

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
Spécialité : Biochimie Fondamentale



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Analyse moléculaire du LCR de patients
atteints de tumeurs cérébrales**

Présenté par :

BRAHMI Hanane et BOUCHETA Hynd

Soutenu le : 25/06/2023

Devant le jury composé de :

Mme Ait Ali D.	MCB	Encadrante
Mme Debbache-Benaida N.	MCA	Présidente
Mme Bournine-Bensalem S.	MCA	Examinatrice

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

Avant tous nous remercions Dieu le tous puissant de nous avoir donnée la force et le courage de réalisé ce travail.

*Ce mémoire n'aurait sans doute jamais abouti si on n'avait pas la chance d'être encadrer par **DR AIT ALI**. Un grand merci à elle, pour sa disponibilité, pour ses conseils et encouragements, pour ses orientations et sa patience, elle a toujours été compréhensive avec nous.*

*On remercie **DR Ghidouche** pour son aide, ces conseils et pour sa disponibilité.*

On adresse également notre profonde gratitude à l'ensemble des membres du jury qui nous ont fait l'honneur de juger ce travail.

*On tient également à remercier **MEHELEB Dalila** pour son aide et ces conseils précieux, pour sa disponibilité et sa gentillesse.*

*On remercie également **DR.DJOULANE** de service de neurochirurgie du CHU de Bejaia, de nous offrir les échantillons nécessaires pour la réalisation de cette étude.*

On tient à remercier tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réussite de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents

A mon cher père, que dieu t'accueille dans son vaste paradis, je te remercie énormément pour le soutien morale m'a marquée l'esprit, et qui m'a encouragée à aller de l'avant. Je te remercie d'avoir fait de moi une fille forte et m'a conseillée toujours pour mes études. Je ne pourrais jamais te remercié assez pour tous tes sacrifices que t'a fait pour moi.

A ma chère mère, que dieu te garde pour moi parce que c'est que toi qui me reste dans cette vie. Je te remercie énormément pour le soutien morale m'a marquée l'esprit, et qui m'a encouragée à aller de l'avant. Je ne pourrais jamais te remerciée assez pour tous tes sacrifices que t'a fait pour moi.

*A mes sœurs, **Naïma, Houria, Lynda et Saïda** merci pour leur tendresse, complicité Et leur présence.*

*A mes frères, **Rabah, Mouloud, Rachid et Hakim**, qui sont toujours là pour moi, Merci à vous pour tout ce que vous faites pour moi durant ma vie,*

*Je dédie ce travail à mes nièces adorées **Milina, Thiziri et Zineb**, qui sont là que pour me remettre le sourire au visage. Elles représentent pour moi, la raison de mon bien être.*

*A toute ma famille maternelle et paternelle ; grand mères et grand pères, tantes et oncles, cousins et cousines sans oublié personne. Ce travail n'aurait sans doute pas achevé sans ma meilleure amie, mon binôme **BOUCHETA Hynd**.*

A tous mes amis et toute la promotion Biochimie Fondamentale 2023.

*A mon Encadreur **Dr AIT ALI E**, sans qui je n'aurais sans doute pas réalisé ce thème.*

Hanane

Dédicaces

Du profond de mon cœur je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers :

À mon Père qui a été toujours à mes côtés, il m'a soutenu tout au long de ces longues années d'étude, ces efforts consentis pour moi et sa confiance qu'il m'a accordée. Je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester votre fierté et jamais vous décevoir.

À ma Mère qui m'a encouragée durant toutes mes études et qui sans elle ma réussite n'aura pas eu lieu, ce travail est le fruit de tes innombrables sacrifices.

