'ATRAX.

Parmi les tumeurs gliales de morphologie anaplasique *ATRAX* muté, nous pouvons évoquer :

1- Les glioblastomes avec instabilité microsatellitaire des gènes MMR

Notre patient avait un antécédent d'adénocarcinome colique. Ceci était notre première hypothèse. Un possible syndrome de Turcot a été évoqué. Le syndrome de Turcot est un syndrome héréditaire rare associant une tumeur du système nerveux central et une prédisposition héréditaire au cancer colorectal (Polypose adénomateuse familiale ou syndrome HNPCC (Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer) (17). Par conséquent, une recherche de l'instabilité microsatellitaire des gènes MMR (Mismatch Repair) a été effectuée en immunohistochimie. Parmi les différentes protéines MMR (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2), il y avait une perte d'expression de la protéine MSH6 en immunohistochimie. Une confirmation en biologie moléculaire (Dr R. SAFFROY, Plateforme de bio-pathologie des tumeurs-Groupe hospitalier Paul Brousse-Bicêtre-Antoine Beclère) a été demandée mais n'a pas trouvé de mutation. Devant cette discordance et comme ces tumeurs présentent des profils d'hypermuation de l'ADN (18), il est intéressant de réaliser un séquençage du whole exome. Une des particularités du syndrome de Turcot est la survenue précoce de la tumeur du SNC, or notre patient avait 64 ans au moment du diagnostic.

2- Les gliomes diffus de la ligne médiane avec la mutation *H3K27M* :

10 à 15% de mutation d'*ATRX* dans les gliomes diffus de la ligne médiane
H3K27M muté est rapportée dans la littérature (7).

3- Les glioblastomes pédiatriques (Mutations *G34R/V*, *ATRX* et *P53*)

4- Les astrocytomes pilocytiques ou d'aspect piloïde avec signes d'anaplasie (7)

C. Patients non reclassés :

Dans notre étude, nous n'avons pas reclassé 4 patients.

Tous les patients avaient une tumeur hémisphérique sus-tentorielle et avaient moins de 55 ans au moment du diagnostic (Tableau 2).

Sur le plan moléculaire, aucun cas n'avait les mutations des gènes *IDH1/2*. L'absence de mutation des gènes *IDH* est inhabituelle pour les gliomes diffus de grade II et III.

Ce groupe a fait depuis la publication de la classification de l'OMS 2016 l'objet de nombreux travaux.

L'équipe de Reuss et al. (14) a étudié une série de 160 tumeurs astrocytaires *IDH^{mt}* (120 astrocytomes anaplasiques de grade III et 40 astrocytomes de grade II) et a essayé de les reclasser par leurs altérations moléculaires (le profil de méthylation (G-CIMP) et la variabilité du nombre de copie). 124/160 (78%) des tumeurs ont été reclassés en tant qu'équivalent moléculaire du glioblastome conventionnel et 15/160 (9%) en tant que glioblastome-*H3F3A* muté. 13/160 (8%) présentaient un profil de méthylation distinct qui était le plus similaire à celui des glioblastomes *H3K27M* muté, cependant, il manquait la mutation *H3F3A*. Ce groupe a montré une tendance vers un pronostic plus favorable. 7 tumeurs parmi les 40 astrocytomes *IDH^{mt}* de grade II, ne comprenaient aucune altération ou des altérations chromosomiques mineures ou des trisomies. Ces tumeurs avaient été considérées appartenir aux groupes des tumeurs neuroépithéliales de bas grade. Selon ces auteurs, 80% des tumeurs *IDH^{mt}* sont le plus souvent des glioblastomes ou des glioblastomes *H3F3A* mutés et une petite fraction représente les tumeurs gliales de bas grade comme les astrocytomes pilocytiques ou les astrocytomes pléomorphes et les tumeurs glioneuronales.

