

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la recherche scientifique
Université A. MIRA de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique



Réf.....

Mémoire de Master

Filière : Science biologique

Option : Biochimie et Biologie moléculaire

Thème

Identification de la relation entre l'infection au CMV et
l'hypersensibilité de type I dans le cadre des tumeurs
cérébrales

Présenté par : Sana Hizia

Soutenu le : 24/06/2017

Devant les membres de jury :

M ^{me} Bedjou. F :	Pr, A/Mira BEJAIA	Présidente
M ^{elle} Ayouni.	K :MAA, A/Mira BEJAIA	Examinatrice
M ^{elle} Ait Ali. D:	MCB, A/Mira BEJAIA	Encadreur
M ^{er} Ghidouche.	A:MCB, A/Mira BEJAIA	Invité

Année universitaire : 2016/2017

Remerciements

Avant toute chose, je tiens à remercier le bon Dieu miséricordieux et tout puissant de m'avoir donné la force et le courage pour finir ce travail

Je remercie :

Ma famille pour leurs soutiens et maintenance et à mes amies

Un grand remerciement particulier à D^r GHIDHOUCHE pour ses orientations, ses conseils précieux, sa disponibilité et sa gentillesse merci de m'avoir soutenu toute cette période, sans vous ce travail n'aura pas été achevé

Je tiens à remercier D^rAit ALI pour son encadrement, ses conseils, ses techniques, et ses encouragements

A M^{elle} BOUCHMEL Amina et M^{elle} KHIREDINE Lydia pour leurs serviabilités et conseils

Je tiens à remercier le service d'anatomopathologie du laboratoire de génie biologique des cancer, spécialement Hakima , lynda et louiza

Je tiens à remercier le service de Neurochirurgie du CHU de Bejaia, de m'avoir offrir les échantillons disponibles, je remercie particulièrement au professeur Tliba, D^r Takbou, D^r Kachfoud, D^r Chana et M^{elle} Belkhier wahiba

Je remercie le service du laboratoire de CHU, spécialement D^r Boutaleb et D^r Chouikh, pour leurs gentillesse et de m'avoir laissé réaliser mes expériences à ce niveau, ainsi au laboratoire « EL AZIZA » de Constantine.

J'adresse toutes mes profondes gratitude à l'ensemble des membres de jury qui ont fait l'honneur de juger mon travail

Enfin je remercie tous les membres du département de biologie de Bejaia, que se soit tous les enseignants, techniciens du laboratoire ainsi les cadres administratifs

Dédicace

Je dédie mon travail :

À ma famille ; mon trésor père Rabah et ma maman chérie Houria, qui ont toujours cru en moi, pour leur encouragement, soutenance, leur éducation et leurs sacrifices, je vous souhaite une longue vie pleine de santé et de bonheur inchalah

À ma sœur Samia ainsi mon beau frère Khoudir

À mes sœurs Fayrouz et mazouza Chaima ainsi mes nièces Dounia safia, Aida et mon trésor neveu Athmèn

À ma grand-mère, mes tentes, mon oncle Mekki et sa femme Tata Nacera ainsi mes cousines et cousin je cite Amine , Sofiane, Celia et la petite Maleke

À Drissi mourad, je te remercie pour ta bonne humeur

À toutes mes amies, pour les agréables moments : Mina, Ryma, khadidja, Katia, Nadia, Lydia ,et en particulier à Karima Makhoulf

Aux doctorantes Mina et Lydia, je vous remercie infiniment

À Dr Ghidouche , je vous remercie pour toute la durée des études pendant les deux masters, ainsi votre suivi pendant ce travail

À ma promotrice Dr AIT ALI, un remerciement pour ses conseils durant la période de ce travail

HIZIA

Table de matière

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I-Tumeur cérébrale :	2
I.1. Définition :	2
I.2. Données épidémiologique :	2
I.3. Classification des tumeurs cérébrales	2
I.4. Les gliomes:	3
I.4.1. Données épidémiologiques des gliomes :	3
I.4.2. Classifications des gliomes :	4
I.4.2.1. Les astrocytomes.....	4
I.5. Les glioblastomes.....	5
I.6. Les altérations moléculaire.....	5
I.7. Tumeurs cérébrales & système immunitaire	7
I.7.1. Hypersensibilité de type I et les gliomes :	8
II-Facteurs de risques	9
II.1. présentation du HCMV	10
I.2. Prévalence et mode de transmission.....	12
I.3. Tropisme du virus	12
I.4. Le cycle viral du HCMV	12
I.5. Latence et réactivation :	13
I.6. Le HCMV et le système immunitaire	13
I.7.1-la réponse immunitaire innée :	13
I.7.2. réponse immunitaire adaptative	14
I.7.3. échappement du HCMV au système immunitaire	14
I.8. Pathogénicité	15
I.9. Le cytomégalovirus et gliomes	15

Table de matière

I.9.1. Les altérations moléculaires causés par le HCMV dans les gliomes.....	16
--	----

Chapitre II : Matériels & Méthodes

I. Matériels :	17
I.1. Échantillons biologiques	17
I.2. Matériels scientifiques	19
II. Méthodes	19
II.1. Préparation des échantillons	19
II.2. Méthode de Bradford	20
II.2.1. Courbe d'étalonnage	20
II.2.2. Dosage quantitatif des échantillons biologiques	21
II.3. Le dosage des IgE	21
II.3.1. Prétraitement	22
II.3.2. Incubation des échantillons	22
II.3.3. Lavage	22
II.4.4. Incubation « conjugué & substrat »	22
II.4.5. Lavage & Évaluation	23
II.4. La sérologie du HCMV « IgG & IgM »	23
II.5. L'examen anatomopathologique	24
II.5.1. La fixation	24
II.5.2. La déshydratation & éclaircissement	24
II.5.3. L'inclusion & enrobage	25
II.5.4. La microtomie, étallement & déparaffinage	25
II.5.5. Coloration & montage des lames	25
II.5.6. Observation microscopique	26
II.7. Analyse statistique	26

Chapitre III : Résultats & Discussions

I. Dosage quantitatif, protéique des échantillons	27
I.1. La gamme d'étalonnage	27
I.2. Le dosage quantitatif des échantillons (Bradford)	28
II. Le dosage semi-quantitatif des IgE spécifiques	32
II.1. Dosage des IgE pour les échantillons du GBM	32
II.2. Dosage des IgE des autres échantillons tumoraux que les gliomes	33
II.3. Dosage des IgE des échantillons non tumoraux	35
II.4. Les concentrations positives du dosage des IgE spécifiques	36
III. Test sérologique du HCMV	37
III.1. La séroprévalence du HCMV	37
III.2. Quantification sérologique des IgG anti CMV	38
IV. Etude anatomopathologie	41
IV.1. Echantillons murins	41
IV.2. Echantillons humain	43
IV.2.1. Coupes histologique d'astrocytomes	43
IV.2.1. Coupe histologique d'échantillons du glioblastome :	44
IV.2.2. Coupes histologiques d'échantillon du méningiome (contrôle +)	45
Conclusions et perspectives	46
Annexes	
Références bibliographiques	

Figure 01: Représentation schématique de la répartition des gliomes	3
Figure 02: les abérations génétiques impliqué dans la genèse des glioblastomes et astrocytomes.....	7
Figure 03 : le microenvironnement inflammatoire des gliomes	8
Figure 04 : structure du génome du HCMV.....	11
Figure 05 : structure du HCMV	12
Figure 06 : Les principales voies de signalisations activées par le HCMV	16
Figure 07: Photographies schématiques des étapes de préparation des surnageants tumoraux.	20
Figure08 : Représentation schématique des dilution de la BSA vraction V	21
Figure 09 : Photographies représentant les tubes et cuves de la courbe d'étalonnage.....	21
Figure 10: Photographies représentatives des étapes du prétraitement.....	22
Figure 11 : Photographie représentative les étapes d'incubation des échantillons et la plaques d'évaluation des résultats	23
Figure 12: Phtographie originale de l'automate COBAS e 411utilisé dans le test sérologique du CMV.....	25
Figure 13 : Photographies représentatives des étapes de fixation, déshydratation et enrobage	25
Figure14 : Photographies représentatives des étapes de microtomie et étalement	25
Figure 15 : Photographies représentatives des étapes de coloration et de montage des lames	26
Figure 16 : Courbe d'étalonnage de la BSA	27
Figure 17 : Comparaison de la protéinémie des échantillons entre les sujets atteints du GBM et les contrôles (positifs &négatif)	28
Figure 18 : Représentation graphique de la comparaison protéique entre les sérums des GBM.....	29
Figure 21: Résultats de bandelette du dosage des IgE spécifique dans le LCR du GBM 02..	33

Figure 22 : Représentation des résultats du dosage des IgE pour les échantillons GBM	33
Figure 23 : Résultats de bandelette du dosage des IgE spécifique dans les surnageant 1&2 du méningiome	
Figure 24 : Représentation graphique des résultats du dosage des IgE dans les autres échantillons tumoraux (Méningiome & tumeur d'orbite)	34
Figure 25 : Résultats de bandelette du dosage des IgE pour le HDC 02 (non tumoral)	35
Figure 26 : Répartition graphique des résultats du dosage des IgE dans les échantillons contrôles	35
Figure 27 : Représentation graphique de la comparaison entre les résultats des taux des IgE dans les échantillons positifs pour les IgE	36
Figure 28: Représentation graphiques des pourcentages de la sérologique positive et négative du HCMV	37
Figure 29: Représentation graphiques des taux d'IgG anti du HCMV dans les échantillons biologiques	38
Figure 30 : Représentation du graphique des taux positifs d'IgG en fonction des liquides biologiques	38
Figure 31: Représentation graphiques des taux d'IgG anti-HCMV dans les échantillons biologiques de deux GBM.....	39
Figure 32: Photographies représentatives des coupes histologiques des cerveaux des souris contrôles non traités de pesticides	41
Figure 33: Photographies représentatives des coupes histologiques des cerveaux des souris traitées aux pesticides.....	41
Figure 34: Histogrammes représentatifs du pourcentage d'anomalies cérébrales chez les souris traité ou non aux pesticides.....	42
Figure 35 : Photographies représentatives des coupes histologiques d'astrocytome (60ans)	43
Figure 36 : Photographies représentatives des coupes histologiques d'un astrocytome (43ans)	43
Figure 37 : Photographie représentative des coupes histologiques d'un GBM (74ans)	44
Figure 38: Photographies représentatives des coupes histologiques d'un GBM (24ans)	44
Figure 39: Photographie représentatives des coupes histologiques d'un méningiome.....	

Liste des tableaux

Tableau I : les grades d'astrocytomes.....	4
Tableau II : les aberrations moléculaires des astrocytomes	5
Tableau III : les protéines essentielles du HCMV.....	11
Tableau IV : Les différents échantillons murins.....	17
Tableau V: Détails cliniques des échantillons des patients selon le type de tumeur et leurs caractéristiques	18
Tableau VI : Matériels scientifiques utilisés dans les différentes méthodes	19
Tableau VII: les absorbances des différentes dilutions de la BSA.....	27
Tableaux VIII: les résultats d'absorbance et de protéinémie des échantillons	28

Abréviations

- ❖ **AKT** : Protéine kinase B
- ❖ **α -KG** : α cétooglutarate
- ❖ **BHE**: Barrière hémato encéphalique
- ❖ **CBTRUS**: Center brain tumor registry of the united states
- ❖ **CCL** : Motif chemokine ligand
- ❖ **CHU**: Center Hospital-Universitaire
- ❖ **CMH I/II**: Complexe Majeur d’Histocompatibilité
- ❖ **CXCL** : Chemokine (C-XC) motif
- ❖ **DCs**: Cellules dendrétiques
- ❖ **DC-SIGN**: Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin
- ❖ **GDNF**: Glial cell derivied neurtophic factor
- ❖ **EBV** : Eptein barr virus
- ❖ **EGFR**: Epidemial groth factor
- ❖ **gB**: Glycoprotéine B
- ❖ **GBM**: glioblastomes multiforme
- ❖ **GFAP**: Glial fibrillary acidic protein
- ❖ **gH**: Glycoprotéine H
- ❖ **gL**: Glycoprotéine L
- ❖ **gM**: Glycoprotéine M
- ❖ **GM-CSF** : Granulocyte-macrophage colony stimuling factor
- ❖ **gN**: Glycoprotéine N
- ❖ **HDC** : Hydrocéphalie
- ❖ **HCMV** : cytomégalovirus humain
- ❖ **HGF/SF**: Hepatocyte growth factors or scatter factor
- ❖ **HITC**: Hypertension intra-crânienne
- ❖ **HHV5** : Human herpesvirus 5
- ❖ **HIC**: Hypertension intracrânienne
- ❖ **HLA-E** : Histocomaptibility antigen, alpha chain E
- ❖ **IDH1**: Isocitrate déshydrogénase cytosolique
- ❖ **IDH2** : Isocitrate déshydrogénase mitochondriale
- ❖ **IE**: Immediate Early

Abréviations

- ❖ **IgE:** Immunoglobuline E
- ❖ **IL :** Interleukine
- ❖ **IL 1- β :** Interleukine 1- β
- ❖ **IRL:** Long internal repeat
- ❖ **IRS:** Short internal repeat
- ❖ **Kb :** Kilo base
- ❖ **LB :** lymphocyte B
- ❖ **LCR:** Léquide céphalo-rachidien
- ❖ **LIR1:** Leucocyte Ig-like receptors
- ❖ **INF γ :** Interféron γ
- ❖ **LT :** Lymphocyte T
- ❖ **MCP1/3 :** Monocyte chemottractant p1/3
- ❖ **MDSCs:** Myeloid –derived suppressor cells
- ❖ **Mdm2:** Mouse double minute 2 homolog
- ❖ **MIEP :** Major immediate-early promoter
- ❖ **mTOR:** Mammalian target of rapamycin,
- ❖ **NADP:** Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
- ❖ **NF κ B:** Nuclear Factor κ B
- ❖ **NKs:** Naturals killers
- ❖ **OMS:** Organisation mondiale de santé
- ❖ **P53:** Protein 53
- ❖ **P14^{ARF}:** Protein alternate reading frame 14
- ❖ **PDGFR:** Platelet-derived growth factor receptors
- ❖ **PCR :** Polymerase chain reaction
- ❖ **PI3K :** PhosphoInositide 3 Kinase
- ❖ **pp 65:** phosphoprotéine 65
- ❖ **pp71 :** phosphoprotéine 71
- ❖ **PTEN:** Phosphatase and tensin homolog
- ❖ **Ras/MAPK:** Mitogèn-Activated Protéin kinase.
- ❖ **SDF1:** Stromal-cell derived factor1
- ❖ **SDS :** Sodium dodécysulfate
- ❖ **SIDA :** Syndrome d'ImmunoDéficiency Acquis
- ❖ **SNC:** système nerveux central

Abréviations

- ❖ **STAT3**: Signal transducer and activator of transcription 3
- ❖ **SV40** : Virus simien 40
- ❖ **TAM** : Tumor associated macrophage
- ❖ **TGF α** : Transforming growth factor α
- ❖ **TGF β** : Transforming growth factor β
- ❖ **TLR**: Toll like receptors
- ❖ **TP53**: Tumor protein 53
- ❖ **Treg** : Lymphocytes T régulateurs
- ❖ **TRS**: Terminal short repeat
- ❖ **UL**: Unit long
- ❖ **US**: Unit Short
- ❖ **VIH** : Virus de l'immunodéficience humain

Le système nerveux et le système immunitaire, sont considérés comme les super systèmes chevauchant dans le corps humain, car ils jouent un rôle primordial dans l'adaptation hémostatique (**Hoover, 2017**). L'exposition du système nerveux à différents agents peut conduire à des perturbations aboutissant à l'apparition de plusieurs dérèglements et le développement de cancers, dont les tumeurs cérébrales.

Les tumeurs cérébrales sont classées en 12^{ème} position en termes de mortalité au niveau mondial, et à la 4^{ème} position en Algérie, elles sont dues à la perte de l'hémostasie cellulaire qui se manifeste par une prolifération accrue. (**Zhang et al., 2015 ; Globocan**).

De nombreuses études scientifiques toujours au cours, tentent de déterminer les facteurs de risque responsable de l'apparition de ces tumeurs, parmi ces facteurs environnementaux, on trouve les pesticides qui ont la capacité de déréguler le système immunitaire provoquant ainsi des réactions d'hypersensibilité et une augmentation de la probabilité d'atteintes virales. Certains virus sont classés comme de puissants inducteurs de plusieurs tumeurs. Le HCMV est l'un des herpèsvirus avec un tropisme dans les cellules immunitaires, nerveuses et astrocytaires, il joue un rôle potentiel dans l'oncomodulation des gliomes qui est le type des tumeurs cérébrales le plus fréquent (**Lepiller et al., 2012**). Toutefois, cette apparition des gliomes est diminuée chez les personnes allergiques (**Wiemels et al., 2009**).

L'immuno-surveillance des cancers fait intervenir à la fois les réponses immunitaires innées et adaptatives, aboutissant ainsi à la mise en place d'un état inflammatoire au site de l'interaction. Permettant ainsi l'élimination des masses tumorales. Toutefois, un état inflammatoire permanent peut être un facteur positif dans la réactivation du HCMV et ainsi influencer la progression tumorale, notamment des gliomes (**Michaelis et al., 2009 ; Mostofa et al., 2017**).

L'étude proposée dans ce manuscrit s'intéresse à la relation potentielle existante entre la présence du HCMV et l'expression des IgE notamment chez les personnes atopiques et leurs impacts sur le développement tumoral. Pour cela, nous évaluons les taux d'expression des IgE et du HCMV, accompagnée d'une analyse des coupes histologiques des échantillons de cerveaux humains et échantillons murins traités de pesticides dans le but d'évaluer la présence d'infiltrats immunitaires.

Chapitre J :
Synthèse bibliographique

I-Tumeur cérébrale :

I.1. Définition :

Les tumeurs cérébrales ou tumeurs du système nerveux central (SNC) sont des néoplasies regroupant des masses hétérogènes d'origine neuroectodermique nommées tumeurs primaires. On parle des tumeurs cérébrales secondaires ou métastases cérébrales, lorsqu'elles se développent à partir de tumeurs dont l'origine est un autre organe.

Les tumeurs de l'encéphale peuvent être bénignes ou malignes. Toutefois et contrairement aux autres types tumoraux, elles métastasent très rarement (**Armstrong et al., 2010 ; Bencokova, 2007**).

I.2. Données épidémiologique :

En termes d'incidence, les tumeurs cérébrales ne sont pas identiques dans toutes les tranches d'âge. Elles sont au 17^{ème} rang au monde chez l'adulte. Toutefois, chez l'enfant elles représentent 20% des tumeurs pédiatriques, ce qui les place en 2^{ème} position après les leucémies (**Crump et al., 2015 ; Globocan**).

En Algérie, les tumeurs cérébrales posent un véritable problème de santé publique, en 2012 environ 1734 cas ont été enregistrés, les plaçant ainsi au 4^{ème} rang en termes d'incidence et 6^{ème} en termes de mortalité (**Dolecek et al., 2012**). La dernière statistique donnée par le CHU de Bejaia révèle une incidence de 7.19/100000, d'âge médian de 47 ans, avec un sexe-ratio homme/femme : 1.06.

I.3. Classification des tumeurs cérébrales :

L'étude des tumeurs cérébrale est très complexe. La publication en 2007 de l'OMS d'une classification de référence permet de mieux comprendre les différences structurelle et cellulaire des différents sous-groupes (**Adem et Mokhtari, 2011**).

Parmi les sous-groupes de cette classification, on cite

- Les tumeurs d'origine neuroepitheliales : dont les gliomes avec ses différentes classes. qui représentent la grande majorité des tumeurs de ce groupe.
- Les tumeurs des nerfs crâniens et spinaux: rares et bénignes, représentées majoritairement par les shwannomes
- Les tumeurs des méninges : les 2^{ème} tumeurs cérébrales primitives, les plus fréquentes après les tumeurs gliales

Le critère histologique est très important, mais reste incomplet. De ce fait, une mise à jour de la classification existante est établie par l’OMS 2016, intègre des paramètres moléculaires, et en tenant compte de la combinaison des profils génotypiques et phénotypiques –spécialement les infiltrats immunitaires- qui semblent plus importants, notamment lors du diagnostic et le traitement. (Louis *et al.*, 2016)(Annexe 01).

I.4.Les gliomes :

Comme indiqué précédemment, les gliomes sont les tumeurs intracrâniennes primaires les plus fréquentes chez l’adulte (Hoover, 2017).

Ils peuvent se produire n’importe où dans le système nerveux central, mais se manifestent majoritairement dans les tissus gliales du cerveau d’où l’existence de trois types selon l’origine cellulaire : les astrocytomes pour astrocytes, les oligodendrogliomes pour les oligodendrocytes , les épendymomes pour épendymes. Il existe aussi les gliomes mixtes dérivés de deux types de cellules gliales nommées aussi oligoastrocytomes (Ren *et al.*, 2012) .

I.4.1.Données épidémiologiques des gliomes :

Représentant 50% de toutes les tumeurs intracrâniennes, dont 90% d’entre elles sont d’origines astrocytaires, ce pourcentage est divisé en quatre proportions inégales, 50% représentent les astrocytomes anaplasiques et les glioblastomes, les astrocytomes bénins quand à eux représentent 20à30%, les oligodendrogliomes comptent pour environ 5-10%, ce même pourcentage est retrouvé pour les épendymomes.

Les patients atteints de GBM ont une vie moyenne de 24 mois, mais d’une façon intéressante plusieurs études épidémiologiques ont démontré que les sujets avec des taux élevés d’IgE ont une vie supérieure de 8 mois par rapport à ces premiers (GBM) (Ostrom *et al.*, 2014).

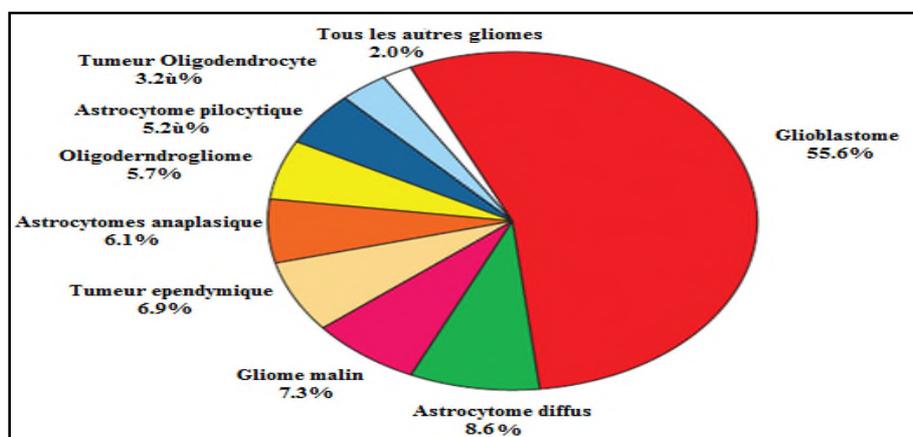


Figure 01 : Représentation schématique de la répartition des gliomes (Dolecek *et al.*, 2012).