*À ma sœur **Chaïma** qui n'a pas cessé de me conseiller, encouragée et soutenir tout ou long de mes études, je te souhaite tous le bonheur du monde.*

*À mes chères grandes mère **Fatima** et **Houria** qui m'ont souhaitées bonne chance dans mes études par leur prière.*

*À la mémoire de mes grand-père **Zahir** et **Idir**, que dieu le miséricordieux vous accueille dans son éternelles paradis.*

*À **Dr. Khaled Djoulane** qui nous a aidées à avoir les échantillons.*

*À mes tantes en particuliers **Hassiba**, **Karima** et **Hadjira**.*

*À ma tante **Souraya** et Son Marie **Rachid**.*

*À **Saïda** pour son soutien et encouragement.*

*À **Sonia** pour ces valeureux conseilles, soutien et encouragement.*

*À mes oncles **Hassane**, **Riad**, **Ab El Malek**, **Samir**, **Nabil** et **Athmane**.*

*À ma cousines **Sarah** à qui je souhaite tous le bonheur du monde.*

*À ma binôme **Hanane** avec qui j'ai partagé des moments de stresses, fatigues et de joie.*

*À toutes la Famille **Boucheta** et **Ben Salah**.*

Hynd

Table de matières :

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre I : Revue Bibliographique

I-1-Généralités sur le système nerveux 2

1-1-Le système nerveux central 2

1-2-Le système nerveux périphérique 5

1-3-Les méninges crâniennes : structure, localisation et fonction 5

I-2-Le microbiote intestinal..... 6

2-1-Définition du microbiote intestinal..... 6

2-2-Axe intestin-cerveau 6

2-3-Implication du microbiote et la voie de la kynurénine dans l'apparition de tumeurs
cérébrales 7

I-3-Le liquide céphalorachidien 9

3-1-Définition du liquide céphalorachidien 9

3-2-Mécanisme de formation et de sécrétion du liquide céphalorachidien..... 9

3-3-Régulation de la production du liquide céphalorachidien 10

3-4-Rôle de liquide céphalorachidien.....10

I-4-Les tumeurs cérébrales 10

4-1-Définition des tumeurs cérébrales 10

4-2-Classification des tumeurs cérébrales..... 11

4-3-Différences entre tumeurs cérébrales adultes et enfant 12

4-4-Altérations génétiques des tumeurs cérébrales 13

4-5-Les métastases cérébrales 14

Table de matières :

Chapitre II : Matériels et Méthodes

I-Matériels	15
I-1Échantillons biologiques.....	15
I-2 Matériels utilisés.....	15
II-Méthodes.....	16
II-1 Collecte des échantillons.....	16
II-2 Extraction d'ADN	16

Chapitre III : Résultats et discussion

III-1-Intérprétations des résultats d'absorbance	17
III-2-Interprétations des pics d'absorbance	19
Conclusion et Perspectives.....	24

Références Bibliographiques

Annexes

Glossaire

Liste des abréviations :

ADH :	Hormone antidiurétique ou vasopressine.
Akt :	Protéine kinase B.
AMPc :	Adénosine monophosphate cyclique.
EGF :	Epidermal growth facteur (Facteur de croissance épidermique).
EGFR :	Epidermal growth facteur receptor (Récepteur de facteur de croissance épidermique).
FCP :	Fosse cérébrale postérieure.
IDH :	Isocitrate déshydrogénase
LCR :	Liquide céphalorachidien.
LCS :	Liquide cérébrospinal
MGMT :	Methyl guanine methyl transferase
mTOR :	Mammalian target of rapamycin (Cible mammifère de la rapamycine).
NADPH :	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit.
OMS :	Organisation mondiale de la santé.
PEIC :	Processus Expansif Intracrânien.
PL :	Ponction lombaire.
PTEN :	Phosphatase and TENsin homolog (Homologue de la phosphatase et de la TENsine).
SNC :	Système nerveux central.
SNP :	Système nerveux périphérique.