L'équipe de Hasselblatt et al. (19) a étudié récemment une série de 212 astrocytomes diffus de grade II. 25/212 patients ne portaient pas les mutations des gènes d'*IDH1/2* et n'avaient pas de prise de contraste en imagerie. Sur ces 25 patients *IDH^{mt}*, le profil de méthylation de l'ADN et la variabilité du nombre de copie ont été étudiés. 10/25 des

astrocytomes *IDH^{mt}* avaient un profil de méthylation de l'ADN semblable aux glioblastomes *IDH^{mt}* et ont été reclassés en glioblastome, *IDH^{mt}*. 7 autres cas n'ont pas pu être reclassés en utilisant l'analyse du méthylome, mais ont montré les caractéristiques du glioblastome moléculaire (Gain du 7p, perte du 10q). Les autres astrocytomes *IDH^{mt}* ont été reclassés en gliome diffus de la ligne médiane *H3 K27M* muté, astrocytome diffus *IDH^{mut}*, astrocytome pilocytique ou en tissu cérébral réactif ou normal (N=8). Selon ces auteurs, la plupart des astrocytomes *IDH^{mt}* présentant des caractéristiques histologiques et radiologiques d'un astrocytome diffus de grade II présentent des caractéristiques moléculaires et cliniques de gliome de haut grade et peuvent représenter un stade précoce de glioblastome primaire.

Nous n'avons pas pu rechercher l'ensemble des altérations moléculaires chez nos patients.

Plusieurs diagnostics différentiels sont à évoquer chez ces patients :

- Les tumeurs glioneuronales rentrant dans le cadre des gliomes circonscrits (gangliogliome, tumeur dysembryoplasique neuroépithéliale). Dans l'hypothèse d'un gangliogliome, une recherche de la mutation V600E du gène *BRAF* et dans l'hypothèse d'une tumeur dysembryoplasique neuroépithéliale, des anomalies de *FGFR1* (mutations, duplications) pourraient être recherchées. L'imagerie a été revue avec le Dr L. Bekaert, elle n'était pas en faveur d'un gliome circonscrit. Aucun marquage extravasculaire de CD34 n'a été trouvé, ni de mutation *BRAF* V600E en biologie moléculaire.
- La gliose réactive fait également partie des diagnostics différentiels. Le double immunomarquage par ATRX/GFAP permet de faire la distinction entre une tumeur astrocytaire et une gliose réactive. Dans une tumeur astrocytaire on s'attend à avoir une perte d'ATRX et une GFAP positive. Dans une gliose réactive, nous aurons le double immunomarquage ATRX/GFAP (20).
- Chez le 4^e patient, devant des signes d'anaplasie en histologie, dans l'hypothèse d'un éventuel glioblastome, l'amplification de l'*EGFR* et l'altération du promoteur de *hTERT* ont été recherchées et étaient négatifs.
- Un glioblastome moléculaire. Mais nous n'avons pas pu compléter l'étude moléculaire dans ce sens. Le 4^e patient, inclus dans l'étude POLA avait bénéficié d'une CGH array (Puce d'hybridation génomique comparative) qui ne montrait pas de gain du 7p ni de perte du 10p.

Dans ces situations de discordance histologique, immunohistochimique et moléculaire, le diagnostic de gliome diffus *IDH^{mt}*, NEC (Not Elsewhere Classified) pourrait

être évoqué. Constatant, un pourcentage de cas pour lesquels, on note une discordance histo-moléculaire, le cIMPACT-NOW (le Consortium d'information sur les approches moléculaires et pratiques de la taxonomie des tumeurs du SNC - non officiel de l'OMS) a été créé pour évaluer et recommander des changements proposés aux futures classifications des tumeurs du SNC. Depuis sa création en 2016, cIMPACT a réuni trois comités de travail pour relever les défis actuels en matière de classification et de classement. La Commission de travail 3 a introduit le terme NEC. Les diagnostics NEC reflètent les situations dans lesquelles les tests nécessaires pour établir un diagnostic OMS ont été réalisés et sont disponibles, mais dans lesquels ces résultats ne permettent pas d'établir un diagnostic spécifique de l'OMS. Cela se produit généralement lorsque les caractéristiques histologiques, immunohistochimiques et / ou moléculaires ne concordent pas (21). Cependant, il s'agit d'un diagnostic d'élimination et doit être évoqué avec précaution.