La distribution statistique des sous types de gliomes sur un nombre de N= 92.50 par CBRTUS entre 2006-2010 .

I.4.2. Classifications des gliomes :

I.4.2.1 Les astrocytomes :

Comme indiqué précédemment, les astrocytomes représentent le sous-type majoritaire, ils se développent à partir des cellules astrocytaires exprimant la GFAP. La distribution des astrocytomes est âge et localisation cérébrale indépendante. Histologiquement, l’OMS les a classifiés en quatre grades dont le I et II considérés comme bénins, le III et VI sont malins. (Petersen *et al.*, 2016).

➤ **Les grades d’astrocytomes :**

L’OMS a défini un système de classification permettant de distinguer les tumeurs astrocytaires, selon leur degré de malignité déterminé par l’examen d’histologie. Les trois premiers grades sont représentés dans le tableau ci-dessous, le grade IV sera détaillé ultérieurement.

Tableau I : Les grades d’astrocytomes adapté après (Seifert *et al.*, 2015).

Grades d’astrocytomes	Caractéristiques
<p style="text-align: center;">Astrocytomes I: Astrocytome pilocytique</p>	<ul style="list-style-type: none"> - tumeur bénigne - kystique, limité à transformation maligne rare ; - développer chez l’enfant et le jeune adulte, (23.5%) des cancers pédiatriques ; -développer essentiellement dans le cervelet ; - la possibilité de survie est 95%, curable par la chirurgie.
<p style="text-align: center;">Astrocytomes II Astrocytome diffus</p>	<ul style="list-style-type: none"> -tumeur bénigne ; -invasive à croissance lente et transformation maligne ; -développer chez les jeunes adultes (l’âge médian est de 35ans) ; - le pronostic de survie est de 5-8ans.
<p style="text-align: center;">Astrocytome III Astrocytome anaplasique</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Tumeur maligne, envahissante -augmentation de l’activité mitotique, infiltrant par les cellules immunitaires

	-survie chez les sujets adultes (l'âge moyen est de 45ans) ; -le pronostic de survie est de 4 ans.
--	---

I.5. Les glioblastomes (GBM) :

Les glioblastomes(GBM), sont considéré comme les tumeurs cérébrales à haut degré de malignité, définie histologiquement comme des structures anaplasique, fortement mitotiques, multifocales et infiltrant le cerveau y compris les deux (02) hémisphères. Elles représentent 50% des gliomes avec un taux d'incidence annuel de 3.2 pour 100 000 sujets, elles sont plus fréquentes chez l'adulte principalement entre 45-70ans avec une moyenne de survie qui ne dépasse pas les 24 mois.

Les GBM peuvent être classé selon leurs origines en primaires lorsqu'elles sont *de novo*, ou secondaire, c'est-à-dire d'une réactivation du processus néoplasique des degrés inférieurs de gliomes(Assi *et al.*, 2012 ; Abou-El-Ardat *et al.*, 2017).

I.6. Les altérations moléculaires

Comme tout processus tumoral, l'initiation des tumeurs cérébrales se traduit par des altérations génétiques et épigénétique dans les cellules pré-cancéreuses. Dans les cas des gliomes, différentes dérégulations moléculaires (Tableau II) affectent à la fois des oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeurs, de nombreuses altérations ont été identifiés dans le cas d'astrocytomes et de glioblastomes(**Figure 02**) (Mostofa *et al.*, 2017).

Tableau II : Les altération moléculaires des astrocytomes Adapté de (Hoang-Xuan *et al.*, 2005).

Gène	Siège	Fonction	principale altération	incidence astro(%)
P53	17p	Cycle, Apoptose, Réparation	Mutation	40
P16/CDKN2A	9p	Cycle	Délétion	50
P14 ^{ARF}	9p	Cycle	Métylation	20
Rb	13q	Cycle	Mutation	20
PTEN	10q	Transduction/Invasion	Mutation	20
EGFR	7q	Transduction	Amplification/Mutation	40
MDM2	12q	Cycle	Amplification	10
CDK4	12q	Cycle	Amplification	5-10
PDGFRA	4q	Transduction	Amplification	5-10
?	1p	?	LOH	10
?	19q	?	LOH	40
?	10q	?	LOH	80
?	22q	?	LOH	25

➤ **La voie d'EGFR/PTEN :**

Considéré comme marqueur tumoral, l'EGFR est un récepteur de facteur de croissance jouant un rôle dans la gliomagenèse, notamment dans les glioblastomes *de novo*. En effet, dans ce type de tumeur, on observe une amplification de l'expression de gène de L'EGFR, induisant ainsi une sur activation des voies oncogénique via Ras/MAPK et PI3K/AKT permettant la prolifération, la migration et donc l'invasion, d'un autre coté cette amplification de l'EGFR est associée à des pertes de fonction de PTEN. De plus, il est intéressant de signaler que L'EGFR est considéré comme un des points d'entrée du cytomégalovirus dans les cellules. En effet, ce dernier se fixe via ses protéines de l'enveloppe avec l'EGFR-A (**Mostofa et al., 2017 ; Seifert et al., 2015**).

➤ **Les gènes IDH1/IDH2 :**

Assurément le métabolisme des cellules tumorales est détourné, des mutations qui touchent des gènes IDH : les enzymes IDH1 et IDH2 ,observées dans les astrocytomes et le glioblastome secondaires, sont des éléments essentiels dans la classification de (**louis et al., 2016**) .Ils catalysent une réaction de décarboxylation oxydative de l'isocitrate en α cétylglutarate (α -KG) par l'intermédiaire de NADP comme cofacteur ,on le trouve muté dans 70-80% des gliomes de bas grades et de glioblastomes secondaires contrairement au glioblastome de novo où on le trouve muté qu'a 5-10%, il est considéré comme un marqueur tumoral et un bon pronostique des tumeurs cérébrales (**Ren et al., 2012**).

➤ **La voie TP53/Mdm2/P14^{ARF} :**

60-70% des cas des glioblastomes ainsi d'astrocytomes (II, III) portent des mutations au niveau de TP53, qui est un gène supprimeur de tumeur, jouant un rôle important dans la régulation du cycle cellulaire, d'autres mutations touchent les deux (02) protéines Mdm2&P14^{ARF}, responsables de la stabilisation de la protéine p53, les trois(03) gènes supprimeurs de tumeurs constituent une boucle de rétrocontrôle négative permette de contrôler le cycle cellulaire.(**Sanson et Tallibert, 2004**).

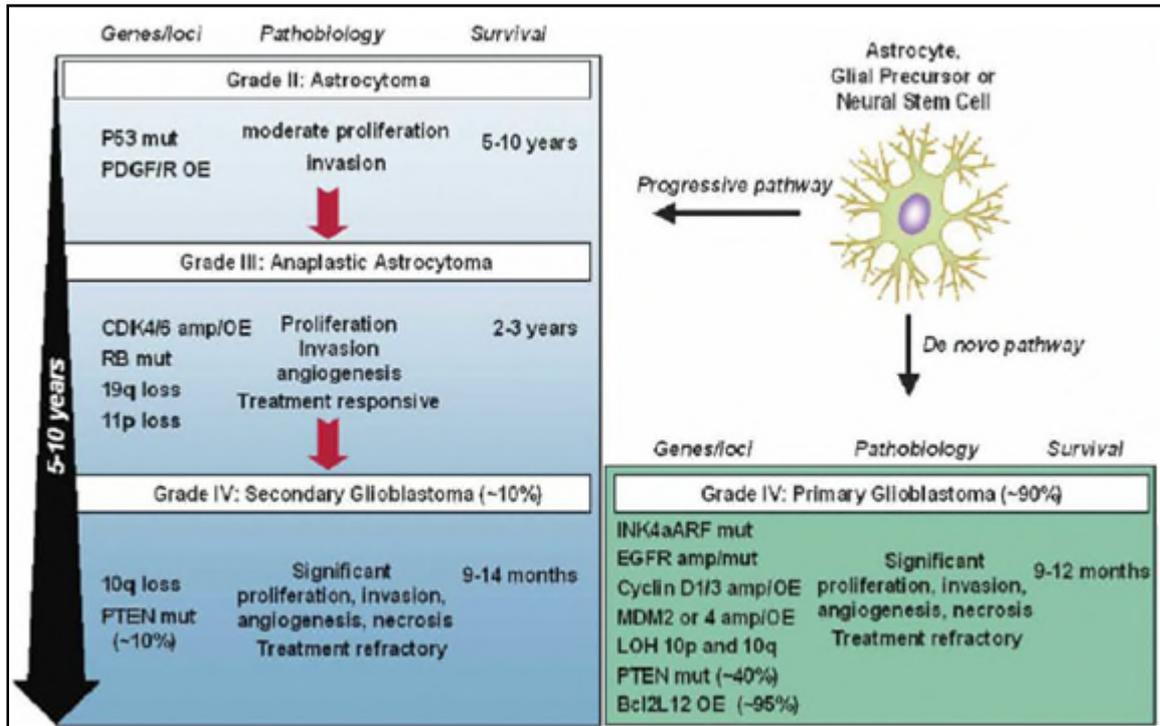


Figure 02: Les aberrations génétiques impliquées dans la genèse des glioblastomes et astrocytomes (Furnari *et al.*, 2007).

Les deux (02)voies conduisant à l'apparition de glioblastome ,A :évolution à partir d'astrocytomes inférieur , B : de novo.

I.7.Tumeurs cérébrales & système immunitaire :

Le système nerveux central est considéré comme un site immunologiquement privilégié, cela est dû à la présence de la barrière hémato-encéphalique empêchant des échanges importants entre le cerveau et le reste de l'organisme. Toutefois, lors d'une atteinte tumorale, une perte de l'efficacité de la BHE, engendre une augmentation de l'infiltrat immunitaire au niveau cérébral. Ainsi, le microenvironnement qui comprend en plus du parenchyme qui représente la partie néoplasique de la tumeur, le stroma qui est composé des cellules de soutiens, des vaisseaux sanguins, des cellules immunitaires représentées surtout par les microglies (5-20%) , mais aussi des lymphocytes T et cellules NK ainsi que des molécules solubles (anticoprs ; cytokines)(Andrwes et Jian, 2015).

Bien que les cellules immunitaires exercent des effets anti-tumoraux, l'interaction bidirectionnelle entre le système immunitaire avec la masse tumorale peut conduire à un effet opposé, caractérisé notamment par un microenvironnement fortement infiltré. C'est le cas des gliomes de haut grade. Cela se manifeste, par la présence des cellules inflammatoires et de

médiateurs solubles, comme IL1 -IL6 et les enzymes hydrolytiques (cas de COX2). On parle de l'échappement tumoral, qui par conséquent conduit à l'activation d'autres voies oncogéniques comme la voie RAS qui stimulent des voies inflammatoires, comme l'activation constitutionnelle de STAT-3 (dans 90% des GBM) et NFκB, favorisant ainsi la prolifération, la croissance vasculaire et le remodelage tissulaire. (Mostofa *et al.*, 2017).

Néanmoins et de façon intéressante, dans certains cas, l'expression précoce des molécules anti-inflammatoire comme l'IL-4, IL-13 peuvent diminuer les risques d'atteinte de tumeurs. C'est le cas notamment des sujets atopiques ou allergiques.(Chen *et al.*, 2015).

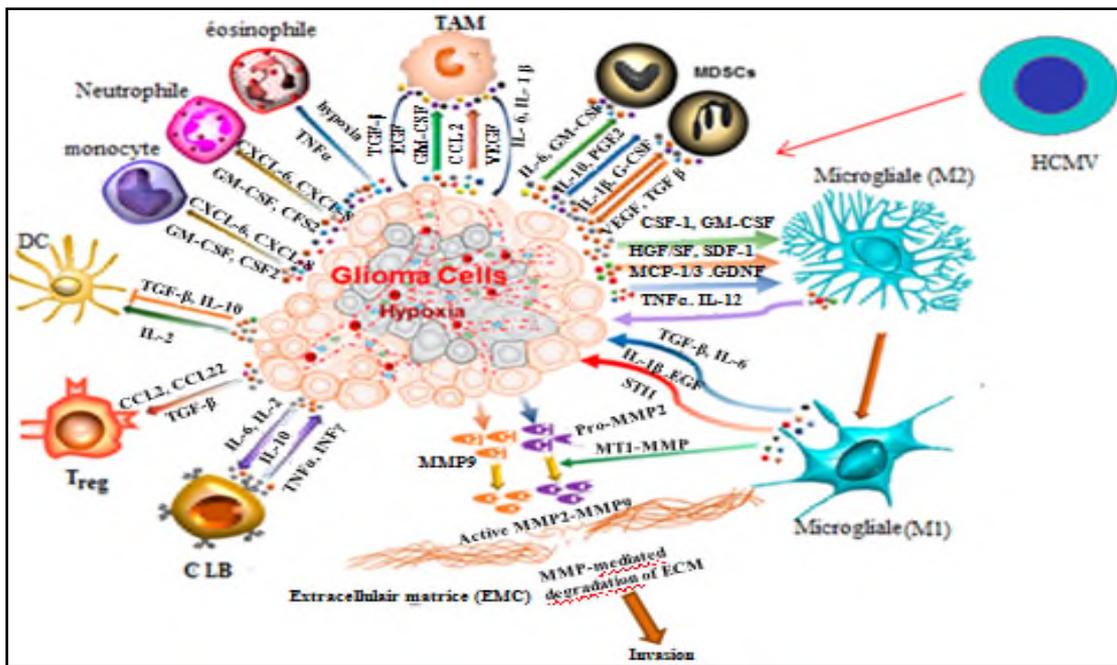


Figure 03 : Le microenvironnement inflammatoire des gliomes Adapté après(Mostofa *et al.*, 2017).

La masse tumorale des gliomes est très infiltrée par les cellules inflammatoires telles que les microglies et les lymphocytes T et B, ainsi des médiateurs inflammatoire représenté par des chimiokines et d'interleukines notamment lors de la présence des facteurs exogènes comme le HCMV.

I.7.1.Hypersensibilité de type I et les gliomes :

L'hypersensibilité de type I, appelé aussi allergie, est due à des réponses adaptatives, induites par des antigènes non apparentés, conduisant ainsi à la sécrétion des immunoglobulines de type E(IgE) produites et régulés par les lymphocytes B, les lymphocytes T helper (Th2) et les Th17 suite à une commutation de classe dans un milieu riche en interleukines spécifiques comme l'IL 4 et 13. Des études ont révélé que ces conditions d'allergie peuvent réduire les risques d'apparition et le développement de gliomes,

de 20 à 40%. Plusieurs recherches se focalisent actuellement sur l'identification de cette relation fonctionnelle, notamment par la comparaison entre les personnes atopiques et les sujets avec des gliomes, ces études prennent en compte les paramètres suivants (**Schwartzbaum et al., 2012**) :

- Le dosage des IgE sériques, notamment pour les personnes avec des allergies respiratoires, car l'exposition intra nasale sont susceptibles d'influencer directement sur les RI intracrâniens, en comparaison aux allergies alimentaires et cutanées
- Le calcul de taux de CD-23, impliqué dans la régulation des taux des IgE. (**Amirian et al., 2016**).
- Les polymorphismes des gènes liés à l'allergie, c'est le cas des gènes d'interleukines 4 et 13. Des études suggèrent que ces polymorphismes ont des activités anti-tumorales chez les souris et inhibent la prolifération d'astrocytomes de bas grades chez l'humain (**Chen et al., 2015**).

L'identification des mécanismes de cette relation reste jusqu'à ce jour basée sur des hypothèses ; notamment :

1. les allergies peuvent présenter une augmentation de l'immunosurveillance par conséquent, conférer une protection accrue contre les gliomes.
2. l'hypothèse de la réactivité croisée c'est-à-dire que les IgE dirigés contre les allergènes peuvent se diriger contre des Antigènes tumoraux du cerveau.
3. Polarisation de la réponse vers le Th2 à un rôle dans la destruction de toutes toxines de l'environnement de ce fait le système immunitaire réussi à détruire tous agents cancérogènes.
4. Les cytokines liées à l'inflammation, notamment IL-4 et 13 affectent l'état immunitaire et diminuent le risque d'apparition et progression des gliomes. (**Ostrom et al., 2014**).

II-Facteurs de risques :

Plusieurs études ont été réalisées pour caractériser l'étiologie des tumeurs cérébrales, cependant ces facteurs de risques restent limités et mal connus. Un large éventail possible de facteurs de risque y compris les suivants :

- **les facteurs génétiques :**

Certains polymorphismes génétiques liés aux gènes de prédispositions oncogéniques et antécédents familiaux. 5% des gliomes sont dus à des syndromes héréditaires comme le syndrome de l'EPA ou Li- Fraumeni où le TP53 est muté. (**Strong et al., 2015**).

- **Les facteurs physiques**

Les rayonnements ionisants et non ionisants sont probablement cancérigènes, notamment lors de l'exposition à des doses élevées de radiation. Le CIRC a classé ces facteurs dans la première catégorie des agents cancérigènes. ils constituent un risque relatif de 3 pour les gliomes (Crump *et al.*, 2015 ; Wrensch *et al.*, 2002).

- **Les facteurs chimiques:**

L'exposition à certains métaux lourds et éléments chimiques tels que le formaldéhyde, les dérivés du pétrole ainsi que l'exposition aux pesticides révèlent l'existence d'une association potentielle avec les gliomes. (Li *et al.*, 2015).

- **Les facteurs biologiques :**

Les facteurs biologiques quand à eux, peuvent constituer un lien avec le développement des tumeurs cérébrales c'est le cas des polyomavirus, et les adénovirus, on cite à titre d'exemple le SV40 et le EBV.

Il existe une suspicion de corrélation entre l'atteinte du HCMV et le développement des gliomes(Strong *et al.*, 2015). Notre étude est axée sur l'implication potentielle du HCMV, ainsi une description de ce virus est détaillée dans les pages qui suivent.

II.1.présentation du HCMV

Le cytomégalovirus tire son nom de la cytomégalie, qui entraîne dans les cellules infectées des inclusions intranucléaires et intra-cytoplasmique, dites en *œil de hibou*. Nommé aussi HHV5, ce virus appartenant à la famille des herpesviridae, et à la sous famille des β herpesvirinae est constitué d'un ADN bicaténaire entouré des structures riches en protéines (Figure 05) : une capsidie icosaédrique, d'un tégument et une enveloppe virale d'un diamètre de 180-200nm. (Buxmann *et al.*, 2017).

- **Le génome**

Son génome est considéré comme le plus long et complexe des génomes d'herpesviridae avec une taille de 230-250 kpb codant potentiellement pour 200 protéines (Figure 04).

- **Les protéines virales :**

La structure de ce virus est très riche en protéines, et aussi constitué de plusieurs couches. On cite les plus importantes dans le (Tableau III).

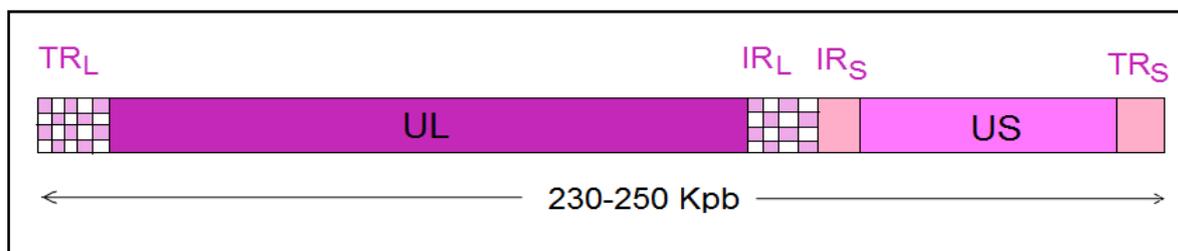


Figure 04 : structure du génome du HCMV (Dolan *et al.*, 2004).

Le génome du HCMV est organisé en 2 segments uniques : Segment unique long (UL) 85%, contenant à son extrémité une séquence (TRL) : Terminal long repeat. Le 2^{ème} Segment court (US), lui-même contient à son extrémité une séquence (TRS) terminal short repeat. L'intersection des deux (02) se trouve des séquences internes IRL : Long internal repeat, IRS : Short internal repeat .

Tableau III : les protéines essentielles du HCMV adapté après (Wilkinson *et al.*, 2008)

Protéines	caractéristiques
pp65 ou PUL 83	-Protéines structurale du tégument dite immuno-dominante -Elle joue un rôle dans l'échappement immunitaire. - Elle permette la détection du virus par l'antigénimé pp65
pp71ou PUL82	-protéine du tégument -elle joue un rôle dans le cycle cellulaire
IE1/IE2 ou PUL123/122	-protéines non structurales - permettent la réplication virale -Elles jouent un rôle dans la prolifération cycle cellulaire
gB, gH, gO, gM , gN, gL	-protéine structurales de l'enveloppe virale -Elles jouent un rôle dans la pénétration du virus dans la cellule hôte
US28	-protéines non structurale -elle joue un rôle dans la prolifération et cycle cellulaire
US2, US3, US6, US11	-protéine non structural, -Elles jouent un rôle dans l'échappement immunitaire

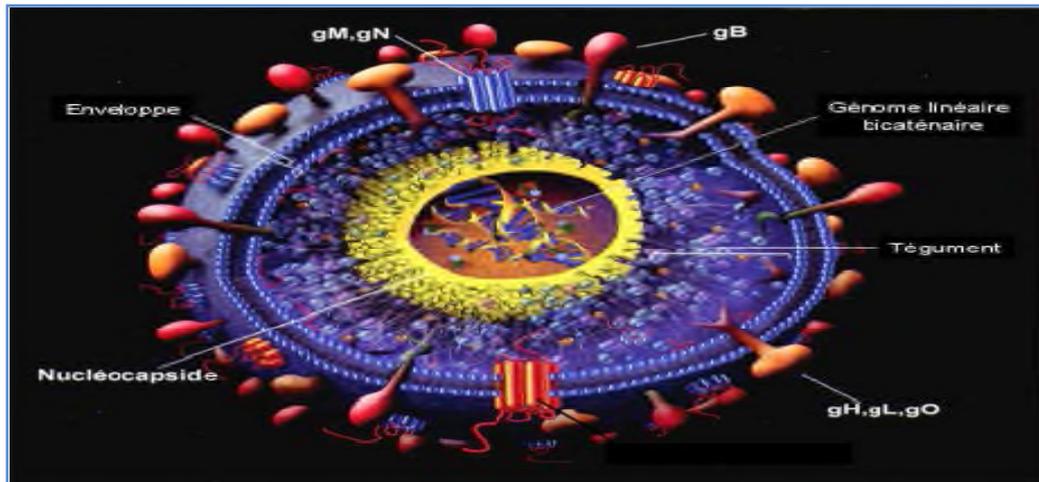


Figure 05 : Structure du HCMV (Streblow *et al.*, 2006) .