Liste des figures :

Figure 1 : Coupe sagittale du cerveau	2
Figure 2 : La moelle épinière.....	2
Figure 3 : Les neurones.....	3
Figure 4 : Les types de gliocytes.....	4
Figure 5 : Les méninges crâniennes	6
Figure 6 : La voie de kynurénine	8
Figure 7 : Diagramme en secteur des pourcentages des tumeurs cérébrales les plus fréquents.....	12
Figure 8 : Photographies prises lors de l'extraction d'ADN.....	17

Liste des tableaux :

Tableau I : Les différents types de gliocytes.....	4
Tableau II : Compositions comparées du plasma et du LCR.....	10
Tableau III : Classification des tumeurs cérébrales selon l’OMS en 2007.....	11
Tableau IV : Détails des échantillons de patients selon le type de tumeurs et leurs caractéristiques	15
Tableau V : Matériels utilisés dans les différentes méthodes	16

Introduction

L'organisme subit en permanence des agressions provenant du milieu extérieur (polluants, pesticides, additifs alimentaires et substances médicamenteuses).

Pour se défendre, il a mis en place toute une batterie enzymatique, localisée principalement au niveau du foie, permettant de neutraliser et d'éliminer toutes ces substances. Toutefois, on sait maintenant que ces enzymes sont également présents au niveau cérébral et participent à la protection du cerveau, organe complexe et fragile. Tous les systèmes de défense et de protection du cerveau sont essentiels afin de préserver nos facultés intellectuelles et le contrôle des fonctions vitales de notre organisme. [1]

Le cerveau contrôle la plupart des fonctions de l'organisme. Des tumeurs peuvent s'y développer à tout moment de la vie. [2].

Les tumeurs cérébrales sont des tumeurs qui se développent dans n'importe quelle région du cerveau (tronc cérébral, hémisphères, cervelet, hypophyse...). Elles se différencient en fonction de leur localisations ; de leur grades (témoignant de l'agressivité de la tumeur) ; et enfin de leur types définies par les cellules initiatrices (cellules gliales, méninges...). Les hommes sont plus fréquemment atteints que les femmes. [3]

Ces pathologies occupent la 17^{ème} place en termes d'incidence et la 12^{ème} place en termes de mortalité.

Une étude épidémiologique réalisée au niveau de CHU de Bejaia a relevé des statistiques plus importantes par rapport à la moyenne mondiale concernant le taux d'incidence de ces pathologies qui est de 11/100 000. [4].

Le dérèglement du microbiote intestinal peut être la cause d'apparition d'une infection bactérienne dans le cerveau. Cette dernière peut être la cause d'apparition d'une tumeur cérébrale.

Dans le cadre de notre étude, l'approche choisie est l'analyse moléculaire du liquide céphalorachidien, dans le but de la recherche d'ADN bactérien dans ce liquide d'origine tumoral et comment le microbiote intestinal peut influencer sur l'apparition de tumeurs cérébrales.

Chapitre I : Revue

Bibliographique

I-Généralités sur le système nerveux :

Sur le plan anatomique, le cerveau est subdivisé en deux parties le diencephale et télencéphale. Le premier est situé au centre est composé de thalamus, l'hypothalamus et l'épithalamus et le second est constitué de deux hémisphères gauche et droit séparées par une scissure et chacune forme quatre lobes ayant des fonctions distinctes. (Figure 1) [5]