Le tableau 9, montre quelques situations dans lesquelles les diagnostics NEC pourraient être utilisés chez un adulte atteint d'un gliome diffus de grade II (Les statuts *IDH* et de la codélétion 1p/19q sont utilisés pour le diagnostic) :

<u>Genetics</u>	<u>Histology</u>		
	Astrocytoma	Oligoastrocytoma	Oligodendroglioma
No genetic information available	Diffuse astrocytoma, NOS	Oligoastrocytoma, NOS	Oligodendroglioma, NOS
IDH-mutant but <u>not</u> 1p/19q-codeleted	Diffuse astrocytoma, IDH-mutant	Diffuse astrocytoma, IDH-mutant	<i>NEC-type diagnosis (e.g., "Diffuse glioma, IDH-mutant, NEC")*^</i>
IDH-mutant, 1p/19q-codeleted	Oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted	Oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted	Oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted
IDH-wildtype[#]	Diffuse astrocytoma, IDH-wildtype	<i>NEC-type diagnosis (e.g., "Diffuse glioma, IDH-wildtype, NEC")*</i>	<i>NEC-type diagnosis (e.g., "Diffuse glioma, IDH-wildtype, NEC")*</i>

Tableau 9 : Des exemples de diagnostics NEC chez un adulte atteint d'un gliome diffus de grade II (D'après Louis et al. 2018)

Les diagnostics en gras sont les entités communes et le pathologiste doit s'efforcer d'établir de tels diagnostics.

* Ces diagnostics de type NEC ne sont que des exemples et une formulation précise varie en fonction de la nature du cas.

D. L'impact pronostique de la classification de l'OMS 2016

La classification de l'OMS 2016 est validée et est en accord en partie avec les données de la littérature.

Les points significatifs retrouvés par notre étude étaient :

- Les glioblastomes *IDH*^{mut} ont un bien meilleur pronostic que les glioblastomes *IDH*^{wt}. Ceci a été retrouvé dans d'autres études. L'équipe Nobusawa S. et al. (22) a montré dans leur étude que la survie globale moyenne des patients atteints de glioblastomes *IDH*^{mut} était de 27,1 mois, soit 2,4 fois plus longue que celle des patients atteints de glioblastomes *IDH*^{wt} (11,3 mois) ($p < 0.0001$).
- Conformément à la littérature, la codélétion 1p/19q améliore significativement la survie. D'autres études ont retrouvées des résultats similaires (23) (24).
- Notre série montre que les oligoastrocytomes (médiane de survie globale de 5,4 ans) ont une courbe de survie statistiquement différente des oligodendrogliomes (médiane de survie globale de 14,6 ans) mais proche de celle des astrocytomes (médiane de survie globale de 7,5 ans). Donc on aurait plutôt tendance à dire que les oligoastrocytomes ressemblent plus à des astrocytomes que des oligodendrogliomes. Mais cette hypothèse ne pourrait s'affirmer avec certitude qu'avec un échantillon encore plus important que celui de notre étude.

Les points non retrouvés par notre étude étaient :

- L'absence d'impact significatif de grading II et III pour les astrocytomes
- L'absence d'impact significatif de grading II et III pour les oligodendrogliomes

De nombreuses études soulignent l'absence d'impact significatif sur la survie du grading tel qu'il est défini sur des critères histologiques (23) (24) (25).

Des études récentes proposent d'utiliser d'autres critères que la morphologie pour grader les gliomes diffus *IDH* mutés. Ainsi, l'équipe de Shirahata et al. (26) a étudié une série de 211 tumeurs astrocytaires *IDH* mutés de grade II à IV. Ils ont développé des algorithmes de grading basés sur des données moléculaires, morphologiques et cliniques. Ils ont montré que la délétion homozygote de *CDKN2A / B* est un facteur le plus pertinent

avec un impact pronostique significatif sur la survie globale. La délétion *CDKN2A/B* est étroitement liée à la prolifération cellulaire car la perte de p16 élimine l'inhibition des complexes CDK4 avec les cyclines D activant ainsi le cycle cellulaire (26). Les autres paramètres ayant une influence majeure étaient la nécrose et la variabilité du nombre de copie. La prolifération, telle qu'évaluée par le nombre de mitoses, qui est un paramètre clé dans la classification de l'OMS 2016 n'avait qu'une influence mineure. En utilisant ces paramètres les plus pertinents sur la survie globale, ils ont développé deux modèles de grading pour ces tumeurs puis validé dans 3 cohortes indépendantes de 108, 154 et 224 gliomes astrocytaires *IDH* mutés. Ces modèles avaient des résultats significativement meilleurs par rapport à ceux de l'OMS 2016.

E. Perspectives :

Pour l'instant, l'OMS 2016 est basée sur une combinaison de la classification histologique et moléculaire générant des diagnostics « intégrés ».