Le HCMV est un virus à ADN, emballé des structures riches en protéines : capsid, tégment et enveloppe virale constitués de différentes glycoprotéines.

I.2. Prévalence et mode de transmission

L'homme est le seul réservoir du HCMV, son infection est endémique, et sa prévalence varie en fonction de plusieurs facteurs : l'âge, le sexe, l'ethnie, le niveau socio-économique et sanitaire où on observe une séroprévalence plus importante dans les pays en voie de développement : 90% en Afrique et en Asie, tandis que dans les régions industrialisées, elle est de 30%-70% (Cannon *et al.*, 2010). Sa transmission est très variée, on trouve une transmission horizontale via la sécrétion corporelle des liquides biologiques tels que les urines, sécrétions cervicales, lait, et les larmes, ou des transmissions verticales au fœtus, ainsi par des voies iatrogènes lors des transfusions sanguines et les organes transplantés à partir des donneurs séropositifs. (Pitlick *et al.*, 2015).

I.4. Tropisme du virus :

Le HCMV possède un large tropisme, car il peut infecter plusieurs types cellulaires y compris des cellules de la lignée myéloïdes (monocytes/macrophage/neutrophiles), (Beltran et Cristea, 2014) les cellules musculaires lisses, les fibroblastes, les cellules stromales, les hépatocytes ainsi les cellules neuronales et astrocytaires. (Luo *et al.*, 2008).

I.4. Le cycle viral du HCMV :

Le cycle lytique du HCMV varie de 96h-120h, sa fixation à la cellule hôte fait grâce à ses protéines, et fait intervenir plusieurs composants cellulaires comme des récepteurs qui ne sont pas spécifiques (EGFR, PDGFR) (Theiler et Compton, 2001). Son cycle est constitué

de trois étapes séquentielles permettant sa reproduction et la synthèse de ses protéines de structure :

1. La phase très précoce IE (H0-H2) :

Correspond à l'expression très précoce du virus, on parle des gènes IE1 et IE2 qui sont sous contrôle d'un promoteur majeur qui est le MIEP.

2. Les phases précoces E (H12-h24) : c'est l'expression des gènes E codés pour des protéines impliquées dans la réplication virale.

3. La phase tardive L (Late) : caractériser par la production des protéines de structure permettant ainsi la production de nouveaux virions.(Beltran et Cristea, 2014).

I.5.Latence et réactivation :

L'infection par le HCMV persiste indéfiniment, dans sa cellule hôte, par conséquent il subit des cycles de latence et de réactivation productifs, qui conduit à sa transmission, mais ces 2 mécanismes restent inconnus. Son tropisme de latence s'agit des monocytes qui représentent le site principal du virus, les progéniteurs des macrophages, des cellules dendritiques et les cellules endothéliales. En phase de latence il exprime des ARNm codant pour des gènes IE mais avec des taux faibles nommés gènes latents, sa réactivation survient lors de la différenciation des cellules CD34 en monocyte puis en macrophage. Sporadiquement dans les réactions d'allogéniques, chez les personnes immunodéprimées. Dans certains cas de stress et d'inflammation (Sinclair et Sissons, 2006).

I.6.Le HCMV et le système immunitaire :

Le système immunitaire présente un véritable obstacle dirigé contre toute infection ou cancer, il déploie de multiples moyens pour détecter le HCMV. Deux réponses, innée et adaptative auront lieu suite à une primo-infection par le HCMV, ces réponses confèrent une protection contre ce virus (Miller-Kittrell et Sparer, 2009).

I.6.1-la réponse immunitaire innée :

La réponse innée dirigée contre le HCMV, se fait par plusieurs récepteurs, les principaux sont les TLR notamment le TLR3 et 9. (Tabeta *et al.*, 2004)Le TLR2 aussi peut reconnaître la glycoprotéine gB lors de sa fixation sur sa cellule hôte, cette activation conduit à la sécrétion des molécules inflammatoires qui engendrent l'accumulation des cellules sentinelles(Boehme *et al.*, 2006).

Les NKs

Via ses récepteurs activateurs et inhibiteurs, les cellules NKs peuvent reconnaître des protéines du HCMV, c'est le cas par exemple de LIR1 qui reconnaît la protéine UL18 et de la lectine CD94/NKG2A//B qui identifie la protéine UL 40.

➤ **Les monocytes/macrophage :**

Ces cellules, jouent un rôle majeur de lutter contre ce virus par la production des cytokines inflammatoires.

➤ **Les DCs :**

Ces cellules possèdent des récepteurs pour le HCMV, il s'agit des TLR et des DC-SIGN qui peuvent capter les antigènes du virus et les exposer aux lymphocytes T via le CMH I/II .(Miller-Kittrell et Sparer, 2009).

I.6.2.Réponse immunitaire adaptative :

La réponse adaptative comprenant la réponse cellulaire qui est le mécanisme prédominant, sous le contrôle des lymphocytes T- CD4+ qui vont agir sur les lymphocytes T- CD8+ par la sécrétion d'interleukine notamment de l'IL-4, IIL-10 et INF- γ et qui vont stimuler des récepteurs de morts et déclencher des cascades de signalisation apoptotique, toutefois une réponse humorale contre le HCMV est effectuée par des anticorps qui peuvent neutraliser certaines protéines, notamment les protéines structurales tel que la pp65, gB et gH, et les protéines non structurales IE1/IE2. La polarisation de la réponse vers une réponse Th2 peut aboutir à des allergies (Lepiller *et al.*, 2012, Sidrochuk *et al.*, 2004).

I.6.3.échappement du HCMV au système immunitaire :

De multiples stratégies ont été développées par le HCMV pour inhiber sa reconnaissance ainsi que sa destruction par le système immunitaire et de conférer un milieu tolérogène (Lepiller *et al.*, 2012) les mécanismes d'échappement consistent essentiellement sur l'utilisation des protéines immuno-modulatrices et immunodominantes.

Parmi ces mécanismes, on cite les suivants :

- Limitation de l'expression des protéines virales, permet une phase de latence
- La séquestration ou inhibition de transport des protéines du CMH I/II dans le but d'altérer la présentation des protéines virales, c'est le cas de la diminution d'expression précoce des molécules du CMH par les protéines immuno-dominantes : pp65, IE1, et par les protéines immuno-modulatrices : US 2, 3, 6 et 11 qui ont la capacité de séquestrer le CMH I et CMH II, ainsi c'est le cas de UL111a qui est un homologue viral de l'interleukine 10 humain,

cette molécule inhibe la prolifération des cellules mononuclées et la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, et induisant la sous-expression des molécules du CMH.

- L'interférence avec les cellules NKs en stimulant les récepteurs inhibiteurs et en inactivant les récepteurs activateurs de NKs, c'est l'exemple de la protéine UL18 qui est homologue au CMHI, UL40 une autre protéine qui inhibe la lyse médier par les NKs en interagissant avec le HLA-E. (**Lin et al., 2007**).

I.7. Pathogénicité :

Chez les sujets immunocompétents, l'infection par le HHV-5 est souvent asymptomatique, toutefois le virus peut causer une morbidité majeure chez les fœtus et les patients immunodéprimés, c'est le cas des patients atteints du sida et les receveurs de greffes. (**Jiang et al., 2017**) Il peut causer des perturbations de l'hématopoïèse lors des infections touchant les cellules souches hématopoïétiques. Des maladies auto-immunes suite à une inflammation chronique. Des atteintes visuelles et des infections cérébrales congénitales qui peuvent induire la mort (**Pitlick et al., 2015**).

L'implication du HCMV dans la cancérogénèse a été démontrée depuis les années 1970 par Fred Rapp et ses collaborateurs, qui ont observé que le virus était responsable des transformations des cellules embryonnaires, suggérant ainsi l'implication du virus dans l'initiation des cancers.

I.8. Le cytomégalovirus et gliomes :

Malgré les études de Fred Rapp, qui ont suggéré que le HCMV peut participer à l'ontogénèse par le mécanisme de « hit and run », ce mécanisme est obscur. De ce fait l'herpes virus humain reste à ce jour non référencé comme un oncovirus (**Miller-Kittrell et Sparer, 2009**)

Les techniques de la PCR nichée et l'hybridation In-Situ proposée par Cobbs en 2002 ont permis de détecter le génome et les protéines du HCMV, comme la pp65 et IE1/2 dans le cancer du côlon, le col de l'utérus et les tumeurs cérébrales notamment les gliomes (80% des cas) (**Cobbs et al., 2002**), en effet la présence du HCMV dans les tissus tumoraux et les cellules infiltrantes de la tumeur, s'explique par le fait que les cellules de latence véhiculent l'herpes virus au cœur de l'inflammation, la différenciation des monocytes en macrophages permettent sa réactivation et la sécrétion des chimiokines comme, le TGF α et INF γ qui favorise une inflammation chronique, laissant ainsi supposer que le HCMV joue le rôle d'oncomodulateur, favorisant ainsi la progression tumorale (**Kofman et al., 2011**).

I.8.1. Les altérations moléculaires causé par le HCMV dans les gliomes:

L'oncomodulation du HCMV, se traduit par des dérégulations dans plusieurs voies de signalisation. La fixation des protéines du virus aux récepteurs EGFR et PDGFR et l'expression de ses protéines virales comme l'IE1/IE2, US28 conduit à l'activation des voies prolifératives comme PI3K/AKT et la voie Ras, les voies inflammatoires NFκB, STAT3 et aussi l'activation de COX2 conduisant à une prolifération accrue des gliomes notamment de haut grades (Cobbs, 2013 ; Miller-Kittrell et Sparer, 2009).

La modulation du cycle cellulaire et l'inhibition de l'apoptose se fait par l'arrêt du cycle dans dans la phase G1 pour inhiber la synthèse de l'ADN cellulaire et surexprimé les protéines impliquées dans la progression cellulaire comme la cycline E et D1 ainsi la stimulation de l'expression des facteurs anti apoptotique, comme FLIP et Bcl2 et sous exprimer l'action des protéines pro-apoptotiques tel que la caspase 8 et Bax ainsi, inactiver le gène suppresseur de tumeur comme Rb par IE1/2 et pp71et US28, une altération fonctionnelle touche la p53 et donc ne joue pas son rôle autant que gardien du génome (Michaelis *et al.*, 2009 ; Ahani *et al.*, 2014).

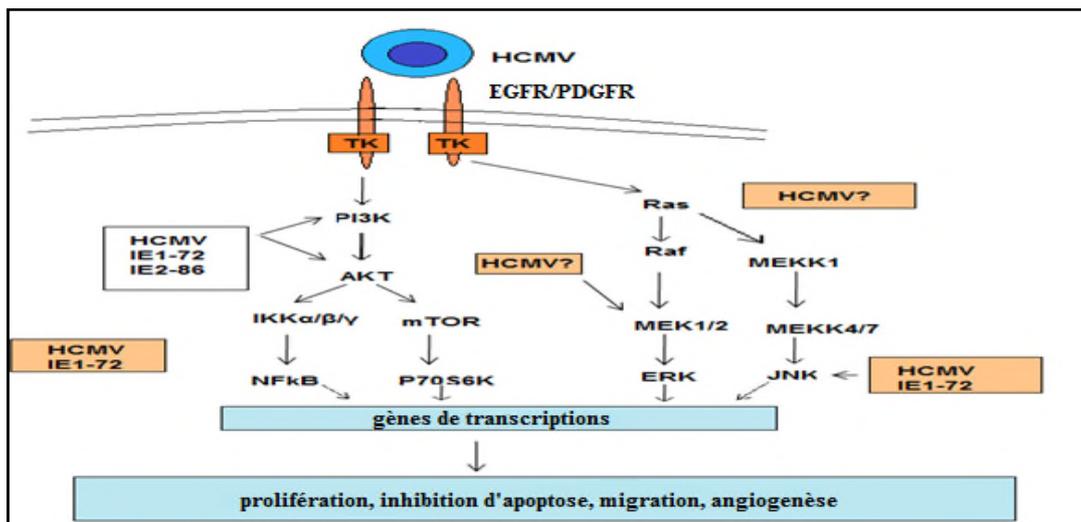


Figure 06 : Les principales voies de signalisation déclenchées par le HCMV adapté après (Miller-Kittrell et Sparer, 2009) .

L'effet oncomodulateur du HCMV lors la fixation à des récepteurs cellulaires (EGFR/PDGFR), ses différentes protéines peuvent déclencher plusieurs voies de signalisations qui aide dans la progression tumorale.

Chapitre JJ :
Matériels & Méthodes

I. Matériels :**I.1. Échantillons biologiques :**

La réalisation de l'étude a nécessité l'utilisation d'échantillons humains collectés au niveau du service de neurochirurgie du CHU de Bejaia. Les échantillons sont des liquides céphalo-rachidiens, du sang, des tissus tumoraux cérébraux (Tumeurs cérébrales) et des surnageants tumoraux. De plus nous avons utilisé des échantillons tissulaires (cerveau) de souris BALB /c traités auparavant avec des doses de pesticides. Les détails des échantillons murins et détails biologiques et cliniques des échantillons humains sont représentés dans les **Tableaux IV & V**, respectivement.

Tableau IV: les différents échantillons murins.

	Nombre d'échantillons	Types d'échantillons
Pesticides +	04	-Tissus (cerveau)
Contrôle	04	-Tissus (cerveau)

Tableau V : Détails clinique des échantillons de patients selon le type de tumeurs et leurs caractéristiques.

N°échantillons	Type d'échantillons	Age (ans)	Sexe	Nature	Pathologie
N°01	-Tissu -Sang -Surnageant	74	♂	Tumoral	GBM
N°02	-Tissu -LCR	24	♂	Tumoral	GBM
N°03	Sang	70	♂	Tumoral	GBM
N°04	Tissu	10	♀	Tumoral	GBM
N°05	Tissu	30	♀	Tumoral	GBM
N°06	Tissu	60	♀	Tumoral	Astrocytome
N°07	Tissu	43	♀	Tumoral	Astrocytome
N°08	Tissu	30	♀	Tumoral	Astrocytome
N°08	Tissu Surnageant	63	♂	Tumoral	Méningiome
N°09	Tissu LCR	50	♀	Tumoral	Tumeur d'orbite
N°10	LCR	8mois	♂	Non tumoral	HDC
N°11	LCR	47	♀	Non tumoral	Hypertension intracrânienne
N°12	LCR	50	♀	Non tumoral	HDC

I.2. Matériels scientifiques :

La réalisation de notre travail a nécessité l'utilisation de différents équipements présentés dans le tableau ci-dessous (**Tableau VI**)

Tableau VI : Matériels scientifiques utilisés dans les différentes méthodes.

L'appareillage utilisé pour la réalisation de nombreuses expérimentations n'est mentionné qu'une seule fois.

Méthodes	Matériels scientifiques
Bradford	Centrifugeuse, balance, PH-mètre, vortex ; Spectrophotomètre à balayage
Dosage des IgE	Agitateur à bascule, rigoles, bandelettes à antigènes
Antigénimie pp65	Automate COBAS e 411
Analyse anatomopathologie	Automatate de déshydratation, microtome, rasoirs a usage uniques, étuve, bain-marie, lames et lamelles

II. Méthodes :

II.1. Préparation des échantillons :

- ❖ **Échantillons humains :**
- **Liquide céphalo-rachidien :**

Les LCR sont récupérés, en per-opératoire dans des tubes secs, centrifuger et conserver à 4°C.

- **Sang**

Les échantillons sanguins sont récupérés en post-opératoire dans des tubes héparines ensuite centrifugés, pendant 2500 rpm pendant 10min à une T° ambiante afin de récupérer le plasma qui a été conservé à 4 C°.

- **Surnageants-Tumoraux :**

Le liquide physiologique ayant servi au transport et au stockage de la tumeur après exérèse est considéré dans notre étude comme un premier surnageant (**surnageant N°1**). Le **surnageant N°2** et **surnageant N°3**, correspondent à la solution ayant permis la dissection de la masse tumorale. Cette dissection est réalisée comme suit : un broyage mécanique manuel d'une tumeur se trouve dans une solution, après l'ajout d'EDTA-eau physiologique - pénicilline, dont le rapport poids/volume est identique pour l'ensemble de tumeurs testées. Le

surnageant correspond au produit de la centrifugation (3000rpm pendant 10 min à T° ambiante).



Figure 07 : Photographies schématiques des étapes de préparation des surnageants tumoraux.

La photographie de gauche correspond au broyage mécanique manuel par l'utilisation d'un Potter. La photographie de droite correspond au produit de la centrifugation où l'on observe deux phases distincts l'une représentant le culot et se trouvant au fond, l'autre le surnageant de l'étude (Photographie originale).

- **Tissus Tumoraux :**

Les tissus sont récupérés dans des boites contenant du formol à 10% et conservés à 4C°.

- ❖ **Échantillons Murins:**

Une dissection des souris a été réalisée afin d'obtenir les cerveaux des souris traitées aux pesticides durant une période de 8 semaines, les souris âgées de 4-8 semaines au début de l'expérimentation.

II.2.Méthode de Bradford:

Dans le but d'analyser la protéinémie de nos échantillons, nous avons procédé à une méthode spectroscopique quantitative. Pour cela nous avons préparé une solution de Bradford (**Annexe 2**). Cette solution a été conservée à 4C° jusqu'à l'obtention d'une sédimentation, puis filtrée avec du papier filtre. Un balayage a été réalisé sur la solution de Bradford par l'utilisation d'un spectrophotomètre UV-vis et la longueur d'onde optimale identifiée est de 599nm. (**Bradford, 1976**).

II.2.1- Courbe d'étalonnage :

Pour réaliser la courbe d'étalonnage, la solution de BSA fraction-V a été utilisée comme protéine de référence. Pour cela, une solution mère de 1g/ml a été préparée, des dilutions standards et des dilutions limites ont été faite. Un volume de 50µl de chaque dilution de la BSA a été rajouté dans un volume de 1450µl de la solution de Bradford, puis

incubé durant 30 min à l'obscurité. La lecture de l'absorbance est mesurée par l'utilisation d'un spectrophotomètre UV-Vis à la longueur d'onde précédemment identifiée (599nm).

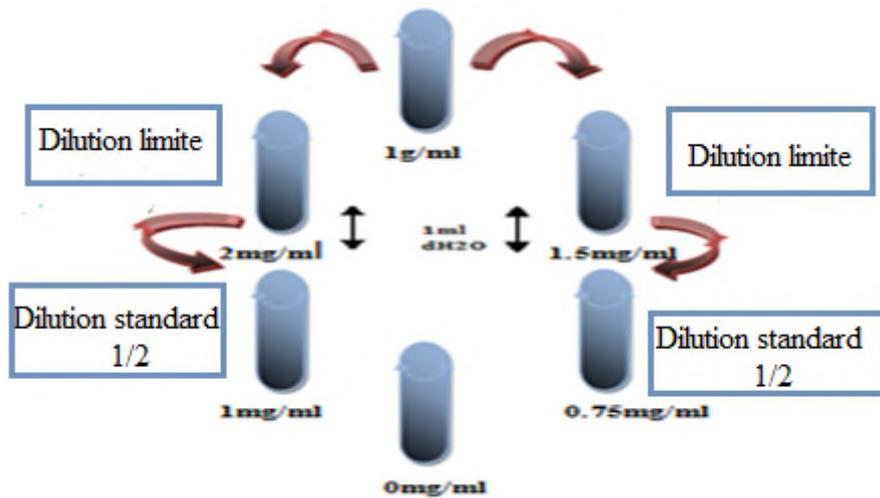


Figure 08 : Représentation schématique des dilutions de la BSA fraction V.

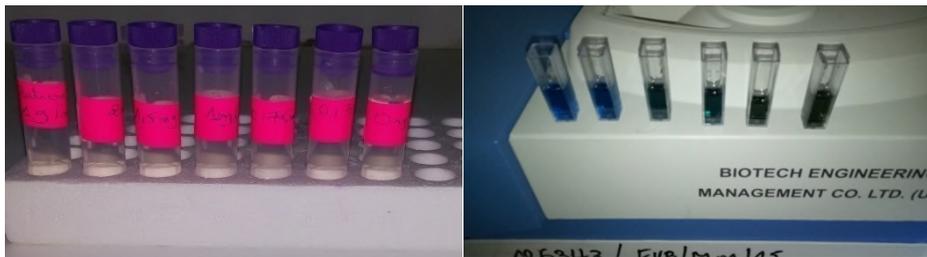


Figure 09 : Photographies représentant les tubes, et cuves de la courbe d'étalonnage (photographies originales).

II.2.2. Dosage quantitatif des échantillons biologiques :

Pour les plasmas sanguins, une dilution à 1/8 a été réalisée au préalable dans de l'eau physiologique. Pour le dosage des échantillons biologiques, nous avons dilué un volume de chaque échantillon au 1/30 dans du réactif de Bradford. Les mélanges ont été incubés pendant 30min à l'obscurité, nous avons ensuite mesuré les absorbances à la longueur d'onde de 599nm. Dans les mêmes conditions expérimentales que celle ayant permis la réalisation de la courbe d'étalonnage.

II.3. Le dosage des IgE :

Les IgE sont parmi les 05 types d'immunoglobulines sécrété par le système immunitaire, se manifeste majoritairement lors des réactions allergiques, cet examen a été

réalisé au niveau du laboratoire de biologie du CHU de Bejaia. La méthode repose sur la mesure semi- quantitative des IgE dans les échantillons biologiques utilisés par la méthode immuno-dot ou d'Élisa indirecte.

Nous avons procédé à un dosage des IgE spécifiques mixtes (respiratoire et alimentaires), le protocole est le suivant :

II.3.1.Prétraitement :

Placer la quantité requise de bandelettes tests dans le bac d'incubation, et remplir chaque rigole avec 1ml de tampon universel et les incuber pendant 5min, ensuite aspirer et éliminer tout le liquide.