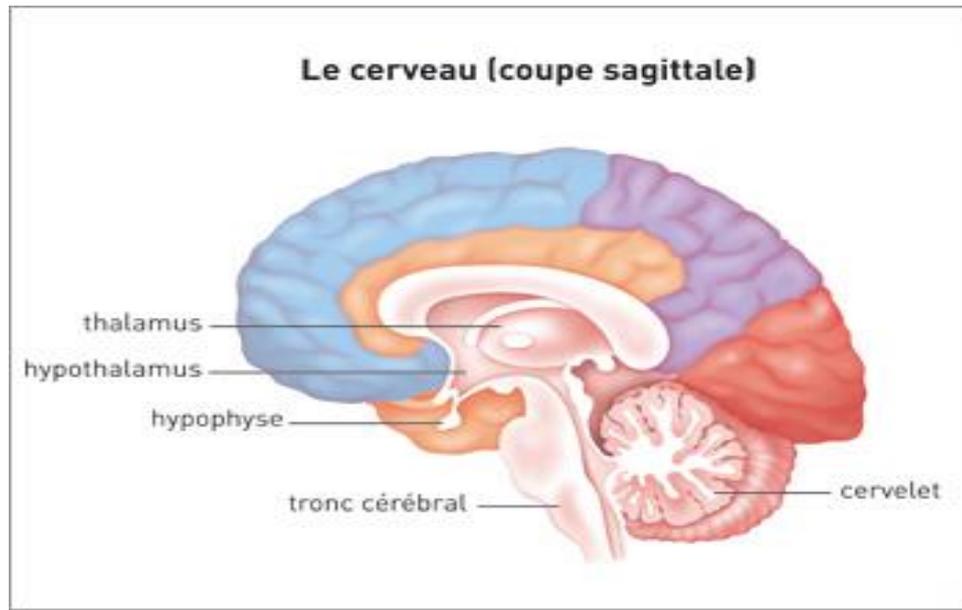


Figure 1 : Coupe sagittale du cerveau. (INca ,2010)

1-1-Le système nerveux central :

Le système nerveux central est formé par :

La moelle épinière : contenue dans le canal vertébral la substance grise y est centrale, la substance blanche est périphérique. (Figure2)

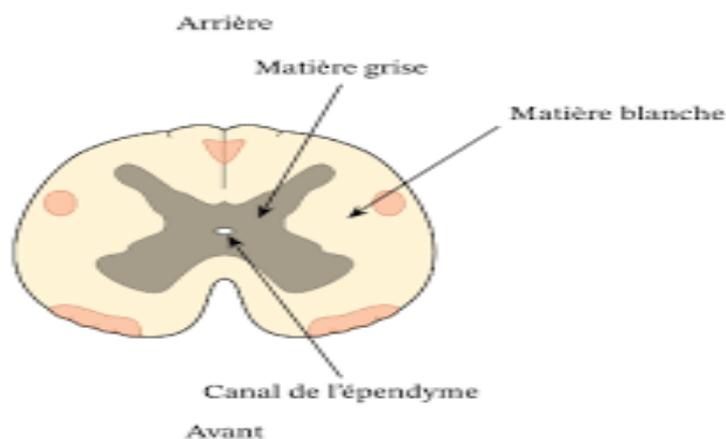


Figure 2 : La moelle épinière. (nagwa.com)

L'encéphale :(contenu dans la boîte crânienne) la substance grise est périphérique (cortex) et profonde (noyaux gris centraux), la substance blanche est centrale.

L'encéphale est lui-même subdivisé en :

-Tronc cérébral : est la partie du SNC située entre la moelle épinière et le diencéphale.

-Cervelet : Situé dans la fosse crânienne postérieure, le cervelet (ou cérébellum) est en arrière de la moelle allongée et du pont, dont il est séparé par le quatrième ventricule. Le cervelet est relié au tronc cérébral par les pédoncules cérébelleux.

-Diencéphale : est la portion de l'encéphale unissant le mésencéphale du tronc cérébral aux hémisphères cérébraux, encore dénommé cerveau intermédiaire. [6]

-le cerveau : se compose de deux grandes coupes, les hémisphères cérébraux, séparés presque entièrement par une rainure profonde, la scissure inter-hémisphérique. Il est recouvert d'une couche de substance grise, comprenant essentiellement des neurones, qui constituent le cortex cérébral. La substance blanche se situe sous le cortex. [7]

Sur le plan cytologique, le cerveau est constitué de :

1-Neurones : ce sont des cellules excitables qui représentent 10% du total de cellules, elles permettent la gestion des informations en les analysants et en les traitants par la transmission du signal nerveux. Elles sont constituées de dendrites, d'un corps cellulaire et d'un axone. (Figure 3) [8]