Néanmoins, il reste possible qu'avec les avancées génomiques plus profondes et plus larges, les futures classifications de l'OMS des gliomes diffus nécessiteront moins d'évaluation histologique et plus d'évaluation moléculaire.

Compte-tenu de la complexité décrite qui existe pour classer certaines tumeurs présumées gliales, différentes approches sont aujourd'hui proposées pour aider les neuropathologistes. Parmi ces approches, nous pouvons citer le séquençage de l'exome (pas de gènes ciblés) ou la NGS (séquençage de nouvelle génération) ciblée. GlioSeq® (27) développé à l'Université de Pittsburgh est un panel NGS ciblé conçu pour aider au diagnostic, au pronostic et au traitement des tumeurs du SNC chez les adultes et les enfants, y compris les tumeurs gliales. Il permet l'analyse simultanée d'un large panel d'altérations génétiques, y compris des mutations ponctuelles, des variations du nombre de copies, des variations structurelles (fusions / réarrangements) et ainsi augmenter le niveau de confiance. Le panel comprend les gènes *IDH*, *ATRX*, *TP53*, *H3K27M* et *TERT*, ainsi que les gènes fréquemment modifiés dans les gliomes *IDH*^{wt} (*EGFR*, *CDKN2A/B*, *PTEN*, *PIK3* et *NF1*). Ce test peut être réalisé sur de petites biopsies de tumeur cérébrale et des échantillons de tumeurs réséquées. Ainsi, il existe un énorme avantage à examiner un ensemble prédéterminé d'anomalies géniques pour parvenir à un diagnostic plus précis.

D'autres études proposent une analyse multidimensionnelle des signatures moléculaires des gliomes diffus identifiant des sous-groupes moléculaires distincts et permettant leur visualisation en deux dimensions (28).

Ces approches sans aucun doute aident à approfondir notre compréhension de la biologie des tumeurs cérébrales et faciliter leur diagnostic.

V. Conclusion

L'actualisation de la classification OMS 2016 permet de séparer dans la majorité des cas les gliomes diffus de phénotype astrocytaire des gliomes diffus de phénotype oligodendroglial et a une grande valeur pronostique. Son application soulève déjà de nouvelles questions, amenant le consortium cIMPACT-NOW à publier de nouvelles recommandations. Elle pose la question d'un nouveau système de grading pour les gliomes *IDH* mutés.

VI. Bibliographie

1. Ricard D, Idbaih A, Ducray F, Lahutte M, Hoang-Xuan K, Delattre J-Y. Primary brain tumours in adults. *Lancet*. 26 mai 2012;379(9830):1984- 96.
2. Ostrom QT, Gittleman H, Stetson L, Virk S, Barnholtz-Sloan JS. Epidemiology of Intracranial Gliomas. 2018;30:11.
3. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, et al. The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. *Acta Neuropathol*. août 2007;114(2):97- 109.
4. van den Bent MJ. Interobserver variation of the histopathological diagnosis in clinical trials on glioma: a clinician's perspective. *Acta Neuropathologica*. sept 2010;120(3):297- 304.
5. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathologica*. juin 2016;131(6):803- 20.
6. Louis DN, Perry A, Burger P, Ellison DW, Reifenberger G, von Deimling A, et al. International Society of Neuropathology-Haarlem Consensus Guidelines for Nervous System Tumor Classification and Grading: ISN-Haarlem Brain Tumor Classification Guidelines. *Brain Pathology*. sept 2014;24(5):429- 35.
7. Weltgesundheitsorganisation. WHO classification of tumours of the central nervous system. Revised 4th edition. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, éditeurs. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2016. 408 p. (World Health Organization classification of tumours).
8. Turkalp Z, Karamchandani J, Das S. *IDH* Mutation in Glioma: New Insights and Promises for the Future. *JAMA Neurology*. 1 oct 2014;71(10):1319.
9. Kim Y-H, Nobusawa S, Mittelbronn M, Paulus W, Brokinkel B, Keyvani K, et al. Molecular Classification of Low-Grade Diffuse Gliomas. *The American Journal of Pathology*. déc 2010;177(6):2708- 14.