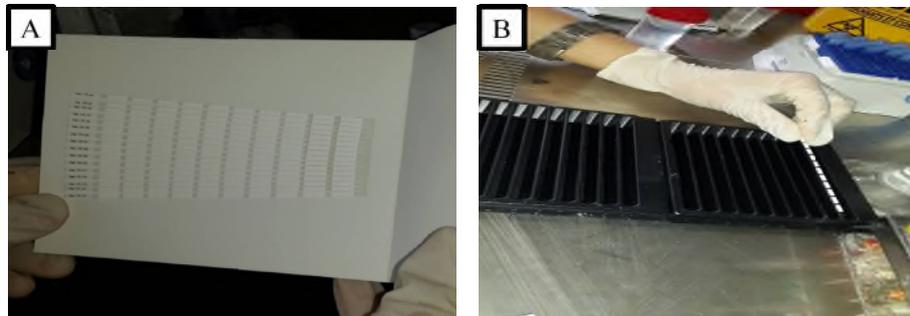


Figure 10: Photographies représentatives des étapes du prétraitement.

A : les bandelettes à antigènes, B : disposition des bandelettes sur les rigoles (Photographie originale).

II.3.2.Incubation des échantillons :

Remplir chaque rigole du bac d'incubation avec 400µl d'échantillons non dilués, et incuber pendant 60min à température ambiante sur un agitateur à bascule (**Figure 11**).

II.3.3. Lavage :

Après 1 heure d'incubation, Aspirer et éliminer le liquide contenu dans chaque rigole, et effectuer trois (03) lavages avec 1ml de tampon universel pendant 5 min.

II.3.4.Incubation « conjugué & substrat » :

-Déposer 1ml de conjuguais enzymatique anti-IgE humain monoclonal couplé à la Phosphatase alcaline, dans chaque rigole et incuber pendant 1h à température ambiante sur un agitateur.

-Déposer 1 ml de solution du substrat dans chaque rigole et incuber pendant 10min à température ambiante sur l'agitateur (**Figure 11**).

II.3.5. Lavage & Évaluation

- Aspirer et éliminer le liquide contenu dans chaque rigole et laver avec le tampon universel trois (03) fois pendant 5min.

-Placer les bandelettes test sur le protocole d'évaluation, sécher à l'air et ensuite évaluer.



Figure 11 : Photographies représentatives des étapes d'incubation des échantillons et la plaque d'évaluation de résultat.

Les figure montrent différents étapes et équipements utilisé dans le dosage des IgE , A :étape d'incubation, B :agitateur à bascule C : plaque d'évaluation (Photographie originale).

II.4. La sérologie du HCMV « IgG & IgM » :

C'est un dosage immunologique, il se base sur une réaction chimioluminescence permettant une détection qualitative et semi quantitative des IgG et IgM dirigées contre le cytomégalovirus qui se retrouve au niveau d'échantillons biologique l'expérience a été réaliser par un automate COBAS e 411 (**Figure 12**) le principe de la méthode est comme suivant ci-dessous :

-Mettre les échantillons en contact dans avec de lysat viral du HCMV (de la souche AD169).

-Lavage avec le tampon de lavage contenant la solution saline tamponnée au phosphate, pour enlevé l'excès.

-Rajouter le conjuguais d'anticorps anti IgG, marqué de l'acridinium.

-Lavage et l'ajout au milieu réactionnel, la solution de réactivation composée de l'eau oxygénée et le la solution d'activation contenant l'hydroxyde de sodium.

-Mesure des résultats en unité de relative de lumière URL.

-Une confirmation des résultats des échantillons est effectuée à l'aide du dosage des IgM, il s'agit d'un test d'avidité des IgG.



Figure 12 : Photographie originale d'automate de COBAS e 411, utilisé dans le dosage sérologique du HCMV (*photographie originale*).

II.5. L'examen anatomopathologique :

Les échantillons tissulaires (humains & murins) d'intérêts ont été préparés pour l'analyse microscopique, pour cela nous avons suivis le protocole ci-dessous:

II.5.1. La fixation :

Pour la fixation, nos tissus (humain et murin) sont immergés dans une solution de formol à 10%. Cette étape a été réalisée dans le but de conserver nos tissus biologiques (tissus tumoraux ou le contrôle) contre toute putréfaction ou autodigestion par les enzymes, donc maintenir leurs structures.

II.5.2. La déshydratation & éclaircissement :

L'étape de déshydratation se fait par un automate qui contient huit (08) bains d'éthanol, nos cassettes contenant les tissus vont être passés une 1h dans chaque bain avec une concentration croissante allant de 70°-100°, dont le but est d'éliminer le formol. Cette étape est dite clarification, elle se fait dans le 9^{em} bain de l'automate. Il s'agit d'un solvant miscible à la paraffine (dans notre cas le Xylène), c'est une étape permettant l'élimination d'excès d'alcool et ainsi faciliter le passage à l'étape d'enrobage.

II.5.3.L'inclusion & enrobage :

Une fois le dernier bain contenant de la paraffine est finalisé, nos échantillons sont placés dans des moules remplis auparavant de paraffine fondu à 56-58°C et refroidie, nous avons ensuite placé nos cassettes dans chaque moule et remplir à nouveau de la paraffine. Cette dernière étape favorise l'évaporation des solvants utilisés et ainsi obtenir des blocs de contenant les tissus.



Figure 13 : Photographies représentatives des étapes de fixation, déshydratation et enrobage. *A : Fixation au formol, B : Automate de déshydratation, C : enrobage à la paraffine (photographie originale.)*

II.5.4.La microtomie, étalement & déparaffinage :

Après avoir obtenus nos blocs de paraffines, une étape au microtome a été faite pour la réalisation de coupes d'épaisseur de 2µm des rubans de paraffine contenant nos tissus humains ou de souris, ces rubans on été étaler dans des lames référencées, et pour bien les déployer, nous avons mis les lames dans des bains-maries successifs, ensuite déparaffiner dans une étuve à une température de 70C° pendant 1h minimum.

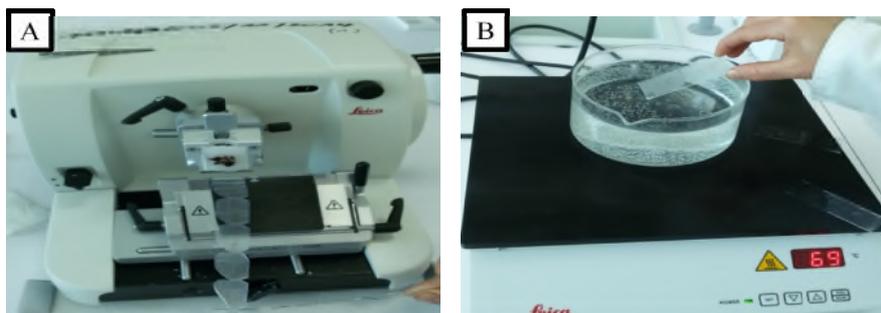


Figure14 : Photographies représentatives des étapes de microtomie et étalement.

A : la microtomie , B : étallement des lames (photographie originale).

II.5.5.Coloration & montage des lames :

Une fois les lames ont subi un déparaffinage, nous avons poursuit cette opération par différents bains d'éthanol, éthanol-xylène ensuite xylène pour nettoyer nos lames, une

coloration standard a été réalisée à l'hématoxyline, un colorant basique permettant la coloration des noyaux en bleu-violet, et l'éosine qui est un acide favorisant la coloration en rose du cytoplasme. Le montage des lames se fait par l'ajout de l'EUKITT qui joue le rôle d'une colle des lamelles.



Figure 15 : Photographies représentatives des étapes de coloration et de montage des lames

A : étapes de colorations, B : montage des lames (photographie originale.)

II.5.6. Observation microscopique :

L'observation a été effectuée par un Microscope à caméra. Contenant 4 grossissements 4-10-40-100. Les images sont enregistrées et analysées par l'utilisation du logiciel de traitement des coupes LAS-EZ (Leica microsystem) L'observation au grossissement 100 a été réalisée après l'ajout de l'huile à immersion.

II.6. Analyse statistique :

Les analyses statistiques sont réalisées par l'utilisation du logiciel GraphPad Prism 5.2 et Microsoft Office Excel 2013.

Chapitre III:
Résultats & Discussions

I. Dosage quantitatif, protéique des échantillons

I.1. La gamme d'étalonnage :

La méthode quantitative de Bradford a été utilisée, afin de pouvoir obtenir le taux des protéines contenues dans nos échantillons, leur protéinémie a été acquise à partir de la courbe d'étalonnage du standard de la BSA fraction V, utilisée dans l'étude.

Tableau VII : les absorbances des différentes dilutions de la BSA.

L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 599nm

[BSA] mg/ml	0	0.75	1	1.5	2
Absorbance	0.835	0.931	0.941	1.014	1.06

Les différentes concentrations de la protéine de référence en fonction des absorbances ont permis de tracer une courbe par le logiciel Microsoft Office EXCEL. L'équation de cette droite est de type $Y = 0.001x + 0.836$ (x : la concentration, y : l'absorbance). Le R^2 de la droite est de 0.992, ce qui nous a permis de valider cette courbe d'étalonnage et de l'utiliser pour la détermination de la concentration protéique de nos échantillons.

Cette équation va permettre de calculer les différentes concentrations des échantillons, présentés ultérieurement (**Tableau VIII**).

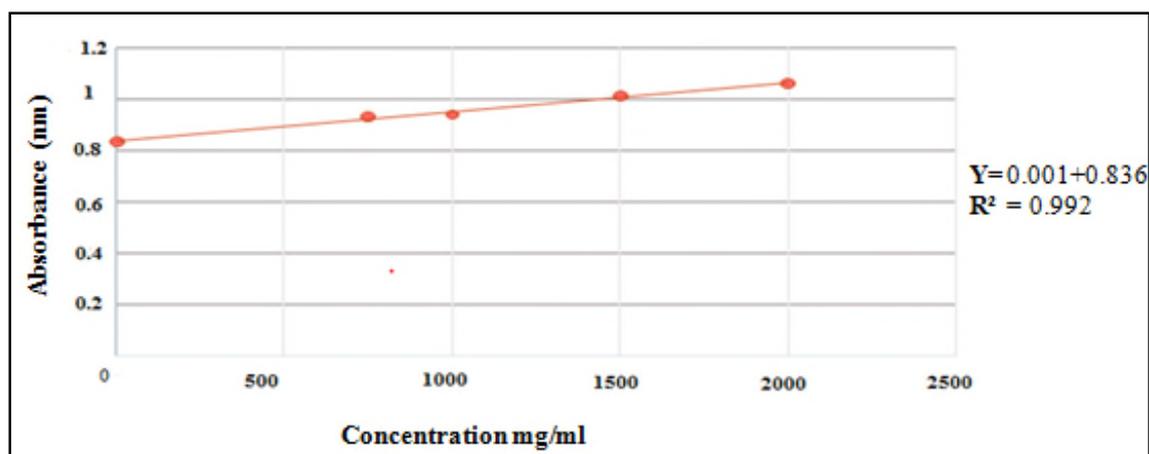


Figure 16 : Courbe d'étalonnage de la BSA.

Le mesure de l'absorbance est réalisée par l'utilisation du réactif de Bradford et une excitation à une longueur d'onde de 599nm.

I.2. Le dosage quantitatif des échantillons (Bradford):

Afin de déterminer les concentrations des liquides biologiques de l'étude, nous avons suivis le même procédé expérimental et dans les mêmes conditions que ce qui a permis de déterminer la courbe d'étalonnage.

Tableau VIII: Résultats d'absorbance et de protéinémie des échantillons.

La mesure de l'absorbance est réalisée par l'utilisation du réactif de Bradford et une excitation à une longueur d'onde de 599nm. * : l'échantillon est préalablement dilué au 1/4

N°d'échantillons	Pathologie	Type d'échantillons	Absorbance (nm)	Protéinémie (mg/ml)
N°01	GBM	Surnageant 01	2.090	12.531
		Surnageant 02	1.973	11.361
		Surnageant 03	1.423	5.831
		Sérum	2.420	15.84
N°02	GBM	LCR	1.558	7.211
N°03	GBM	Sérum	1.202	13.32*
N°08	Méningiome	Surnageant 01	2.313	14.761
		Surnageant 02	2.356	15.191
		Surnageant 03	2.195	13.581
N°9	Tumeur d'orbite	LCR	1.232	3.951
N°10	HDC	LCR	0.879	0.421
N°11	Hypertension intracrânienne	LCR	1.13	2.294
N°12	HDC	LCR	/	/

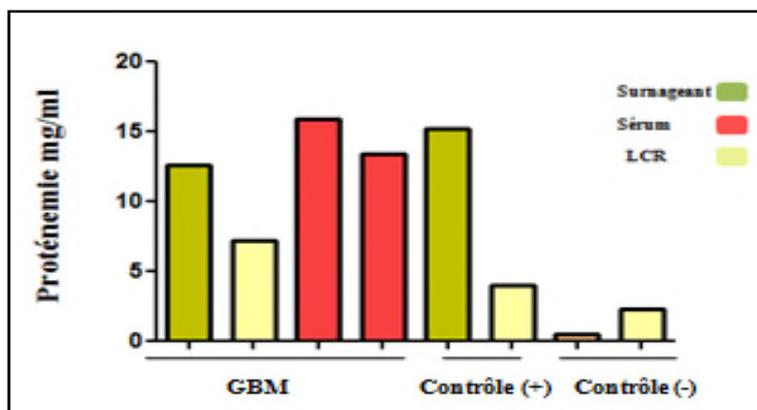


Figure 17 : Comparaison de la protéinémie des échantillons entre les sujets atteints du GBM et les contrôles (positifs & négatifs).

Les taux protéiques sont déterminés suite à l'utilisation de la méthode de Bradford et de la courbe d'étalonnage correspondante.

Les résultats des taux protéiques des différents échantillons, montrent une concentration élevée au niveau des liquides des échantillons provenant de sujets atteints de tumeurs cérébrales, notamment de glioblastome. Toutefois, on remarque un fort taux au niveau d'un

échantillon (surnageant) provenant d'un sujet atteint de méningiome. De façon intéressante, les échantillons dérivant de sujets atteints de pathologies autres que tumorale présentent des taux protéiques du LCR extrêmement faibles.

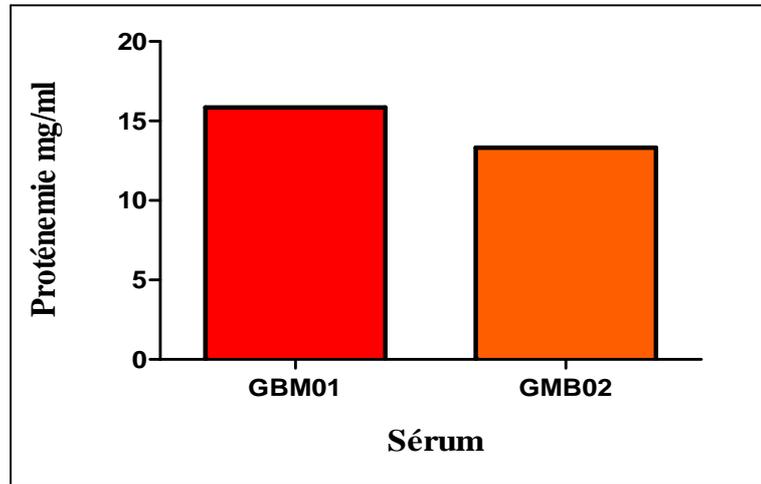


Figure 18 : Représentation graphique de la comparaison protéique entre les sérums des GBM. Les résultats montrent un taux de protéines sérique équivalent (GBM01=15.84mg/ml Vs GBM02=13.36mg/ml). Ceci est en accord avec des résultats de la littérature et les résultats obtenus au sein du laboratoire, montrant des taux sériques élevés chez les sujets atteints de glioblastomes par rapport à la norme des sujets qui sont physiologiquement normal (65-80 g/l) (Kalinina *et al.*, 2011).

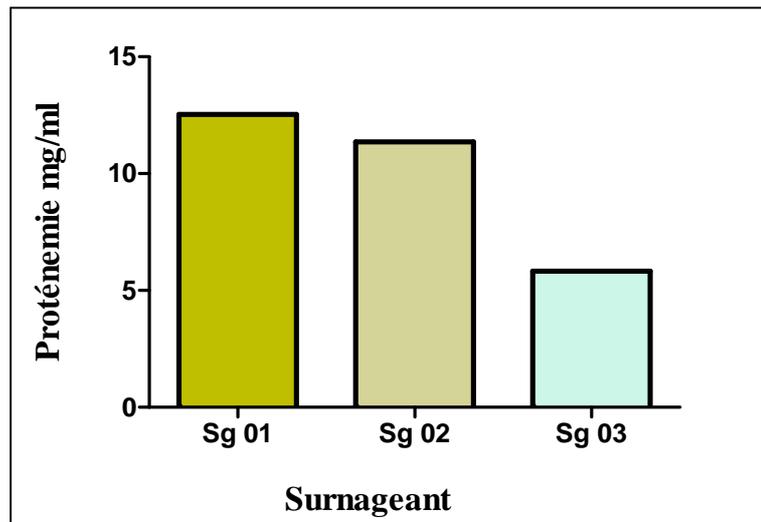


Figure 19 : Représentation graphique de la comparaison protéique entre trois surnageants du GBM 01.

Le surnageant correspond à la solution ayant permis la dissociation de la masse tumorale et récupérée après filtration et centrifugation, (sg=surnageant).

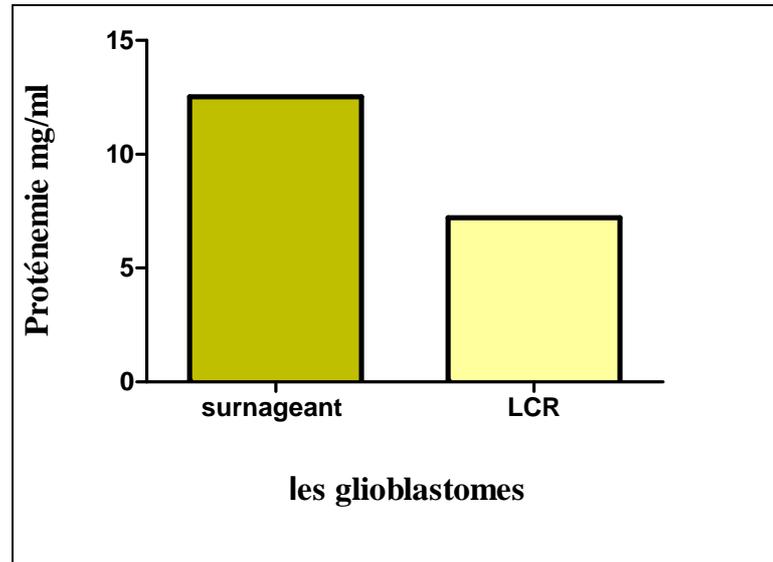


Figure 20 : Représentation graphique de la comparaison de la protéinémie entre surnageant de tumeur & LCR d'un sujet atteint de glioblastomes .

Le surnageant correspond à la solution ayant permis la dissociation de la masse tumorale et récupérée après filtration et centrifugation. Le LCR est récupéré de façon per-opératoire.

Les résultats de la **figure 19**, montre la présence de taux protéiques importants au niveau des surnageants de tumeurs. Ces taux restent équivalents entre le surnageant N° 1 et surnageant N°2 (12.531mg/ml Vs 11.361mg/ml). Le surnageant N°3 correspondant à la 3^{ème} récupération de surnageant après dissection et centrifugation, montre des taux protéiques deux inférieurs par rapport aux surnageants N°1 & N°2 (5.831mg/ml). De façon intéressante, la comparaison entre les taux protéiques du surnageant tumoral et du LCR correspondant (**Figure 20**) qui était au contact avec la tumeur, montre que ce LCR à une protéinémie quasiment deux fois moins importante que celle du surnageant de la tumeur (taux protéiques du LCR = 7.221mg/ml).

Les taux protéiques identiques retrouvés au niveau des glioblastomes concordent avec les résultats de différentes études montrant une augmentation de la protéinémie du sang dans un contexte tumoral (**Figure18**). En effet, cette augmentation est principalement due à des phénomènes de nécrose déclenchant des processus inflammatoires, la production des immunoglobulines et protéines solubles intervenant dans le processus invasif des cellules tumorale, mais aussi, la présence de biomarqueurs tumoraux comme la glycoprotéine 2- Heremans-Schmid découverte par Patrik et ses collaborateurs et les exomes mutants ainsi les

micros ARNm valider par Skog, retrouvé dans des études précédentes (Kalinina *et al.*, 2011). De plus, mêmes si on remarque la présence de protéines dans les échantillons de LCR de patients atteints de pathologies autres que tumorales, les taux retrouvés au niveau du LCR d'un sujet atteint d'un glioblastome sont 2 à 3 fois supérieurs.

Le LCR est un liquide biologique où les taux protéiques sont très bas dans un contexte physiologique normal avec des taux qui varient entre 0.2 et 0.5 mg/ml, le changement de ces taux protéiques est souvent synonyme de processus pathologiques (Kalinina *et al.*, 2011). En effet, les sujets de l'étude ayant des pathologies autres que tumorales présentent des taux moyens de protéines, car les pathologies associées à ces sujets sont une hydrocéphalie et une hypertension-intracrânienne. Ces deux dernières sont des pathologies cérébrales à fort potentiel inflammatoire, expliquant ainsi les taux protéiques détectés. La différence de concentration protéique entre les différents types tumoraux (Figure 17) où on observe un faible taux dans le LCR du sujet atteint d'une tumeur de l'orbite (3.951), démontre que les variations protéiques du LCR tumoral sont sous-types et localisation topographiques dépendants. En effet, les LCR récoltés chez des sujets présentant des glioblastomes montrent des taux élevés de protéines. Ces résultats tendent à démontrer que l'augmentation importante du taux protéique au niveau des LCR tumoraux et plus particulièrement chez les sujets atteints de glioblastomes, sont dus à une perturbation de l'intégrité de la barrière hémato-encéphalique, engendrant un influx important de protéines vers le cerveau (Renaud *et al.*, 2015). Toutefois, de nombreuses études font état du changement du microenvironnement cérébral dans un contexte tumoral où les cellules tumorales ou le tissu cérébral sain produisent des facteurs favorisant la croissance et la modulation cérébrale comme la neureguline, GGF (Shuji *et al.*, 2014). De façon intéressante, les taux importants de protéines au niveau du surnageant par rapport à protéinémie du LCR, suggèrent que la masse tumorale est le principal producteur des protéines retrouvées au niveau du LCR. Ces protéines correspondent probablement à des facteurs de croissance. En effet, la différence des taux protéiques dans les surnageants tumoraux de glioblastomes et méningiomes où l'on détecte des forts taux chez ce dernier (15.191 mg/ml), sont probablement dû au fait que le méningiome de l'étude correspond à un méningiome anaplasique multi-résistant opéré suite à une récurrence. Les protéines permettant probablement l'induction ou l'augmentation de signalisation proliférative, mais aussi des molécules inflammatoires qui sont au niveau du microenvironnement telles que le NFκB, STAT-3, COX-2 des molécules du métabolisme,

ainsi le rôle d'infiltrat immunitaire telles que les microglies et les macrophages (Mostofa *et al.*, 2017).

II. Le dosage semi-quantitatif des IgE spécifiques :

Le but du test d'Élisa indirect réalisé est de distinguer les personnes qui sont allergiques à une série d'allergènes mixtes (respiratoire et alimentaire), correspondant à plus de 80% des allergènes les plus abondants. Le choix des IgE spécifique été fait en se référant par rapport aux études précédente, contrairement au dosage des IgE totales, afin de réduire le bruit de fond ainsi d'éviter tous les faux positifs.

Les résultats des bandelettes utilisées contenant les allergènes, considérés positifs dans le cas où il y'a apparition d'un trait gris clair ou noir, un trait blanc est un résultat négatif.

II.1. Dosage des IgE pour les échantillons du GBM :

Les résultats du dosage de détection des IgE par l'utilisation des bandelettes dans les liquides biologiques des trois (03) GBM de sexe male sont représentés comme suit : 2/3 sont négatifs et- correspondent à des sujets atteints de glioblastomes et âgés de respectivement de 70 ans et 74ans montré dans (**Annexe 3-7**). Un échantillon positif (représentant 1/3 du total) correspond au LCR d'un sujet de 24 ans souffrant d'un glioblastome. Toutefois, les concentrations d'IgE chez ce sujet restent assez faibles (0.36 KUI). Les IgE détectés chez ce sujet sont dirigés (spécifiques) à un allergène alimentaire en l'occurrence le Lait de Vache (**Figure 21**). Néanmoins, il est important de signaler qu'en plus de ce taux de positivité faible, pour les autres sujets tumoraux de l'étude ni le surnageant de la tumeur ni le sang correspondant ne contiennent d'IgE.

Antigène	Concentration	Classe	0	1	2	3	4	5	6
Mélange d'herbes 2	< 0,35 kU/l	0							
Bouleau	< 0,35 kU/l	0							
Armoise commune	< 0,35 kU/l	0							
Dermatophagoides pter.	< 0,35 kU/l	0							
Dermatophagoides farinae	< 0,35 kU/l	0							
Chat	< 0,35 kU/l	0							
Chien	< 0,35 kU/l	0							
Cheval	< 0,35 kU/l	0							
Cladosporium herbarum	< 0,35 kU/l	0							
Aspergillus fumigatus	< 0,35 kU/l	0							
Alternaria alternata	< 0,35 kU/l	0							
Blanc d'oeuf	< 0,35 kU/l	0							
Jaune d'oeuf	< 0,35 kU/l	0							
Lait de vache	0,36 kU/l	1							
Morue	< 0,35 kU/l	0							
Alpha-lactalbumine	< 0,35 kU/l	0							
Beta-lactoglobuline	< 0,35 kU/l	0							
Caséine	< 0,35 kU/l	0							
Sérum albumine bovine	< 0,35 kU/l	0							
Farine de blé (Froment)	< 0,35 kU/l	0							
Riz	< 0,35 kU/l	0							
Soja	< 0,35 kU/l	0							
Arachide	< 0,35 kU/l	0							
Noisette	< 0,35 kU/l	0							
Carotte	< 0,35 kU/l	0							
Pomme de terre	< 0,35 kU/l	0							
Pomme	< 0,35 kU/l	0							
Marqueur CCD	< 0,35 kU/l	0							

Figure 21: Résultats de bandelette du dosage des IgE spécifique dans le LCR du GBM 02.
 Le taux des IgE est négatif toutes les allergènes (< 0.35KUI & à la classe 0) à l'exception d'un allergène montré par un tris gris clair (IgE = 0.36KUI & classe 01) en se référant au tableau accompagnant.

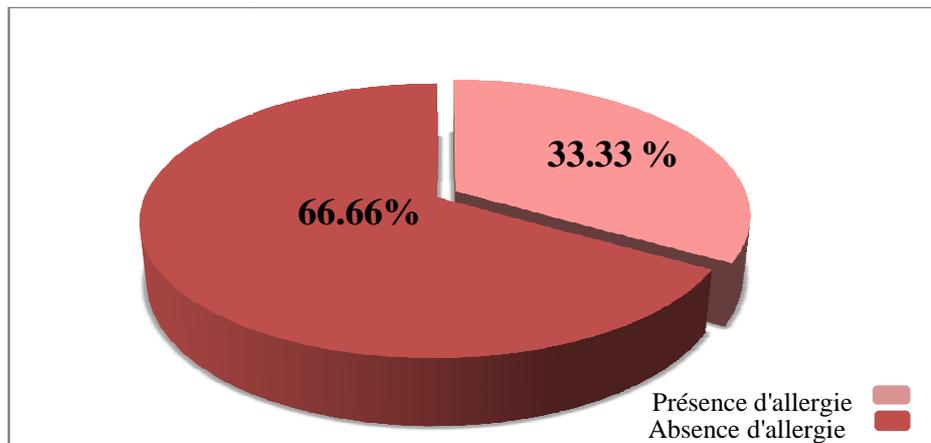


Figure 22 : Représentation des résultats du dosage des IgE pour les échantillons GBM.
 Le camembert est réalisée à partir des résultats obtenus dans le dosage des IgE par la méthode d'Élisa.

II.2. Dosage des IgE des autres échantillons tumoraux que les gliomes :

Le résultat des échantillons du contrôle positif observé chez les 02 tumeurs méningiome (**Figure 23**) et tumeur d'orbite(**Annexe10**), ont montré un pourcentage égal entre la présence et l'absence d'allergie dans les bandelettes de détection.

Antigène	Concentration	Classe	0	1	2	3	4	5	6
Mélange d'herbes 2	< 0,35 kU/l	0							
Bouleau	< 0,35 kU/l	0							
Armoise commune	< 0,35 kU/l	0							
Dermatophagoides pter.	< 0,35 kU/l	0							
Dermatophagoides farinae	< 0,35 kU/l	0							
Chat	< 0,35 kU/l	0							
Chien	< 0,35 kU/l	0							
Cheval	< 0,35 kU/l	0							
Cladosporium herbarum	< 0,35 kU/l	0							
Aspergillus fumigatus	< 0,35 kU/l	0							
Alternaria alternata	< 0,35 kU/l	0							
Blanc d'oeuf	< 0,35 kU/l	0							
Jaune d'oeuf	< 0,35 kU/l	0							
Lait de vache	< 0,35 kU/l	0							
Morue	< 0,35 kU/l	0							
Alpha-lactalbumine	< 0,35 kU/l	0							
Beta-lactoglobuline	< 0,35 kU/l	0							
Caséine	< 0,35 kU/l	0							
Sérum albumine bovine	< 0,35 kU/l	0							
Farine de blé (Froment)	< 0,35 kU/l	0							
Riz	< 0,35 kU/l	0							
Soja	< 0,35 kU/l	0							
Arachide	< 0,35 kU/l	0							
Noisette	< 0,35 kU/l	0							
Carotte	< 0,35 kU/l	0							
Pomme de terre	< 0,35 kU/l	0							
Pomme	0,36 kU/l	1							
Marqueur CCD	< 0,35 kU/l	0							

Figure 23 : Résultats de bandelette du dosage des IgE spécifique dans les surnageant 1&2 du méningiome.

Les bandelettes montre les taux des IgE qui sont négatifs pour toutes les allergènes (< 0.35KUI & classe 0) à l'exception d'un seul antigène montré par un tri gris clair (d'IgE = 0.36KUI & classe) en se référancier au tableau accompagner .

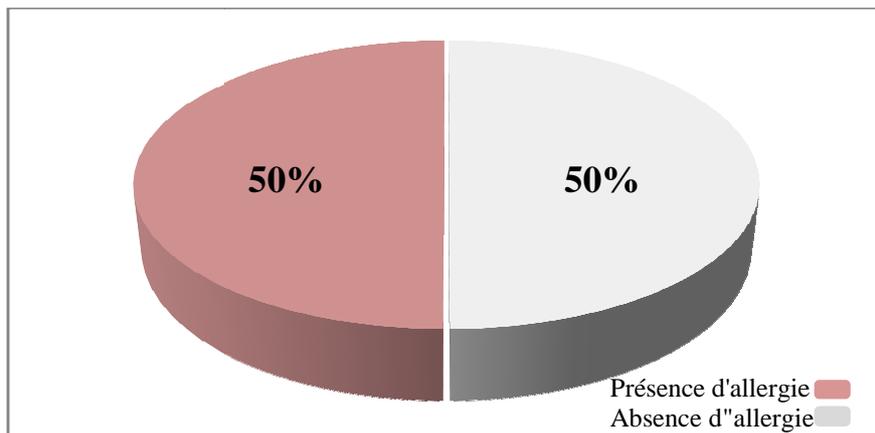


Figure 24 : Représentation graphique des résultats du dosage des IgE dans les autres échantillons tumoraux (Méningiome & tumeur d'orbite)

Le camembert était tracé à partir des résultats obtenus dans le dosage des IgE par la méthode d'Élisa.

Les taux d'IgE chez les sujets atteints de pathologies tumorales autres que les glioblastomes montrent une augmentation du taux positifs. En effet, 50% des échantillons testés sont peut-être des sujets atopiques.

II.3. Dosage des IgE des échantillons non tumoraux :

Les résultats pour le contrôle négatif, [hypertension intracrânien (Annexe 08), hydrocéphalie 01 (Annexe 09)] et (Figure 25) pour l’hydrocéphalie 02, ont montrés que sur les trois échantillons, 1/3 possède une allergie alimentaire pour trois allergènes, c’est une concentration remarquable par rapport au GBM ainsi aux méningiomes.

Antigène	Concentration	Classe	0	1	2	3	4	5	6
Mélange d'herbes 2	< 0,35 kUI	0							
Bouleau	< 0,35 kUI	0							
Armoise commune	< 0,35 kUI	0							
Dermatophagoides pter.	< 0,35 kUI	0							
Dermatophagoides farinae	< 0,35 kUI	0							
Chat	< 0,35 kUI	0							
Chien	< 0,35 kUI	0							
Cheval	< 0,35 kUI	0							
Cladosporium herbarum	< 0,35 kUI	0							
Aspergillus fumigatus	< 0,35 kUI	0							
Alternaria alternata	< 0,35 kUI	0							
Blanc d'oeuf	< 0,35 kUI	0							
Jaune d'oeuf	< 0,35 kUI	0							
Lait de vache	< 0,35 kUI	0							
Morue	< 0,35 kUI	0							
Alpha-lactalbumine	< 0,35 kUI	0							
Beta-lactoglobuline	< 0,35 kUI	0							
Caséine	< 0,35 kUI	0							
Sérum albumine bovine	< 0,35 kUI	0							
Farine de blé (Froment)	< 0,35 kUI	0							
Riz	< 0,35 kUI	0							
Soja	< 0,35 kUI	0							
Arachide	0,47 kUI	1							
Noisette	0,59 kUI	1							
Carotte	< 0,35 kUI	0							
Pomme de terre	< 0,35 kUI	0							
Pomme	0,59 kUI	1							
Marqueur CCD	< 0,35 kUI	0							

Figure 25 : Résultats de bandelette du dosage des IgE pour le HDC 02 (non tumoral)
 La bandelette d’antigène contenant trois tris gris clair représentant ainsi une positivité pour trois antigènes (>0.35KUI & classe 01) pour trois antigènes, en se référant au tableau accompagnant.

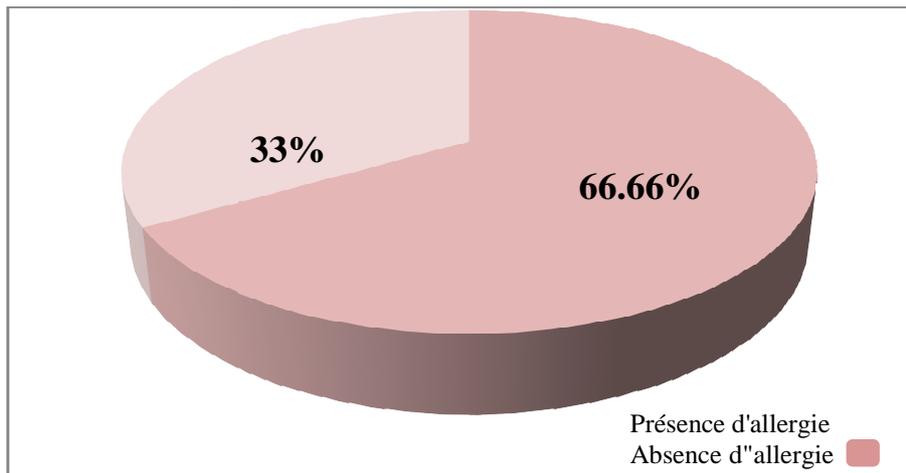


Figure 26 : Répartition graphique des résultats du dosage des IgE dans les échantillons contrôlés.
 Le camembert était tracé à partir des résultats obtenus dans le dosage des IgE par la méthode d’Élisa.

II.4. Les concentrations positives du dosage des IgE spécifiques :

Dans le résultat d'Élisa pour la quantification des IgE spécifiques, les histogrammes suivants ont été réalisés, afin de pouvoir comparer entre les différentes concentrations pour les trois échantillons positifs, montrés dans les (Figure 21,23 et 25).

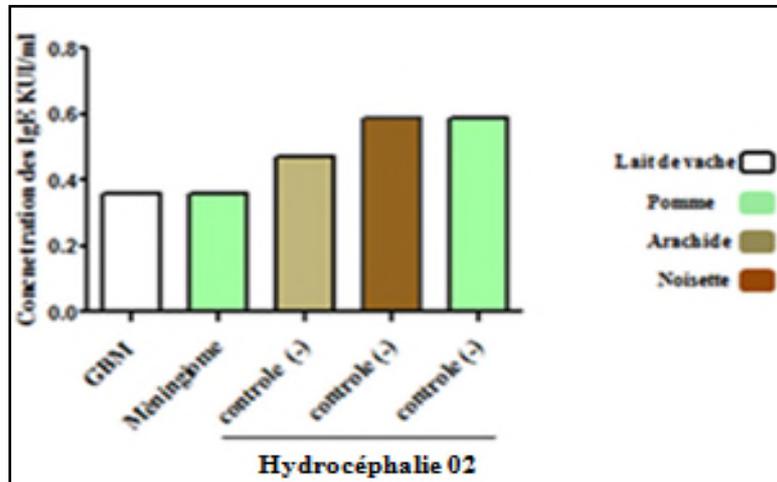


Figure 27 : Représentation graphique de la comparaison entre les résultats des taux des IgE dans les échantillons positifs pour les IgE.

Les différentes concentrations positives d'IgE obtenu à partir des échantillons biologiques révélés des bandelettes d'Élisa indirect.

Les résultats du dosage des IgE spécifiques, montrent que le taux des IgE est le même pour les deux échantillons tumoraux (glioblastome & méningiome), mais vis-à-vis d'antigènes différents, par contre les taux des IgE pour l'échantillon non tumoral (HDC02) correspond à l'échantillon numéro 12 (Tableau VIII) semble plus intéressant que se soit pour le nombre d'antigènes (positifs pour trois antigènes) ou par rapport à la concentration qui est supérieure 0.47KUI, il faut signaler que pour les échantillons du méningiome et HDC malgré qu'il partage le même antigène (pomme), la concentration des IgE est différentes (0.36KUI pour les méningiomes et 0.47KUI pour le HDC).

La détection de la présence d'IgE chez un sujet atteint de glioblastome peut être contradictoire avec les données de la littérature montrant un effet plutôt protecteur des IgE contre le développement des gliomes. (Wiemels *et al.*, 2009) Toutefois, le faible taux de positivité des IgE chez ce sujet laisse suggérer que, l'action protectrice des IgE contre le développement des gliomes est dose dépendant. En effet, des données de la littérature (Schledhofer et Calboli) stipulent que les taux au tour de 0.35KUI ne confèrent aucune protection contre le développement tumoral (Calboli *et al.*, 2011 ; Seifert *et al.*, 2015). Il est important de

signaler que les IgE agissent de façon indirecte sur les cellules cibles. En effet, leur action est médiée par leur interaction avec d'autres cellules immunitaires notamment les mastocytes et éosinophiles permettent la dégranulation (Burton et Otgan, 2011) Cette dernière, explique le fait que malgré la présence de taux d'IgE au niveau des surnageant c'est-à-dire au contact immédiat de la tumeur, aucune protection vis-à-vis du développement tumoral n'est observée chez ce cas de méningiome. De ce fait, l'absence de ces cellules immunitaire au niveau du site tumoral (microenvironnement), abroge un quelconque effet des IgE sur le développement tumoral. De plus, d'autres données de la littérature montrent que des agents viraux tels que le CMV peuvent induire une polarisation de la réponse immunitaire vers les Th2, conduisant ainsi à la production d'IgE à des taux permettant la réactivation du virus (Sidrochuk *et al.*, 2004).

III. Test sérologique du HCMV :

La sérologie du HCMV a été effectuée dans le but de mettre en évidence la présence de l'herpèsvirus dans nos échantillons par une méthode chimioluminescence, effectué par un automate CoBAS e 411.

III.1. La séroprévalence du HCMV :

Les résultats de la sérologie effectuer par des tests d'Elisa indirect à la recherche des anticorps dirigé contre le HCMV, à savoir des IgM et IgG spécifiques, sont montrée dans les (Annexes 11-18).

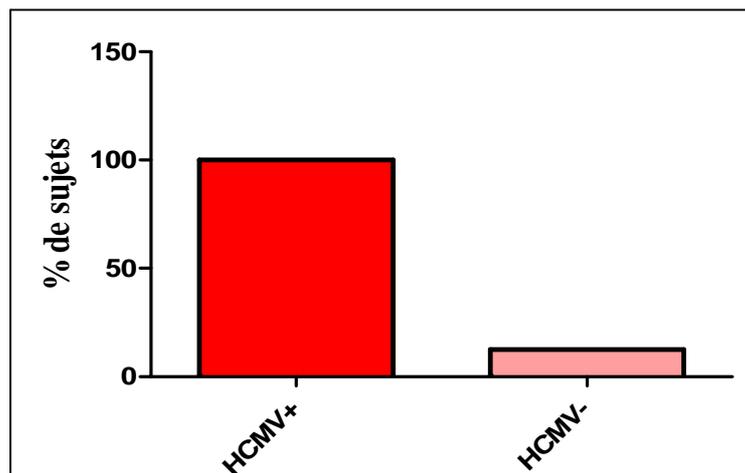


Figure 28: Représentation graphiques des pourcentages de la sérologie positive et négative du HCMV

Les histogrammes résumant les résultats sérologique du HCMV réalisés par l'automate de COBAS e 411.

III.2. Quantification sérologique des IgG anti CMV :

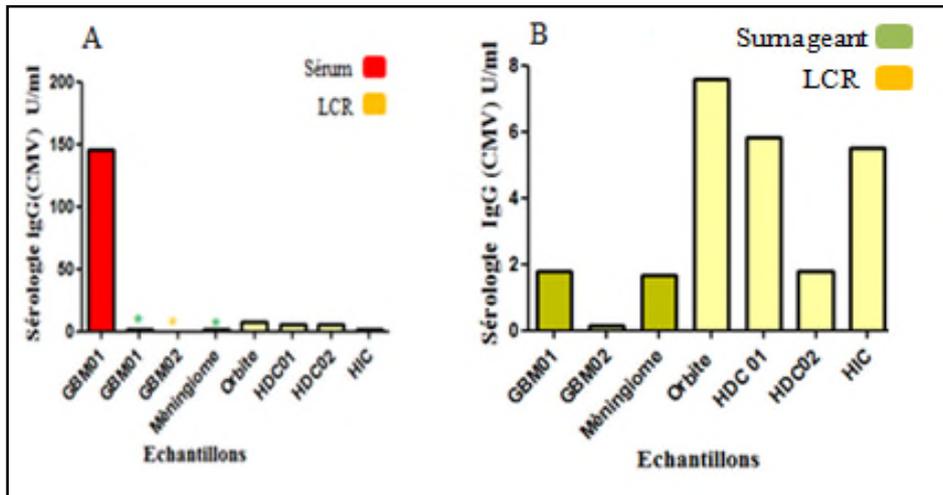


Figure 29: Représentation graphique des taux d'IgG anti du HCMV dans les échantillons biologiques

Les histogrammes résument les résultats sérologiques obtenus par la méthode de test COBAS réalisé par l'automate Cobas e 411 ; **A** : Représentation regroupe le taux des IgG anti HCMV dans toutes les natures d'échantillons biologique * : surnageant, * : LCR. **B** : représentation des taux d'IgG anti HCMV dans les surnageants et les LCR

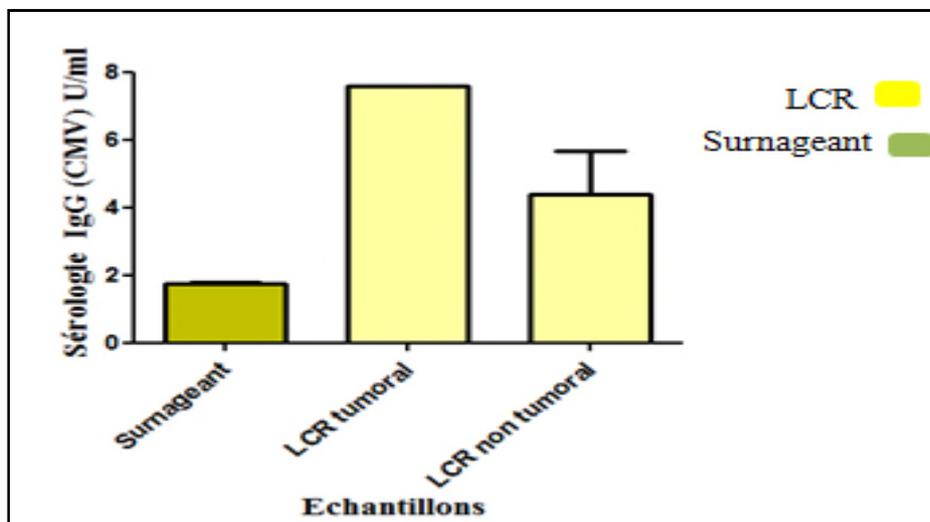


Figure 30 : Représentation du graphique des taux positifs d'IgG en fonction des liquides biologiques

Les histogrammes résument les résultats sérologiques obtenus par la méthode de test COBAS réalisé par l'automate Cobas e 411 sur différents échantillons biologiques.