10. Smith JS, Perry A, Borell TJ, Lee HK, O'Fallon J, Hosek SM, et al. Alterations of chromosome arms 1p and 19q as predictors of survival in oligodendrogliomas, astrocytomas, and mixed oligoastrocytomas. *J Clin Oncol.* févr 2000;18(3):636- 45.
11. Idbah A, Marie Y, Pierron G, Brennetot C, Hoang-Xuan K, Kujas M, et al. Two types of chromosome 1p losses with opposite significance in gliomas. *Ann Neurol.* sept 2005;58(3):483- 7.
12. Ohgaki H, Kleihues P. Genetic profile of astrocytic and oligodendroglial gliomas. *Brain Tumor Pathology.* juill 2011;28(3):177- 83.
13. Ricard D, Kaloshi G, Amiel-Benouaich A, Lejeune J, Marie Y, Mandonnet E, et al. Dynamic history of low-grade gliomas before and after temozolomide treatment. *Annals of Neurology.* mai 2007;61(5):484- 90.
14. Reuss DE, Sahm F, Schrimpf D, Wiestler B, Capper D, Koelsche C, et al. ATRX and IDH1-R132H immunohistochemistry with subsequent copy number analysis and IDH sequencing as a basis for an "integrated" diagnostic approach for adult astrocytoma, oligodendroglioma and glioblastoma. *Acta Neuropathologica.* janv 2015;129(1):133- 46.
15. Ebrahimi A, Skardelly M, Bonzheim I, Ott I, Mühleisen H, Eckert F, et al. ATRX immunostaining predicts IDH and H3F3A status in gliomas. *Acta Neuropathologica Communications* [Internet]. déc 2016 [cité 12 sept 2018];4(1). Disponible sur: <http://actaneurocomms.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40478-016-0331-6>
16. For POLA Network, Tabouret E, Nguyen AT, Dehais C, Carpentier C, Ducray F, et al. Prognostic impact of the 2016 WHO classification of diffuse gliomas in the French POLA cohort. *Acta Neuropathologica.* oct 2016;132(4):625- 34.
17. Sanou R, Anxionnat R, Taillandier L, Bigard MA, Regent D, Bracard S. neuroradiologie - Le syndrome de Turcot: à propos d'un cas. */data/revues/02210363/00907-8-C1/842/* [Internet]. 14 août 2009 [cité 2 sept 2018]; Disponible sur: <http://www.em-consulte.com/en/article/223770>
18. Galuppini F, Opocher E, Tabori U, Mammi I, Edwards M, Campbell B, et al. Concomitant *IDH* wild-type glioblastoma and *IDH1* -mutant anaplastic astrocytoma in a patient with constitutional mismatch repair deficiency syndrome. *Neuropathology and Applied Neurobiology.* févr 2018;44(2):233- 9.

19. Hasselblatt M, Jaber M, Reuss D, Grauer O, Bibo A, Terwey S, et al. Diffuse Astrocytoma, IDH-Wildtype: A Dissolving Diagnosis. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 1 juin 2018;77(6):422-5.
20. Mellai M, Annovazzi L, Senetta R, Dell'Aglio C, Mazzucco M, Cassoni P, et al. Diagnostic revision of 206 adult gliomas (including 40 oligoastrocytomas) based on ATRX, IDH1/2 and 1p/19q status. *Journal of Neuro-Oncology*. janv 2017;131(2):213-22.
21. Louis DN, Wesseling P, Paulus W, Giannini C, Batchelor TT, Cairncross JG, et al. cIMPACT-NOW update 1: Not Otherwise Specified (NOS) and Not Elsewhere Classified (NEC). *Acta Neuropathologica*. mars 2018;135(3):481-4.
22. Nobusawa S, Watanabe T, Kleihues P, Ohgaki H. IDH1 Mutations as Molecular Signature and Predictive Factor of Secondary Glioblastomas. *Clinical Cancer Research*. 1 oct 2009;15(19):6002-7.
23. Olar A, Wani KM, Alfaro-Munoz KD, Heathcock LE, van Thuijl HF, Gilbert MR, et al. IDH mutation status and role of WHO grade and mitotic index in overall survival in grade II-III diffuse gliomas. *Acta Neuropathologica*. avr 2015;129(4):585-96.
24. Akagi Y, Yoshimoto K, Hata N, Kuga D, Hatae R, Amemiya T, et al. Reclassification of 400 consecutive glioma cases based on the revised 2016WHO classification. *Brain Tumor Pathology*. avr 2018;35(2):81-9.
25. Suzuki H, Aoki K, Chiba K, Sato Y, Shiozawa Y, Shiraishi Y, et al. Mutational landscape and clonal architecture in grade II and III gliomas. *Nature Genetics*. mai 2015;47(5):458-68.
26. Shirahata M, Ono T, Stichel D, Schrimpf D, Reuss DE, Sahm F, et al. Novel, improved grading system(s) for IDH-mutant astrocytic gliomas. *Acta Neuropathologica*. juill 2018;136(1):153-66.
27. Test Description [Internet]. [cité 12 sept 2018]. Disponible sur: https://mgp.upmc.com/Applications/mgp/Home/Test/GlioSeq_Details,%20consult%C3%A9%20le%2016%20novembre%202017