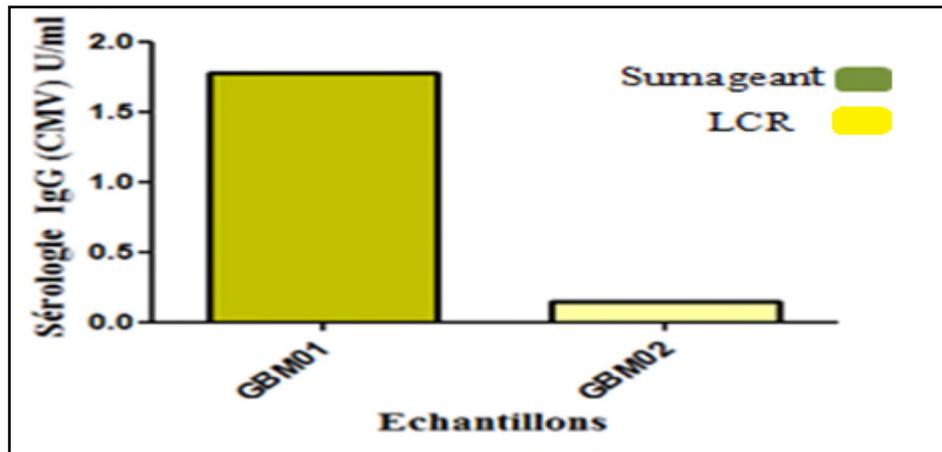


Figure 31: Représentation graphique des taux d'IgG anti-HCMV dans les échantillons biologiques de deux GBM

Les histogrammes résumant les résultats sérologiques obtenus par la méthode de test COBAS réalisé par l'automate Cobas e 411 sur des échantillons du glioblastome

Les résultats obtenus à partir de la sérologie du HCMV (**Figure 28**), réalisés par le test de COBAS, révèlent une séropositivité très importante. En effet, 87.5% (7/8) des échantillons de l'étude possèdent une positivité pour le virus. De façon intéressante, cette positivité est uniquement détectée pour les IgG, dont les taux varient entre 1.68-145.20U/ml. Néanmoins, cette variation de la concentration est différente en fonction de la nature du liquide biologique, car la concentration des IgG HCMV spécifiques au niveau du sérum est largement supérieure (145.20 U/ml) par rapport au LCR et surnageant de tumeur (1.68 -7.60 U/ml) (**Figure 29 A**). Ce résultat est en accord avec les séroprévalence qui a démontré des taux de séropositivité au HCMV compris entre 70-90% , chez les populations africaines (**Cannon et al., 2010**). Le fait que dans l'ensemble des échantillons, seuls les IgG anti-HCMV sont détectés, suggère une forte avidité des IgG, indiquant ainsi que cette infection au HCMV détectée dans l'étude est une infection chronique, voire même une réactivation du virus comme c'est le cas pour l'échantillon GBM 01, qui montre des taux importants d'anticorps sériques (**Figure 29**). De façon intéressante, le même sujet avec un taux sérique élevé, présente une positivité au niveau du surnageant de la tumeur (1.78U /ml). Ceci laisse suggérer que la réactivation du HCMV a eu lieu au niveau sérique, et que le virus a pu traverser la barrière hémato-encéphalique et interagir avec les cellules de glioblastomes. Ceci est en accord avec les données de la littérature montrant que le HCMV possède un large tropisme pour les cellules gliales. Cette observation laisse suggérer que la réactivation du HCMV au niveau

cérébral n'est pas l'unique moyen pour que ce dernier puisse agir sur les cellules gliales (Luo *et al.*, 2008).

Contrairement aux échantillons du glioblastome 01 (GBM01), l'échantillon glioblastomes 02 (GBM02) est négatif pour le HCMV (Annexe 13). De façon intéressante, l'échantillon GBM02, provient d'un patient de 24 ans atteint de glioblastome et positif au test des IgE, contrairement au GBM 01. Ce résultat laisse suggérer que le HCMV n'est pas à l'origine de l'initiation tumoral chez ce sujet, mais aussi le taux faible des IgE retrouvées chez ce sujet ne confère pas une protection contre le développement des glioblastomes. Ainsi il est fort probable que l'origine du développement tumoral chez ce sujet jeune est due à une prédisposition génétique. Les taux de positivité équivalents du HCMV au niveau des surnageants de tumeur du méningiome et GBM01 (Figure 29) montré respectivement dans (Annexe 14 & 11), laisse suggérer que contrairement aux données de la littérature actuelles supposons que le HCMV ne possède un tropisme que pour les cellules gliale ; le HCMV possède aussi un tropisme vis-à-vis des cellules méningées, ce qui pourrait expliquer le fait que le surnageant du méningiome utilisé dans l'étude provient d'un méningiome anaplasique récidivant. Ceci nous amène à supposer que le HCMV a influencé cet état agressif. Et cela malgré la faible positivité du sujet pour les IgE. La forte positivité du LCR du sujet atteint de tumeur de l'orbite (7.60 U/ml), confirme l'hypothèse selon laquelle le tropisme du HCMV au niveau du cerveau est certes plus important pour les cellules gliales, mais non exclusive (Luo *et al.*, 2008).

la Positivité du sujet atteint d'hydrocéphalie et âgé de 08 mois, est en accord avec les données de la littérature qui montrent une forte corrélation entre l'infection au CMV et les microcéphalies chez les nouveau-nés (Muriel, 2013). Nous avons suggérer que les taux des IgE importants au niveau du LCR de l'échantillon 12 (Tableau VIII) d'un patient atteint d'hydrocéphalie, pouvaient s'expliquer par un processus inflammatoire. Les résultats du dosage des IgG spécifiques (Annexe 18) montrant une positivité pour HCMV (5.82U/ml), renforce notre hypothèse de départ. En effet, de nombreuses études montrent que la réactivation du HCMV nécessite un microenvironnement inflammatoire qui peut être due à la réaction d'hypersensibilité (Kobayashi *et al.*, 2016) cette réactivation du virus conduit aussi à l'activation des voies inflammatoire telle que le voie NFκB et STAT-3 ainsi des molécules inflammatoires tel que UL111a qui est un homologue de l'interleukine10 humain, et en revanche polariser la voie Th1 vers Th2 en permettant de déclencher des allergies qui se

manifeste majoritairement par des réactions inflammatoires suite à les dégranulation des mastocyte et la production des différents molécules inflammatoires telle que les histamines et la prostaglandines de ce fait les réaction allergiques jouent un rôle protecteur et un rôle dans la progression tumoral par le biais de l'inflammation(Kofman *et al.*, 2011; Sidorchuk *et al.*, 2004). Il s'agit d'une boucle de rétrocontrôle entre les deux facteurs.

IV. Etude anatomopathologie :

IV.1. Echantillons murins :

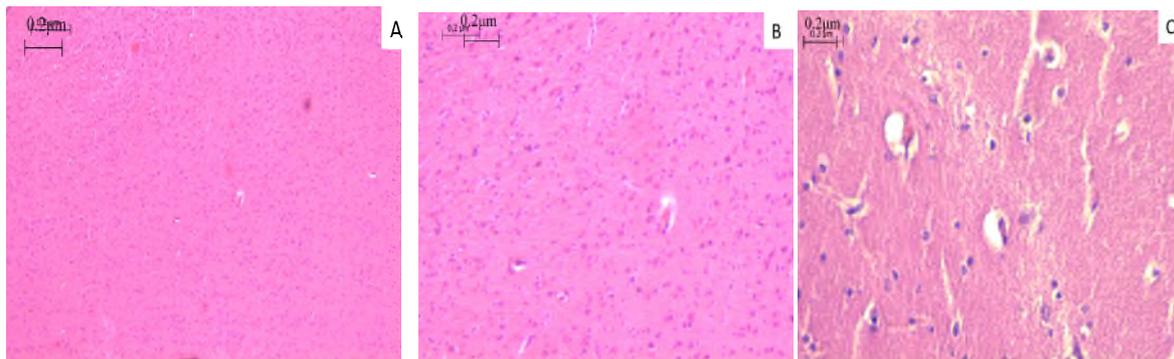


Figure 32: Photographies représentatives des coupes histologiques des cerveaux des souris contrôles non traités de pesticides.

Les coupes histologiques représente les cerveaux des souris dans un état physiologiques normal avec différents grossissements, A : 4x, B : 10x & C : 20x.

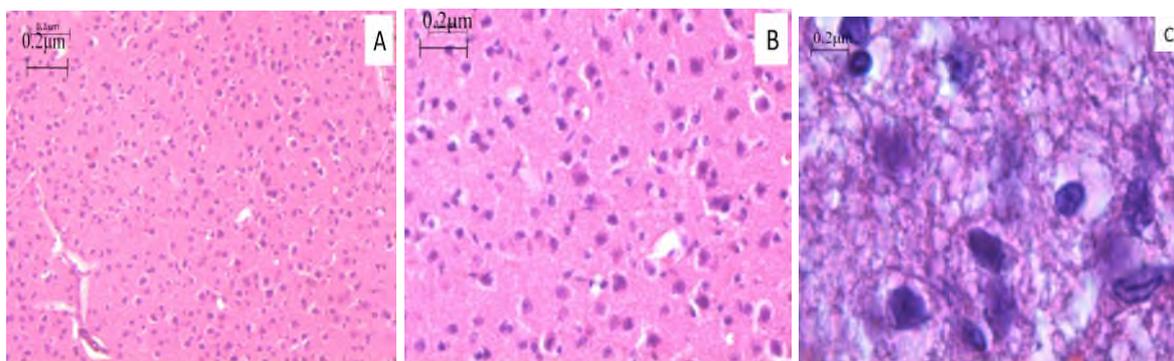


Figure 33: Photographies représentatives des coupes histologiques des cerveaux des souris traitées aux pesticides

Les coupes représentes des coupes histologique des cerveaux de souris traités de pesticides avec de différents grossissements, A : 10x, B : 20x, & C : 100x..

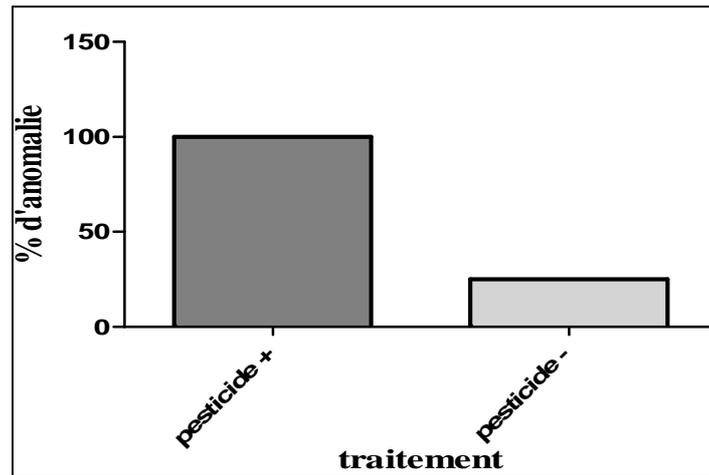


Figure 34: Histogrammes représentatifs du pourcentage d'anomalies cérébrales chez les souris traité ou non aux pesticides

Les histogrammes montrent la différence entre le pourcentage des souris atteints des anomalies cytologiques de souris traité de pesticides et les non traités.

Les résultats de l'observation des coupes histologies des souris traitées ou non aux pesticides, montrent une différence dans l'organisation tissulaire des cerveaux entre les deux groupes. En effet, en plus de la présence de cellules à noyaux et contours irréguliers, on observe une perte d'homogénéité du tissu cérébral, faisant ainsi référence à la présence probable de foyers nécrotiques et un remodelage du tissu cérébral ; ce dernier est également le siège de réactions inflammatoires probables engendrées soit par les phénomènes de nécroses ou bien par l'infiltration de cellules immunitaire, en témoigne la détection de cellules immunitaire de type éosinophiles au niveau du tissu cérébral des souris traitées aux pesticides. En effet, l'ensemble des souris de notre étude ayant été traitée aux pesticides présentent les anomalies précédemment citées. Contrairement aux souris non-traitées où seulement 25% d'entre elles présentent des anomalies similaires (**Figure 32 & 33**). Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature, mentionnant le fait que les pesticides ont un caractère lipophile leur permettant ainsi de traverser la barrière hémato-encéphalique et perturber l'homéostasie du tissu cérébral. De plus, il est déjà démontré que les pesticides perturbent le système immunitaire en engendrant soit des immunosuppressions, des auto-immunités voir même des hypersensibilités (**Li et al., 2015**).

IV.2. Echantillons humain

IV.2.1. Coupes histologique d'astrocytomes :

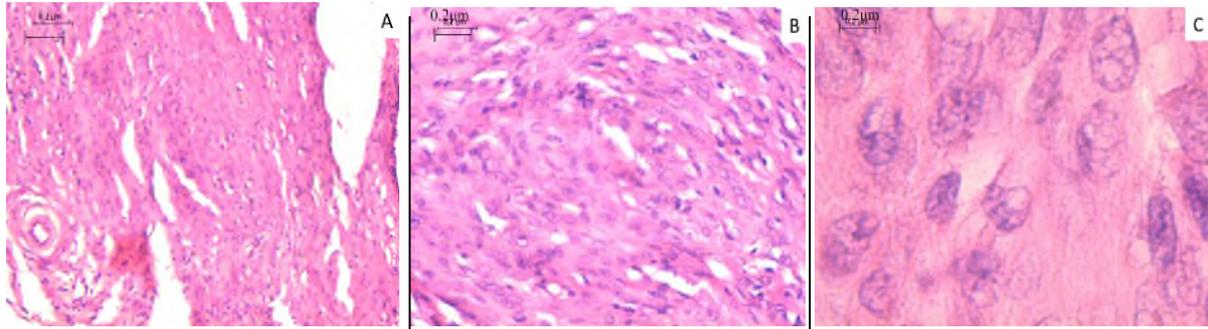


Figure 35 : Photographies représentatives des coupes histologiques d'astrocytome (60ans)

Les coupes représentées des coupes histologique de biopsie humain de tumeurs cérébrales de grade astrocytome avec différents grossissements, A : 4x, B : 20x, C : 40x & D : 100x.les coupes histologique ne montrent aucun signe de nécrose et d'infiltrat .

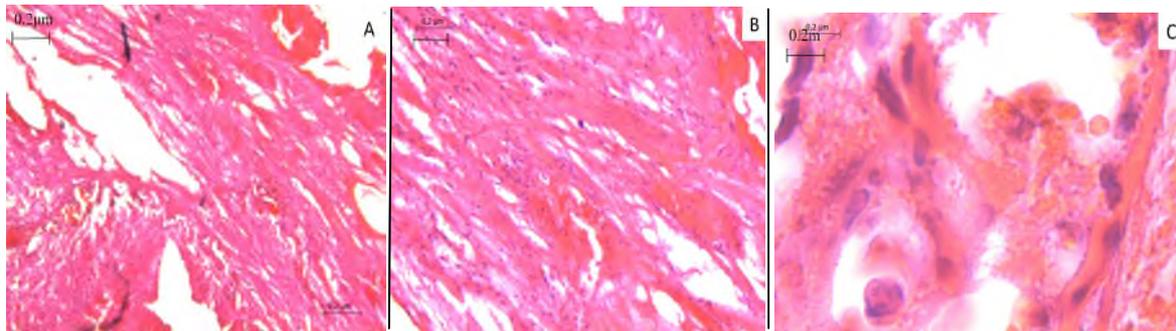


Figure 36 : Photographies représentatives des coupes histologiques d'un astrocytome (43ans)

Les coupes représentées des coupes histologique de biopsie humain de tumeurs cérébrales de grade astroctome avec différents grossissements, A : 4x, B : 10x, & C : 100x. Les coupes histologiques montrent des signes de nécrose et de faible infiltrat immunitaire .

IV.2.1. Coupe histologique d'échantillons du glioblastome :

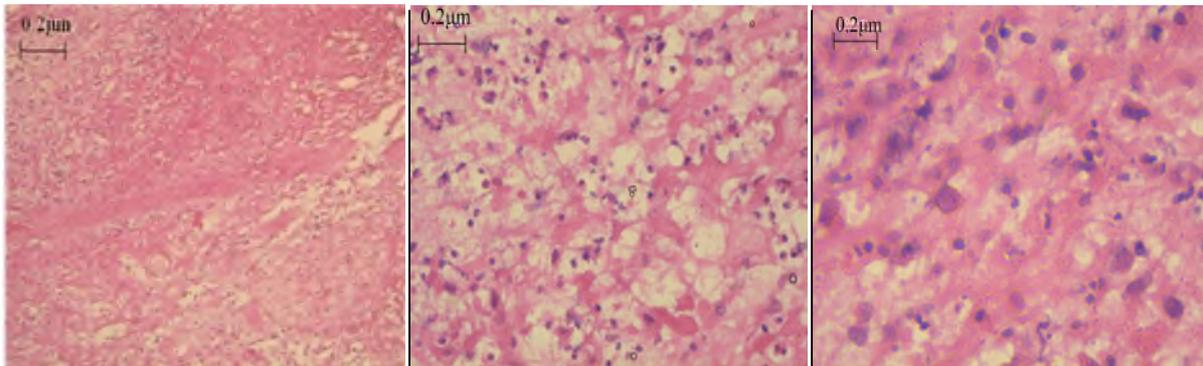


Figure 37 : Photographie représentative des coupes histologiques d'un GBM (74ans)
photographie représente des coupes histologiques de biopsie humaine de tumeur cérébrale de type glioblastome avec différents grossissements A : 4x, B : 20x & C : 40x les coupes montrent Une prolifération gliale dense hautement maligne largement nécrosé avec des cellules gliales indifférencier, présence des figures mitotique nombreuse, et une prolifération endothélio-capillaire.

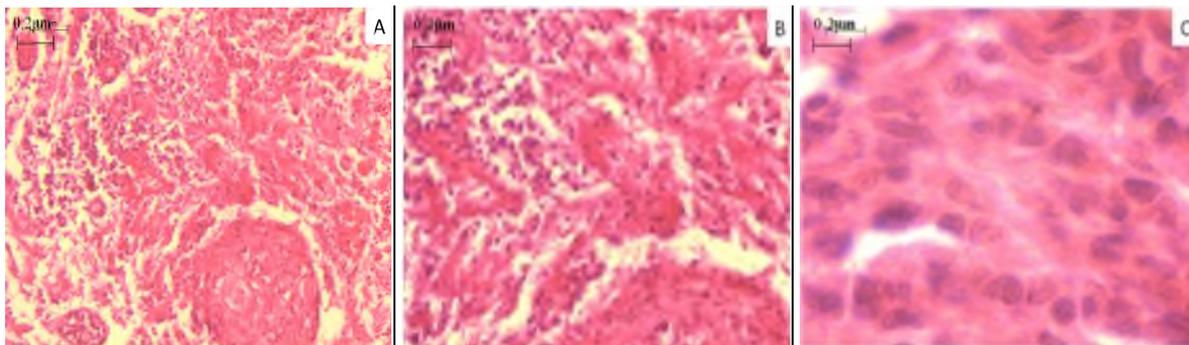


Figure 38 : Photographies représentatives des coupes histologiques d'un GBM (24ans)
Les coupes représente des coupes histologiques de biopsie humaine de tumeurs cérébrale de type glioblastome avec différents grossissements, A : 4x, B : 20x & C : 100x.les coupes montrent un haut d grade de différenciation avec un foyer nécrotique.

IV.2.2. Coupes histologiques d'échantillon du méningiome (contrôle +) :

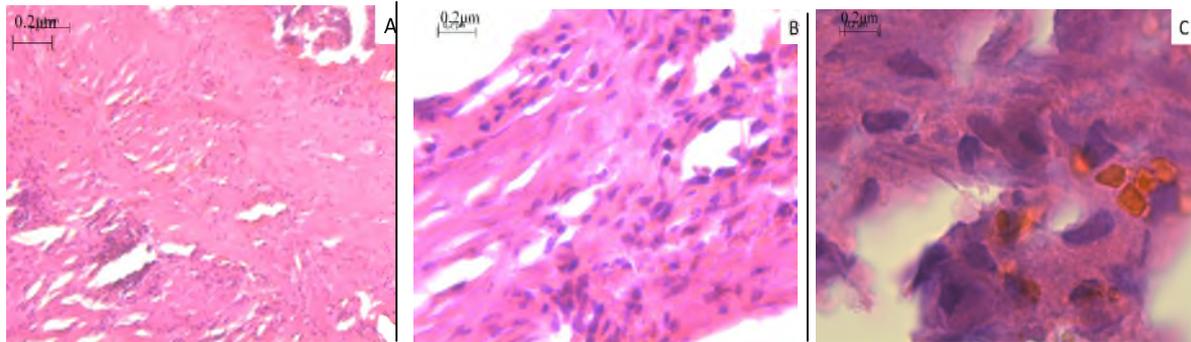


Figure 39: Photographie représentatives des coupes histologiques d'un méningiome
Les coupes représente des coupes histologiques de biopsie humain de tumeurs cérébrale de type méningiome avec différents grossissements, A : 4x, B : 20x & C : 100x. Les coupes histologiques montrent absence de nécrose et faible infiltrat immunitaire

Il faut signaler que les coupes histologiques qui n'ont pas été mentionner représentent des caractéristiques similaires avec les coupes mentionner.

Les résultats des différentes coupes histologiques des tumeurs humaines, montrent que la présence du foyer inflammatoire est indépendante du sous-type histologique. Ceci peut être expliqué par la nature anatomique et histologique du tissu cérébral. Toutefois, l'implication de facteurs exogènes dans la présence de cellules immunitaire et de foyers inflammatoires n'est pas à écarter. En effet, l'observation des tissus cérébraux de modèles murins traités aux pesticides, montre une corrélation entre ce traitement et l'augmentation l'infiltrat immunitaire au niveau de ce tissu.

Conclusions & Perspectives

L'étude que nous avons menée a permis d'observer des résultats reflétant l'ambiguïté du rôle pouvant être joué par l'hypersensibilité dans l'apparition et progression des tumeurs cérébrales, notamment les gliomes. L'intégration des paramètres de l'infection au HCMV, mais aussi de la présence d'un état inflammatoire au niveau du tissu cérébral, permet de faire ressortir quelques hypothèses concernant ce rôle ambigu. En effet, il apparaît à travers nos résultats que un effet protecteur des IgE ne peut être constaté que si le seuil de concentration de ces derniers est important, mais aussi la nécessité de présence de cellules immunitaires notamment les éosinophiles au niveau du tissu cérébral. Toutefois, la présence d'une réactivation du HCMV abroge un effet potentiellement protecteur des IgE. De plus, il semblerait qu'un certain niveau inflammatoire serait à l'origine de la réactivation du cycle du HCMV.

Les résultats prometteurs obtenus, nous laisse entrevoir la réalisation d'un travail plus important, nécessitant l'augmentation de l'effectifs d'échantillons afin de pouvoir analyser un nombre important de paramètres. Notamment, l'analyse du statut IgE, CMV, mais aussi d'autre virus tel que l'EBV connu pour collaborer avec le CMV dans les processus d'oncomodulation. Cette analyse devrait se faire avec les techniques classiques, mais aussi de l'immuno-histochimie afin d'évaluer la présence tissulaire des virus. L'utilisation de techniques plus sensibles telle que la PCR niché q-RT PCR et l'hybridation in situ, le séquençage ; permettant l'évaluation phénotypique et génotypique du virus dans un contexte tumoral. Des études in vitro et in vivo sont aussi nécessaires afin de mieux comprendre la relation cellulaire entre les cellules gliales et les cellules du système immunitaire en présence du HCMV et d'autres facteurs environnementaux.

Références Bibliographiques

- ❖ Abou-El-Ardat, K., Seifert, M., Becker, K., Eisenreich, S., Lehmann, M., Hackmann, K., Rump, A., Meijer, G., Carvalho, B., Temme, A., et al. (2017). Comprehensive molecular characterization of multifocal glioblastoma proves its monoclonal origin and reveals novel insights into clonal evolution and heterogeneity of glioblastomas. *Neuro-Oncol.* *19*, 546–557.
- ❖ Abou-El-Ardat, K., Seifert, M., Becker, K., Eisenreich, S., Lehmann, M., Hackmann, K., Rump, A., Meijer, G., Carvalho, B., Temme, A., et al. (2017). Comprehensive molecular characterization of multifocal glioblastoma proves its monoclonal origin and reveals novel insights into clonal evolution and heterogeneity of glioblastomas. *Neuro-Oncol.* *19*, 546–557.
- ❖ Adem, C et Mokhtari, K (2011). tumeurs du système nerveux central. classification histologiques et topographique, épidémiologique. *11(2):19*.
- ❖ Ahani, N., Nikraves, A., Shirkoobi, R., Arzenani, M.K., Rokouei, M., and Eskandani, M.A. (2014). Detection of human cytomegalovirus in glioma tumor tissues. *Comp. Clin. Pathol.* *23*, 1321–1330.
- ❖ Amirian, E.S., Zhou, R., Wensch, M.R., Olson, S.H., Scheurer, M.E., Il'yasova, D., Lachance, D., Armstrong, G.N., McCoy, L.S., Lau, C.C., et al. (2016). Approaching a Scientific Consensus on the Association between Allergies and Glioma Risk: A Report from the Glioma International Case-Control Study. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. Publ. Am. Assoc. Cancer Res. Cosponsored Am. Soc. Prev. Oncol.* *25*, 282–290.
- ❖ Andrus, S.J. et Jian-qiang Lu (2015). immune cell infiltrates in the central nervous system tumors. *volume 2(1):1024*.
- ❖ Armstrong, T.S., Cron, S.G., Bolanos, E.V., Gilbert, M.R., and Kang, D.-H. (2010). Risk factors for fatigue severity in primary brain tumor patients. *Cancer* *116*, 2707–2715.
- ❖ Assi, H., Candolfi, M., Baker, G., Mineharu, Y., Lowenstein, P.R., and Castro, M.G. (2012). Gene therapy for brain tumors: basic developments and clinical implementation. *Neurosci. Lett.* *527*, 71–77.
- ❖ Beltran, P.M.J., and Cristea, I.M. (2014). The life cycle and pathogenesis of human cytomegalovirus infection: lessons from proteomics. *Expert Rev. Proteomics* *11*, 697–711.
- ❖ Bencokova, Z. (2007). Signalisation et réparation des cassures double-brin de l'ADN dans les gliomes : Modulation de la réponse aux traitements chimio-radiothérapeutiques. *phdthesis. Université Joseph-Fourier - Grenoble I*.
- ❖ Boehme, K.W., Guerrero, M., and Compton, T. (2006). Human cytomegalovirus envelope glycoproteins B and H are necessary for TLR2 activation in permissive cells. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* *177*, 7094–7102.

Références Bibliographiques

- ❖ Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* *72*, 248–254.
- ❖ Burton, O.T., and Oettgen, H.C. (2011). Beyond immediate hypersensitivity: evolving roles for IgE antibodies in immune homeostasis and allergic diseases. *Immunol. Rev.* *242*, 128–143.
- ❖ Buxmann, H., Hamprecht, K., Meyer-Wittkopf, M., and Friese, K. (2017). Primary Human Cytomegalovirus (HCMV) Infection in Pregnancy. *Dtsch. Arzteblatt Int.* *114*, 45–52.
- ❖ Calboli, F.C.F., Cox, D.G., Buring, J.E., Gaziano, J.M., Ma, J., Stampfer, M., Willett, W.C., Tworoger, S.S., Hunter, D.J., Camargo, C.A., et al. (2011). Prediagnostic plasma IgE levels and risk of adult glioma in four prospective cohort studies. *J. Natl. Cancer Inst.* *103*, 1588–1595.
- ❖ Cannon, M.J., Schmid, D.S., and Hyde, T.B. (2010). Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection. *Rev. Med. Virol.* *20*, 202–213.
- ❖ Chen, P., Chen, C., Chen, K., Xu, T., and Luo, C. (2015). Polymorphisms in IL-4/IL-13 pathway genes and glioma risk: an updated meta-analysis. *Tumour Biol. J. Int. Soc. Oncodevelopmental Biol. Med.* *36*, 121–127.
- ❖ Cobbs, C.S. (2013). Cytomegalovirus and brain tumor: epidemiology, biology and therapeutic aspects. *Curr. Opin. Oncol.* *25*, 682–688.
- ❖ Cobbs, C.S., Harkins, L., Samanta, M., Gillespie, G.Y., Bharara, S., King, P.H., Nabors, L.B., Cobbs, C.G., and Britt, W.J. (2002). Human cytomegalovirus infection and expression in human malignant glioma. *Cancer Res.* *62*, 3347–3350.
- ❖ Crump, C., Sundquist, J., Sieh, W., Winkleby, M.A., and Sundquist, K. (2015). PERINATAL AND FAMILIAL RISK FACTORS FOR BRAIN TUMORS IN CHILDHOOD THROUGH YOUNG ADULTHOOD. *Cancer Res.* *75*, 576–583.
- ❖ Dolan, A., Cunningham, C., Hector, R.D., Hassan-Walker, A.F., Lee, L., Addison, C., Dargan, D.J., McGeoch, D.J., Gatherer, D., Emery, V.C., et al. (2004). Genetic content of wild-type human cytomegalovirus. *J. Gen. Virol.* *85*, 1301–1312.
- ❖ Dolecek, T.A., Propp, J.M., Stroup, N.E., and Kruchko, C. (2012). CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2005-2009. *Neuro-Oncol.* *14 Suppl 5*, v1-49.
- ❖ Furnari, F.B., Fenton, T., Bachoo, R.M., Mukasa, A., Stommel, J.M., Stegh, A., Hahn, W.C., Ligon, K.L., Louis, D.N., Brennan, C., et al. (2007). Malignant astrocytic glioma: genetics, biology, and paths to treatment. *Genes Dev.* *21*, 2683–2710.

Références Bibliographiques

- ❖ Hoang-Xuan, K., Idbaih, A., Mokhtari, K., and Sanson, M. (2005). Towards a molecular classification of gliomas. *Bull. Cancer (Paris)* 92, 310–316.
- ❖ Hoover, D.B. Cholinergic modulation of the immune system presents new approaches for treating inflammation. *Pharmacol. Ther.*
- ❖ Jiang, X.-J., Zhang, J., Xiong, Y., Jahn, G., Xiong, H.-R., Yang, Z.-Q., and Liu, Y.-Y. (2017). Human cytomegalovirus glycoprotein polymorphisms and increasing viral load in AIDS patients. *PloS One* 12, e0176160.
- ❖ Kalinina, J., Peng, J., Ritchie, J.C., and Van Meir, E.G. (2011). Proteomics of gliomas: initial biomarker discovery and evolution of technology. *Neuro-Oncol.* 13, 926–942.
- ❖ Kobayashi, A., Takasawa, R., Takasawa, K., Nishioka, M., Kaneko, M., Ono, H., Maekawa, T., Morio, T., and Shimohira, M. (2016). An infant case of severe hypereosinophilia and systemic symptoms with multiple drug hypersensitivity and reactivation of cytomegalovirus and BK virus. *Allergol. Int.*
- ❖ Kofman, A., Marcinkiewicz, L., Dupart, E., Lyshev, A., Martynov, B., Ryndin, A., Kotelevskaya, E., Brown, J., Schiff, D., and Abounader, R. (2011). The roles of viruses in brain tumor initiation and oncomodulation. *J. Neurooncol.* 105, 451–466.
- ❖ Lepiller, Q., Fafi-Kremer, S., Stoll-Keller, F., and Herbein, G. (2012). Cytomégalovirus humain et cancers. *Virologie* 16, 315–329.
- ❖ Lin, A., Xu, H., and Yan, W. (2007). Modulation of HLA expression in human cytomegalovirus immune evasion. *Cell. Mol. Immunol.* 4, 91–98.
- ❖ Louis, D.N., Perry, A., Reifenberger, G., von Deimling, A., Figarella-Branger, D., Cavenee, W.K., Ohgaki, H., Wiestler, O.D., Kleihues, P., and Ellison, D.W. (2016). The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 131, 803–820.
- ❖ Luo, M.H., Schwartz, P.H., and Fortunato, E.A. (2008). Neonatal neural progenitor cells and their neuronal and glial cell derivatives are fully permissive for human cytomegalovirus infection. *J. Virol.* 82, 9994–10007.
- ❖ Michaelis, M., Doerr, H.W., and Cinatl, J. (2009). The Story of Human Cytomegalovirus and Cancer: Increasing Evidence and Open Questions. *Neoplasia N. Y. N* 11, 1–9.
- ❖ Miller-Kittrell, M., and Sparer, T.E. (2009). Feeling manipulated: cytomegalovirus immune manipulation. *Virol. J.* 6, 4.
- ❖ Mostofa, A.G.M., Punganuru, S.R., Madala, H.R., Al-Obaide, M., and Srivenugopal, K.S. (2017). The Process and Regulatory Components of Inflammation in Brain Oncogenesis. *Biomolecules* 7.

Références Bibliographiques

- ❖ Muriel FAURE-DELLA CORTE (2010). Cytomégalo­virus Humain : Variabilité, Recombinaison et Protéine pUL40.
- ❖ Ostrom, Q.T., Bauchet, L., Davis, F.G., Deltour, I., Fisher, J.L., Langer, C.E., Pekmezci, M., Schwartzbaum, J.A., Turner, M.C., Walsh, K.M., et al. (2014). The epidemiology of glioma in adults: a “state of the science” review. *Neuro-Oncol.* 16, 896–913.
- ❖ Petersen, J.K., Jensen, P., Sørensen, M.D., and Kristensen, B.W. (2016). Expression and Prognostic Value of Oct-4 in Astrocytic Brain Tumors. *PLOS ONE* 11, e0169129.
- ❖ Pitlick, M.M., Orr, K., Momany, A.M., McDonald, E.L., Murray, J.C., and Ryckman, K.K. (2015). Determining the prevalence of cytomegalovirus infection in a cohort of preterm infants. *J. Neonatal-Perinat. Med.* 8, 137–141.
- ❖ Ren, X., Cui, X., Lin, S., Wang, J., Jiang, Z., Sui, D., Li, J., and Wang, Z. (2012). Co-Deletion of Chromosome 1p/19q and IDH1/2 Mutation in Glioma Subsets of Brain Tumors in Chinese Patients. *PLoS ONE* 7.
- ❖ Renaud, J., Thérien, H.-M., Plouffe, M., and Martinoli, M.-G. (2015). [Neuroinflammation: Dr Jekyll or Mr Hyde?]. *Med. Sci.* MS 31, 979–988.
- ❖ Sanson, M ; Tallibert, S (2004). Données générales de neuro-oncogénèse. 1(1):75-89.
- ❖ Schwartzbaum, J., Ding, B., Johannesen, T.B., Osnes, L.T.N., Karavodin, L., Ahlbom, A., Feychting, M., and Grimsrud, T.K. (2012). Association Between Prediagnostic IgE Levels and Risk of Glioma. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* 104, 1251–1259.
- ❖ Seifert, M., Garbe, M., Friedrich, B., Mittelbronn, M., and Klink, B. (2015). Comparative transcriptomics reveals similarities and differences between astrocytoma grades. *BMC Shuji Wkatsuki ,Toshiyuki Araki , Atsoku Sahara Fujisawa (2014). Neuregulin-1/gli­al growth factor stimulates Schwann cell migration by inducing α5 β1 integrin–ErbB2–focal adhesion kinase complex formation.* 19, 66–77. *Cancer* 15, 952.
- ❖ Sidorchuk, A., Wickman, M., Pershagen, G., Lagarde, F., and Linde, A. (2004). Cytomegalovirus infection and development of allergic diseases in early childhood: interaction with EBV infection? *J. Allergy Clin. Immunol.* 114, 1434–1440.
- ❖ Sinclair, J., and Sissons, P. (2006). Latency and reactivation of human cytomegalovirus. *J. Gen. Virol.* 87, 1763–1779.
- ❖ Strelow, D.N., S.M. Varnum, R.D. Smith, and J.A. Nelson. (2006). A proteomics analysis of Human Cytomegalovirus particles. 5:91-110.
- ❖ Strong, M.J., Garces, J., Vera, J.C., Mathkour, M., Emerson, N., and Ware, M.L. (2015). Brain Tumors: Epidemiology and Current Trends in Treatment. *J. Brain Tumors Neurooncology* 1.

Références Bibliographiques

- ❖ Tabeta, K., Georgel, P., Janssen, E., Du, X., Hoebe, K., Crozat, K., Mudd, S., Shamel, L., Sovath, S., Goode, J., et al. (2004). Toll-like receptors 9 and 3 as essential components of innate immune defense against mouse cytomegalovirus infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *101*, 3516–3521.
- ❖ Theiler, R.N., and Compton, T. (2001). Characterization of the signal peptide processing and membrane association of human cytomegalovirus glycoprotein O. *J. Biol. Chem.* *276*, 39226–39231.
- ❖ Wiemels, J.L., Wilson, D., Patil, C., Patoka, J., McCoy, L., Rice, T., Schwartzbaum, J., Heimberger, A., Sampson, J.H., Chang, S., et al. (2009). IgE, allergy, and risk of glioma: update from the San Francisco Bay Area Adult Glioma Study in the temozolomide era. *Int. J. Cancer* *125*, 680–687.
- ❖ Wilkinson, G.W.G., Tomasec, P., Stanton, R.J., Armstrong, M., Prod'homme, V., Aicheler, R., McSharry, B.P., Rickards, C.R., Cochrane, D., Llewellyn-Lacey, S., et al. (2008). Modulation of natural killer cells by human cytomegalovirus. *J. Clin. Virol. Off. Publ. Pan Am. Soc. Clin. Virol.* *41*, 206–212.
- ❖ Wrensch, M., Minn, Y., Chew, T., Bondy, M., and Berger, M.S. (2002). Epidemiology of primary brain tumors: current concepts and review of the literature. *Neuro-Oncol.* *4*, 278–299.
- ❖ Zhang, C.-B., Zhu, P., Yang, P., Cai, J.-Q., Wang, Z.-L., Li, Q.-B., Bao, Z.-S., Zhang, W., and Jiang, T. (2015). Identification of high risk anaplastic gliomas by a diagnostic and prognostic signature derived from mRNA expression profiling. *Oncotarget* *6*, 36643–36651.
- ❖ <http://globocan.iarc.fr>

Annexe 01: classification des tumeurs cérébrales selon l’OMS 2016

WHO grades of select CNS tumours			
Diffuse astrocytic and oligodendroglial tumours			
Diffuse astrocytoma, IDH-mutant	II	Desmoplastic infantile astrocytoma and ganglioglioma	I
Anaplastic astrocytoma, IDH-mutant	III	Papillary glioneuronal tumour	I
Glioblastoma, IDH-wildtype	IV	Rosette-forming glioneuronal tumour	I
Glioblastoma, IDH-mutant	IV	Central neurocytoma	II
Diffuse midline glioma, H3 K27M–mutant	IV	Extraventricular neurocytoma	II
Oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted	II	Cerebellar liponeurocytoma	II
Anaplastic oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted	III		
Other astrocytic tumours		Tumours of the pineal region	
Pilocytic astrocytoma	I	Pineocytoma	I
Subependymal giant cell astrocytoma	I	Pineal parenchymal tumour of intermediate differentiation	II or III
Pleomorphic xanthoastrocytoma	II	Pineoblastoma	IV
Anaplastic pleomorphic xanthoastrocytoma	III	Papillary tumour of the pineal region	II or III
Ependymal tumours		Embryonal tumours	
Subependymoma	I	Medulloblastoma (all subtypes)	IV
Myxopapillary ependymoma	I	Embryonal tumour with multilayered rosettes, C19MC-altered	IV
Ependymoma	II	Medulloepithelioma	IV
Ependymoma, <i>RELA</i> fusion–positive	II or III	CNS embryonal tumour, NOS	IV
Anaplastic ependymoma	III	Atypical teratoid/rhabdoid tumour	IV
Other gliomas		CNS embryonal tumour with rhabdoid features	IV
Angiocentric glioma	I		
Chordoid glioma of third ventricle	II	Tumours of the cranial and paraspinal nerves	
Choroid plexus tumours		Schwannoma	I
Choroid plexus papilloma	I	Neurofibroma	I
Atypical choroid plexus papilloma	II	Perineurioma	I
Choroid plexus carcinoma	III	Malignant peripheral nerve sheath tumour (MPNST)	II, III or IV
Neuronal and mixed neuronal–glial tumours		Meningiomas	
Dysembryoplastic neuroepithelial tumour	I	Meningioma	I
Gangliocytoma	I	Atypical meningioma	II
Ganglioglioma	I	Anaplastic (malignant) meningioma	III
Anaplastic ganglioglioma	III		
Dysplastic gangliocytoma of cerebellum (Lhermitte–Duclos)	I	Mesenchymal, non-meningothelial tumours	
		Solitary fibrous tumour / haemangiopericytoma	I, II or III
		Haemangioblastoma	I
		Tumours of the sellar region	
		Craniopharyngioma	I
		Granular cell tumour	I
		Pituicytoma	I
		Spindle cell oncocytoma	I

Annexe 02 : compositions de la solution de Bradford

Composition	Volume
Bleu de coomassie G250	57mg
Méthanol	28.5ml
Acide phosphorique	57ml
dH2O	484.5ml

Centre Hospitalo-universitaire de Bejaia

Laboratoire Central d'Analyse

Unité d'immunologie

Echantillon N° 01 : GBM (surnageant 01)

Examen : EUROLINE Allergie Pédiatrique

Âge : 74ans

Bandelette : 175100

Sexe : ♂

Date : 31/05/2017

Antigène	Concentration	Classe	0	1	2	3	4	5	6
Mélange d'herbes 2	< 0,35 kU/l	0							
Bouleau	< 0,35 kU/l	0							
Armoise commune	< 0,35 kU/l	0							
Dermatophagoides pter.	< 0,35 kU/l	0							
Dermatophagoides farinae	< 0,35 kU/l	0							
Chat	< 0,35 kU/l	0							
Chien	< 0,35 kU/l	0							
Cheval	< 0,35 kU/l	0							
Cladosporium herbarum	< 0,35 kU/l	0							
Aspergillus fumigatus	< 0,35 kU/l	0							
Alternaria alternata	< 0,35 kU/l	0							
Blanc d'oeuf	< 0,35 kU/l	0							
Jaune d'oeuf	< 0,35 kU/l	0							
Lait de vache	< 0,35 kU/l	0							
Morue	< 0,35 kU/l	0							
Alpha-lactalbumine	< 0,35 kU/l	0							
Beta-lactoglobuline	< 0,35 kU/l	0							
Caséine	< 0,35 kU/l	0							
Sérum albumine bovine	< 0,35 kU/l	0							
Farine de blé (Froment)	< 0,35 kU/l	0							
Riz	< 0,35 kU/l	0							
Soja	< 0,35 kU/l	0							
Arachide	< 0,35 kU/l	0							
Noisette	< 0,35 kU/l	0							
Carotte	< 0,35 kU/l	0							
Pomme de terre	< 0,35 kU/l	0							
Pomme	< 0,35 kU/l	0							
Marqueur CCD	< 0,35 kU/l	0							

Centre Hospitalo-universitaire de Bejaia

Laboratoire Central d'Analyse

Unité d'immunologie

Echantillon N° 01 : GBM (surnageant 02)

Examen : EUROLINE Allergie Pédiatrique

Âge : 74ans

Bandelette : 175101

Sexe : ♂

Date : 31/05/2017

Antigène	Concentration	Classe	01	2	3	4	5	6
Mélange d'herbes 2	< 0,35 kU/l	0						
Bouleau	< 0,35 kU/l	0						
Armoise commune	< 0,35 kU/l	0						
Dermatophagoides pter.	< 0,35 kU/l	0						
Dermatophagoides farinae	< 0,35 kU/l	0						
Chat	< 0,35 kU/l	0						
Chien	< 0,35 kU/l	0						
Cheval	< 0,35 kU/l	0						
Cladosporium herbarum	< 0,35 kU/l	0						
Aspergillus fumigatus	< 0,35 kU/l	0						
Alternaria alternata	< 0,35 kU/l	0						
Blanc d'oeuf	< 0,35 kU/l	0						
Jaune d'oeuf	< 0,35 kU/l	0						
Lait de vache	< 0,35 kU/l	0						
Morue	< 0,35 kU/l	0						
Alpha-lactalbumine	< 0,35 kU/l	0						
Beta-lactoglobuline	< 0,35 kU/l	0						
Caséine	< 0,35 kU/l	0						
Sérum albumine bovine	< 0,35 kU/l	0						
Farine de blé (Froment)	< 0,35 kU/l	0						
Riz	< 0,35 kU/l	0						
Soja	< 0,35 kU/l	0						
Arachide	< 0,35 kU/l	0						
Noisette	< 0,35 kU/l	0						
Carotte	< 0,35 kU/l	0						
Pomme de terre	< 0,35 kU/l	0						
Pomme	< 0,35 kU/l	0						
Marqueur CCD	< 0,35 kU/l	0						