28. Cimino PJ, Zager M, McFerrin L, Wirsching H-G, Bolouri H, Hentschel B, et al. Multidimensional scaling of diffuse gliomas: application to the 2016 World Health Organization classification system with prognostically relevant molecular subtype discovery. *Acta Neuropathologica Communications* [Internet]. déc 2017 [cité 12 sept 2018];5(1). Disponible sur: <http://actaneurocomms.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40478-017-0443-7>

ANNEXE 1

Amorces pour la recherche de la codélétion 1p/19q en LOH

D19S206-1

Amorce sens : **AGCCGAAGTCTTTTCACAAGAG**
Amorce anti-sens : **TTCATCAAGTCTGTTCCAGCC**
Taille du produit de PCR : 103-146 (bp)

D19S219-2

Amorce sens : **GTGAGCCAAGATTGTGCC**
Amorce anti-sens : **GACTATTTCTGAGACAGATTCCCA**
Taille du produit de PCR : 160-190 (bp)

D19S254-3

Amorce sens : **TTCTGAGCACAAACCAATCCT**
Amorce anti-sens : **GACTCCGTATTAATAAAAAAAAAAG**
Taille du produit de PCR : 110-150 (bp)

D19S400-4

Amorce sens : **CGGTATGTCTTTATCAGCAG**
Amorce anti-sens : **ATGACAGCTCTAGGAAGGC**
Taille du produit de PCR : 190-223 (bp)

D19S409-5

Amorce sens : **GGGGGGCTGATTAGTG**
Amorce anti-sens : **CAACCCCAAAGGATG**
Taille du produit de PCR : 167-177 (bp)

D19S918-6

Amorce sens : **AAAGGCTTGATTACCCCGA**
Amorce anti-sens : **GATTACAGGCGTGAGCACCG**
Taille du produit de PCR : 140-182 (bp)

D1S199-7

Amorce sens : **GGTGACAGAGTGAGACCCTG**
Amorce anti-sens : **CAAAGACCATGTGCTCCGTA**
Taille du produit de PCR : 94-116 (bp)

D1S206-8

Amorce sens : **GGAAGTAATCTCTGCCCAAT**
Amorce anti-sens : **CCAAAGTTTCTTCTGGTATTTGT**
Taille du produit de PCR : 206-218 (bp)

D1S214-9

Amorce sens : **CCGAATGACAAGGTGAGACT**

Amorce anti-sens : **AATGTTGTTTCCAAAGTGGC**

Taille du produit de PCR : 120-142 (bp)

D1S226-10

Amorce sens : **GCTAGTCAGGCATGAGCG**

Reverse primer: **GGTCACTTGACATTCGTGG**

Taille du produit de PCR : 90-106 (bp)

D1S476-11

Amorce sens : **GCCCATTTTGAATTGGATTA**

Amorce anti-sens : **AAGACAAGCCATAGACTTGGAA**

Taille du produit de PCR : 159-171 (bp)

D1S2734-12

Amorce sens : **GGTTC AAGGGATTCTCCTG**

Amorce anti-sens : **TGGCACTCAGACCTCAA**

Taille du produit de PCR : 108-134 (bp)

D19S433-13

Amorce sens : **CCTGGGCAACAGAATAAGAT**

Amorce anti-sens : **TAGGTTTTTAAGGAACAGGTGG**

Taille du produit de PCR : 199-221 (bp)

« Par délibération de son Conseil en date du 10 Novembre 1972, l'Université n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ou mémoires. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs ».