Centre Hospitalo-universitaire de Bejaia

Laboratoire Central d'Analyse

Unité d'immunologie

Echantillon N° 01 : GBM (surnageant 03)

Examen : EUROLINE Allergie Pédiatrique

Âge : 74ans

Bandelette : 175102

Sexe : ♂

Date : 31/05/2017

Antigène	Concentration	Classe	0	1	2	3	4	5	6
Mélange d'herbes 2	< 0,35 kU/l	0							
Bouleau	< 0,35 kU/l	0							
Armoise commune	< 0,35 kU/l	0							
Dermatophagoides pter.	< 0,35 kU/l	0							
Dermatophagoides farinae	< 0,35 kU/l	0							
Chat	< 0,35 kU/l	0							
Chien	< 0,35 kU/l	0							
Cheval	< 0,35 kU/l	0							
Cladosporium herbarum	< 0,35 kU/l	0							
Aspergillus fumigatus	< 0,35 kU/l	0							
Alternaria alternata	< 0,35 kU/l	0							
Blanc d'oeuf	< 0,35 kU/l	0							
Jaune d'oeuf	< 0,35 kU/l	0							
Lait de vache	< 0,35 kU/l	0							
Morue	< 0,35 kU/l	0							
Alpha-lactalbumine	< 0,35 kU/l	0							
Beta-lactoglobuline	< 0,35 kU/l	0							
Caséine	< 0,35 kU/l	0							
Sérum albumine bovine	< 0,35 kU/l	0							
Farine de blé (Froment)	< 0,35 kU/l	0							
Riz	< 0,35 kU/l	0							
Soja	< 0,35 kU/l	0							
Arachide	< 0,35 kU/l	0							
Noisette	< 0,35 kU/l	0							
Carotte	< 0,35 kU/l	0							
Pomme de terre	< 0,35 kU/l	0							
Pomme	< 0,35 kU/l	0							
Marqueur CCD	< 0,35 kU/l	0							

Centre Hospitalo-universitaire de Bejaia

Laboratoire Central d'Analyse

Unité d'immunologie

Echantillon N° 01 : GBM (sérum)

Examen : EUROLINE Allergie Pédiatrique

Âge : 74ans

Bandelette : 175103

Sexe : ♂

Date : 31/05/2017

Antigène	Concentration	Classe	0	1	2	3	4	5	6
Mélange d'herbes 2	< 0,35 kUI	0							
Bouleau	< 0,35 kUI	0							
Armoise commune	< 0,35 kUI	0							
Dermatophagoides pter.	< 0,35 kUI	0							
Dermatophagoides farinae	< 0,35 kUI	0							
Chat	< 0,35 kUI	0							
Chien	< 0,35 kUI	0							
Cheval	< 0,35 kUI	0							
Cladosporium herbarum	< 0,35 kUI	0							
Aspergillus fumigatus	< 0,35 kUI	0							
Alternaria alternata	< 0,35 kUI	0							
Blanc d'oeuf	< 0,35 kUI	0							
Jaune d'oeuf	< 0,35 kUI	0							
Lait de vache	< 0,35 kUI	0							
Morue	< 0,35 kUI	0							
Alpha-lactalbumine	< 0,35 kUI	0							
Beta-lactoglobuline	< 0,35 kUI	0							
Caséine	< 0,35 kUI	0							
Sérum albumine bovine	< 0,35 kUI	0							
Farine de blé (Froment)	< 0,35 kUI	0							
Riz	< 0,35 kUI	0							
Soja	< 0,35 kUI	0							
Arachide	< 0,35 kUI	0							
Noisette	< 0,35 kUI	0							
Carotte	< 0,35 kUI	0							
Pomme de terre	< 0,35 kUI	0							
Pomme	< 0,35 kUI	0							
Marqueur CCD	< 0,35 kUI	0							

Centre Hospitalo-universitaire de Bejaia

Laboratoire Central d'Analyse

Unité d'immunologie

Echantillon N° 03: GBM (sérum)

Examen : EUROLINE Allergie Pédiatrique

Âge : 70

Bandelette : 175105

Sexe : ♂

Date : 31/05/2017

Antigène	Concentration	Classe	01	2	3	4	5	6
Mélange d'herbes 2	< 0,35 kUI	0						
Bouleau	< 0,35 kUI	0						
Armoise commune	< 0,35 kUI	0						
Dermatophagoides pter.	< 0,35 kUI	0						
Dermatophagoides farinae	< 0,35 kUI	0						
Chat	< 0,35 kUI	0						
Chien	< 0,35 kUI	0						
Cheval	< 0,35 kUI	0						
Cladosporium herbarum	< 0,35 kUI	0						
Aspergillus fumigatus	< 0,35 kUI	0						
Alternaria alternata	< 0,35 kUI	0						
Blanc d'oeuf	< 0,35 kUI	0						
Jaune d'oeuf	< 0,35 kUI	0						
Lait de vache	< 0,35 kUI	0						
Morue	< 0,35 kUI	0						
Alpha-lactalbumine	< 0,35 kUI	0						
Beta-lactoglobuline	< 0,35 kUI	0						
Caséine	< 0,35 kUI	0						
Sérum albumine bovine	< 0,35 kUI	0						
Farine de blé (Froment)	< 0,35 kUI	0						
Riz	< 0,35 kUI	0						
Soja	< 0,35 kUI	0						
Arachide	< 0,35 kUI	0						
Noisette	< 0,35 kUI	0						
Carotte	< 0,35 kUI	0						
Pomme de terre	< 0,35 kUI	0						
Pomme	< 0,35 kUI	0						
Marqueur CCD	< 0,35 kUI	0						

Centre Hospitalo-universitaire de Bejaia

Laboratoire Central d'Analyse

Unité d'immunologie

Echantillon N° 12 : HIC (LCR)

Examen : EUROLINE Allergie Pédiatrique

Âge : 47 ans

Bandelette : 175106

Sexe : ♀

Date : 31/05/2017

Antigène	Concentration	Classe	0	1	2	3	4	5	6
Mélange d'herbes 2	< 0,35 kU/l	0							
Bouleau	< 0,35 kU/l	0							
Armoise commune	< 0,35 kU/l	0							
Dermatophagoides pter.	< 0,35 kU/l	0							
Dermatophagoides farinae	< 0,35 kU/l	0							
Chat	< 0,35 kU/l	0							
Chien	< 0,35 kU/l	0							
Cheval	< 0,35 kU/l	0							
Cladosporium herbarum	< 0,35 kU/l	0							
Aspergillus fumigatus	< 0,35 kU/l	0							
Alternaria alternata	< 0,35 kU/l	0							
Blanc d'oeuf	< 0,35 kU/l	0							
Jaune d'oeuf	< 0,35 kU/l	0							
Lait de vache	< 0,35 kU/l	0							
Morue	< 0,35 kU/l	0							
Alpha-lactalbumine	< 0,35 kU/l	0							
Beta-lactoglobuline	< 0,35 kU/l	0							
Caséine	< 0,35 kU/l	0							
Sérum albumine bovine	< 0,35 kU/l	0							
Farine de blé (Froment)	< 0,35 kU/l	0							
Riz	< 0,35 kU/l	0							
Soja	< 0,35 kU/l	0							
Arachide	< 0,35 kU/l	0							
Noisette	< 0,35 kU/l	0							
Carotte	< 0,35 kU/l	0							
Pomme de terre	< 0,35 kU/l	0							
Pomme	< 0,35 kU/l	0							
Marqueur CCD	< 0,35 kU/l	0							

Annexe : 09



Centre Hospitalo-universitaire de Bejaia

Laboratoire Central d'Analyse

Unité d'immunologie

Echantillon N° 11 : HDC (LCR)

Examen : EUROLINE Allergie Pédiatrique

Âge : 8 mois

Bandelette : 175107

Sexe : ♂

Date : 31/05/2017

Antigène	Concentration	Classe	0	1	2	3	4	5	6
Mélange d'herbes 2	< 0,35 kU/l	0							
Bouleau	< 0,35 kU/l	0							
Armoise commune	< 0,35 kU/l	0							
Dermatophagoides pter.	< 0,35 kU/l	0							
Dermatophagoides farinae	< 0,35 kU/l	0							
Chat	< 0,35 kU/l	0							
Chien	< 0,35 kU/l	0							
Cheval	< 0,35 kU/l	0							
Cladosporium herbarum	< 0,35 kU/l	0							
Aspergillus fumigatus	< 0,35 kU/l	0							
Alternaria alternata	< 0,35 kU/l	0							
Blanc d'oeuf	< 0,35 kU/l	0							
Jaune d'oeuf	< 0,35 kU/l	0							
Lait de vache	< 0,35 kU/l	0							
Morue	< 0,35 kU/l	0							
Alpha-lactalbumine	< 0,35 kU/l	0							
Beta-lactoglobuline	< 0,35 kU/l	0							
Caséine	< 0,35 kU/l	0							
Sérum albumine bovine	< 0,35 kU/l	0							
Farine de blé (Froment)	< 0,35 kU/l	0							
Riz	< 0,35 kU/l	0							
Soja	< 0,35 kU/l	0							
Arachide	< 0,35 kU/l	0							
Noisette	< 0,35 kU/l	0							
Carotte	< 0,35 kU/l	0							
Pomme de terre	< 0,35 kU/l	0							
Pomme	< 0,35 kU/l	0							
Marqueur CCD	< 0,35 kU/l	0							

Annexe : 10



Centre Hospitalo-universitaire de Bejaia

Laboratoire Central d'Analyse

Unité d'immunologie

Echantillon N°10 : tumeur d'orbite (LCR)

Examen : EUROLINE Allergie Pédiatrique

Âge : 50 ans

Bandelette : 175108

Sexe : ♀

Date : 31/05/2017

Antigène	Concentration	Classe	01	2	3	4	5	6
Mélange d'herbes 2	< 0,35 kU/l	0						
Bouleau	< 0,35 kU/l	0						
Armoise commune	< 0,35 kU/l	0						
Dermatophagoides pter.	< 0,35 kU/l	0						
Dermatophagoides farinae	< 0,35 kU/l	0						
Chat	< 0,35 kU/l	0						
Chien	< 0,35 kU/l	0						
Cheval	< 0,35 kU/l	0						
Cladosporium herbarum	< 0,35 kU/l	0						
Aspergillus fumigatus	< 0,35 kU/l	0						
Alternaria alternata	< 0,35 kU/l	0						
Blanc d'oeuf	< 0,35 kU/l	0						
Jaune d'oeuf	< 0,35 kU/l	0						
Lait de vache	< 0,35 kU/l	0						
Morue	< 0,35 kU/l	0						
Alpha-lactalbumine	< 0,35 kU/l	0						
Beta-lactoglobuline	< 0,35 kU/l	0						
Caséine	< 0,35 kU/l	0						
Sérum albumine bovine	< 0,35 kU/l	0						
Farine de blé (Froment)	< 0,35 kU/l	0						
Riz	< 0,35 kU/l	0						
Soja	< 0,35 kU/l	0						
Arachide	< 0,35 kU/l	0						
Noisette	< 0,35 kU/l	0						
Carotte	< 0,35 kU/l	0						
Pomme de terre	< 0,35 kU/l	0						
Pomme	< 0,35 kU/l	0						
Marqueur CCD	< 0,35 kU/l	0						

Annexe 11



EL AZIZA Laboratoire de biologie Médicale - Constantine

19 Cité Benkhebbab 2500 Constantine - Tél 031.62.05.92 - Fax 031.62.29.83

Dr B.Z MEHARZI Spécialiste en biologie médicale
Diplômé de l'université UCL BELGIQUE - Ancien assistant de clinique SAINT-LUC

Sexe: ♂ **GBM 01: Sérum**
Âge: 74 ans

Dr PRELEVEMENT HORS LABO
Date de prélèvement : 13/06/2017
Edité le : 13/06/2017

Demande N° : 170613E1N **5642**



Résultats Valeurs de références Antériorités

VIROLOGIE

CMV (CytomégaloVirus), sérologie IgG <small>(cobas e411)</small>	145.20 Positif U/mL	0.0 - 1.0
CMV (CytomégaloVirus), sérologie IgM <small>(cobas e411)</small>	0.23 Négatif	0.0 - 1.0

Annexe 12



EL AZIZA Laboratoire de biologie Médicale - Constantine

19 Cité Benkhebbab 2500 Constantine - Tél 031.62.05.92 - Fax 031.62.29.83

Dr B.Z MEHARZI Spécialiste en biologie médicale
Diplômé de l'université UCL BELGIQUE - Ancien assistant de clinique SAINT-LUC

Sexe : ♂ **GBM 01: Surnageant 01**
Âge : 74 ans

Dr PRELEVEMENT HORS LABO
Date de prélèvement : 13/06/2017
Edité le : 13/06/2017

Demande N° : 170613E1N **5658**

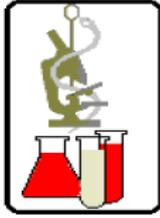


Résultats Valeurs de références Antériorités

VIROLOGIE

CMV (CytomégaloVirus), sérologie IgG <small>(cobas e411)</small>	1.78 Postif U/mL	0.0 - 1.0
CMV (CytomégaloVirus), sérologie IgM <small>(cobas e411)</small>	0.23 Négatif	0.0 - 1.0

Annexe 13



EL AZIZA Laboratoire de biologie Médicale - Constantine

19 Cité Benkhebbab 2500 Constantine - Tél 031.62.05.92 - Fax 031.62.29.83

Dr B.Z MEHARZI Spécialiste en biologie médicale
Diplômé de l'université UCL BELGIQUE - Ancien assistant de clinique SAINT-LUC

Sexe : ♂ **GBM 02 : LCR**

Âge : 24 ans

Demande N° : 170613E1N **5682**



Dr PRELEVEMENT HORS LABO
Date de prélèvement : 13/06/2017
Edité le : 13/06/2017

Résultats Valeurs de références Antériorités

VIROLOGIE

CMV (Cytomégalovirus), sérologie IgG <small>(cobas e411)</small>	< 0.15 Négatif U/mL	0.0 - 1.0
CMV (Cytomégalovirus), sérologie IgM <small>(cobas e411)</small>	0.33 Négatif	0.0 - 1.0

Annexe 14



EL AZIZA Laboratoire de biologie Médicale - Constantine

19 Cité Benkhebbab 2500 Constantine - Tél 031.62.05.92 - Fax 031.62.29.83

Dr B.Z MEHARZI Spécialiste en biologie médicale
Diplômé de l'université UCL BELGIQUE - Ancien assistant de clinique SAINT-LUC

Sexe : ♂ **Méningiome : Surnageant 01**

Âge : 63 ans

Demande N° : 170613E1N **5671**



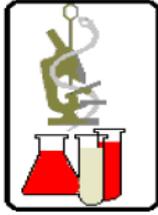
Dr PRELEVEMENT HORS LABO
Date de prélèvement : 13/06/2017
Edité le : 13/06/2017

Résultats Valeurs de références Antériorités

VIROLOGIE

CMV (Cytomégalovirus), sérologie IgG <small>(cobas e411)</small>	1.68 Positif U/mL	0.0 - 1.0
CMV (Cytomégalovirus), sérologie IgM <small>(cobas e411)</small>	0.22 Négatif	0.0 - 1.0

Annexe : 15



EL AZIZA Laboratoire de biologie Médicale - Constantine

19 Cité Benkhebbab 2500 Constantine - Tél 031.62.05.92 - Fax 031.62.29.83

Dr B.Z MEHARZI Spécialiste en biologie médicale
Diplômé de l'université UCL BELGIQUE - Ancien assistant de clinique SAINT-LUC

Sexe : ♀ **HITC : LCR**

Âge : 47 ans

Dr PRELEVEMENT HORS LABO

Date de prélèvement : 13/06/2017

Edité le : 13/06/2017

Demande N° : 170613E1N **5681**



Résultats

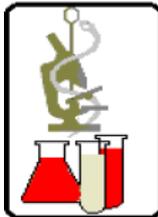
Valeurs de références

Antériorités

VIROLOGIE

CMV (Cytomégalovirus), sérologie IgG <small>(cobas e411)</small>	5.49 Positif U/mL	0.0 - 1.0
CMV (Cytomégalovirus), sérologie IgM <small>(cobas e411)</small>	0.22 Négatif	0.0 - 1.0

Annexe : 16



EL AZIZA Laboratoire de biologie Médicale - Constantine

19 Cité Benkhebbab 2500 Constantine - Tél 031.62.05.92 - Fax 031.62.29.83

Dr B.Z MEHARZI Spécialiste en biologie médicale
Diplômé de l'université UCL BELGIQUE - Ancien assistant de clinique SAINT-LUC

Sexe : ♀ **Tumeur d'orbite : LCR**

Âge : 50ans

Dr PRELEVEMENT HORS LABO

Date de prélèvement : 13/06/2017

Edité le : 13/06/2017

Demande N° : 170613E1N **5670**



Résultats

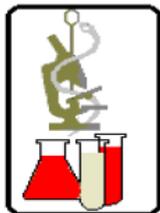
Valeurs de références

Antériorités

VIROLOGIE

CMV (Cytomégalovirus), sérologie IgG <small>(cobas e411)</small>	7.60 Positif U/mL	0.0 - 1.0
CMV (Cytomégalovirus), sérologie IgM <small>(cobas e411)</small>	0.31 Négatif	0.0 - 1.0

Annexe 17



EL AZIZA Laboratoire de biologie Médicale - Constantine

19 Cité Benkhebbab 2500 Constantine - Tél 031.62.05.92 - Fax 031.62.29.83

Dr B.Z MEHARZI Spécialiste en biologie médicale
Diplômé de l'université UCL BELGIQUE - Ancien assistant de clinique SAINT-LUC

Sexe : ♀ **HDC: LCR**

Âge : 50 ans

Demande N° : 170613E1N **5684**



Dr PRELEVEMENT HORS LABO

Date de prélèvement : 13/06/2017

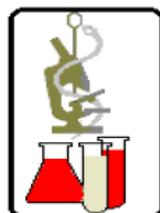
Edité le : 13/06/2017

Résultats Valeurs de références Antériorités

VIROLOGIE

CMV (Cytomégalovirus), sérologie IgG <small>(cobas e411)</small>	1.79 Positif U/mL	0.0 - 1.0
CMV (Cytomégalovirus), sérologie IgM <small>(cobas e411)</small>	0.22 Négatif	0.0 - 1.0

Annexe : 18



EL AZIZA Laboratoire de biologie Médicale - Constantine

19 Cité Benkhebbab 2500 Constantine - Tél 031.62.05.92 - Fax 031.62.29.83

Dr B.Z MEHARZI Spécialiste en biologie médicale
Diplômé de l'université UCL BELGIQUE - Ancien assistant de clinique SAINT-LUC

Sexe : ♂ **HDC: LCR**

Âge : 8 mois

Demande N° : 170613E1N **5681**



Dr PRELEVEMENT HORS LABO

Date de prélèvement : 13/06/2017

Edité le : 13/06/2017

Résultats Valeurs de références Antériorités

VIROLOGIE

CMV (Cytomégalovirus), sérologie IgG <small>(cobas e411)</small>	5.49 Positif U/mL	0.0 - 1.0
CMV (Cytomégalovirus), sérologie IgM <small>(cobas e411)</small>	0.22 Négatif	0.0 - 1.0

Résumé :

Les incidences et âge d'apparition des tumeurs cérébrales sont plus importantes et précoces dans les pays en développement par rapport aux pays développés. Ceci semble dû à des facteurs exogènes dont les infections virales. En effet, une corrélation épidémiologique est retrouvée entre la positivité HCMV et la présence de gliomes. Cette association semble être liée à un dérèglement au niveau du système immunitaire où on observe un effet potentiellement protecteur des IgE contre le développement de pathologies cérébrales. Ainsi nous proposons l'étude d'une relation potentielle entre l'infection au HCMV, les IgE et l'apparition des tumeurs cérébrales. Pour cela des méthodes quantitatives et qualitatives sont réalisées pour l'étude de la présence du HCMV et IgE sur un ensemble de d'échantillons humains d'âge et sexe différents atteints des tumeurs cérébrales ainsi des échantillons contrôles. Les résultats obtenus dans ce travail, montre qu'un glioblastome de 74 ans, avec des taux importants pour le HCMV (1.78 U/ml pour son surnageant, 145 pour son sérum) ce même sujet avait une négativité pour les IgE, par contre un autre glioblastome âgé de 24ans avait une négativité pour le HCMV (<0.15U/ml) et une positivité assez faible pour les IgE.(0.36KUI/ml). Ces différents résultats obtenus ont montrés l'existence d'une relation bidirectionnel entre les IgE et le HCMV dans le cadre des tumeurs cérébrales, où l'effet protecteur des IgE semblent être seuil dépendant. Mais aussi, on observe que le détournement d'effets protecteur des IgE dans le cas active du HCMV favoriserait une augmentation de la progression tumorale.

Mots clés : Tumeurs cérébrales, système immunitaire, Immunoglobulines E (IgE), HCMV.

Abstract

Incidence and onset age of brain tumors are greater and early in developing countries than in developed countries. This seems to be due to exogenous factors including viral infections. Indeed, an epidemiological correlation is found between the HCMV positivity and the presence of gliomas. This association appears to be related to a disorder in the immune system where a potentially protective effect of IgE is observed against the development of brain pathologies. We suggest the study of a potential relationship between HCMV infection, IgE and the occurrence of brain tumors. For this purpose quantitative and qualitative methods were realized to study the presence of HCMV and IgE on a set of human samples of different age and sex with cerebral tumors and control samples. The results obtained in this work show that a 74-year-old glioblastoma, with high levels for HCMV (1.78 U / ml for its supernatant, 145 for its serum), had a negativity for IgE. Other 24-year-old glioblastoma had negativity for HCMV (<0.15U / ml) and a fairly low positivity for IgE (0.36KUI / ml). These results have shown the existence of a bidirectional relationship between IgE and HCMV in the context of brain tumors, where the protective effect of IgE seems to be threshold dependent. It is also observed that the diversion of protective effects of IgE in the active case of HCMV would favor an increase in tumor progression.

Keywords: Brain tumors, immune system, Immunoglobulin E (IgE), HCMV