VU, le Président de Thèse

VU, le Doyen de la Faculté

VU et permis d'imprimer
en référence à la délibération
du Conseil d'Université
en date du 14 Décembre 1973

Pour le Président
de l'Université de CAEN et P.O

Le Doyen

TITRE DE LA THESE : Actualisation du diagnostic d'une série de 109 gliomes diffus selon la classification OMS 2016.

RESUME DE LA THESE EN FRANCAIS :

Introduction : L'actualisation de la classification de l'OMS 2016 des gliomes diffus intègre des données moléculaires, notamment les mutations *IDH* et la codélétion 1p/19q qui est exclusive des mutations d'*ATRX*, entraînant en pratique la suppression du groupe des oligoastrocytomes.

Objectifs : Les objectifs étaient d'actualiser le diagnostic des patients atteints d'un gliome diffus selon la classification de l'OMS 2016 afin de démontrer sa faisabilité et son impact pronostique.

Matériel et méthodes : 109 patients atteints d'une tumeur gliale de grade II à IV ont été inclus. L'expression d'*IDH1R132H* et d'*ATRX* a été étudiée en immunohistochimie. La codélétion 1p/19q a été analysée soit par la technique FISH (Hybridation fluorescente in situ) ou par perte d'hétérozygotie de marqueurs microsatellites par PCR sur l'ensemble des bras 1p et 19q.

Résultats : 105/109 cas ont été reclassés. Les oligoastrocytomes de grade II et III (22) ont été reclassés en astrocytome *IDH* muté (*IDH^{mut}*) (15), glioblastome *IDH^{mut}* (3), glioblastome *IDH* wildtype (*IDH^{wt}*) (1), astrocytome *IDH^{wt}* (2) et gliome diffus de la ligne médiane *H3K27M* muté (1). 10/105 patients ont été reclassés en glioblastome *IDH^{mut}*. La classification de l'OMS 2016 était significativement pronostique pour la survie globale ($p < 0,001$).

Conclusion : L'actualisation de la classification OMS 2016 permet de séparer dans la majorité des cas les gliomes diffus de phénotype astrocytaire des gliomes diffus de phénotype oligodendroglial et a une grande valeur pronostique. Son application soulève déjà de nouvelles questions, amenant le consortium cIMPACT-NOW à publier de nouvelles recommandations.

MOTS CLES : Gliome diffus, classification OMS 2016, mutation *IDH* ½, codélétion 1p/19q, *ATRX*, cIMPACT-NOW, grading.

TITRE DE LA THESE EN ANGLAIS: Update of the diagnosis of a series of 109 diffuse gliomas according to the 2016 WHO classification.

RESUME DE LA THESE EN ANGLAIS :

Introduction: The 2016 update of the WHO classification of diffuse gliomas integrates molecular data, including *IDH* mutations, and 1p / 19q codeletion that is exclusive of *ATRX* mutations, leading to the suppression of the oligoastrocytoma group. The aims of this study were to reclassify the diagnosis of patients with diffuse glioma according to the 2016 WHO classification to analyze its feasibility and its prognostic impact.

Materials and methods: 109 patients with grade II to IV glial tumor were included. The expression of *IDH1R132H* and *ATRX* was investigated by immunohistochemical analysis. The 1p / 19q codeletion was assessed by FISH (fluorescent hybridization in situ) or by loss of heterozygosity of microsatellite markers via PCR techniques on all 1p and 19q arms.

Results: 105/109 cases were reclassified. Grade II and III oligoastrocytomas (22) were reclassified to astrocytoma *IDH* mutant (*IDH^{mut}*) (15), glioblastoma *IDH^{mut}* (3), glioblastoma *IDH* wildtype (*IDH^{wt}*) (1), astrocytoma *IDH^{wt}* (2), and diffuse midline tumor, *H3K27M* mutant (1). 10/105 patients were reclassified to glioblastoma *IDH^{mut}*. The new WHO classification was prognostic for overall survival ($p < 0,001$).

Conclusion: The update of the WHO 2016 classification makes it possible in most cases to separate the diffuse gliomas of astrocytic phenotype from diffuse gliomas of oligodendroglial phenotype and has a high prognostic value. Its application already raises new questions, leading the cIMPACT-NOW consortium to publish new recommendations.

KEYWORDS: Diffuse Glioma, 2016 WHO Classification, *IDH* ½ mutation, 1p / 19q codeletion, *ATRX*, cIMPACT-NOW, grading.