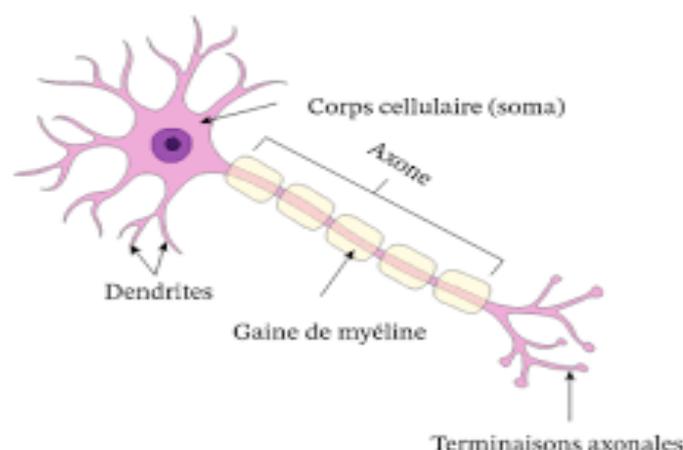


Figure 3 : Les neurones. (nagwa.com)

2-Gliocytes : elles sont plus petites mais plus nombreuses que les neurones (90% du total), elles jouent un rôle primordial en assurant plusieurs fonctions telles que la nutrition, le soutien et la protection des neurones. **(Figure 4) [9]**

Ou en distingue plusieurs types résumés au niveau du **Tableau I [10]**

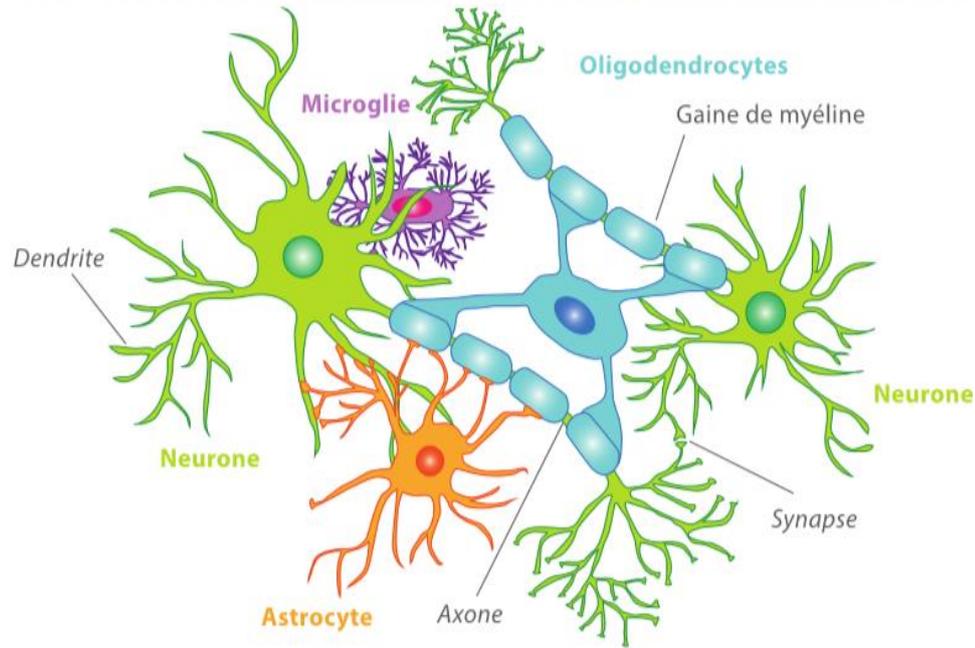


Figure 4 : Types de gliocytes. **(Ivoirsvt, 2020)**

Tableau I : Les différents types de gliocytes

Types de cellules gliales	Caractéristiques
Les astrocytes	<ul style="list-style-type: none"> -Sont les cellules majoritaires du cerveau (environ 40% des cellules) -Ce sont de grandes cellules, tirant leur nom de leur forme étoilée -Elles jouent un rôle dans la transmission des influx nerveux -Jouent un rôle de protection des neurones, assurent la croissance des neurites et contrôlent la différenciation des oligodendrocytes en sécrétant des facteurs de croissance

<p>Les oligodendrocytes et les cellules de Schwann</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Constituent 20% des cellules cérébrales -Ont un rôle similaire à la microglie -Elles sont responsables de la myélinisation des axones dans le SNC (oligodendrocytes) et dans les nerfs périphériques (cellules de Schwann)
<p>Les cellules épendymaires ou épendymocytes</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Elles tapissent les ventricules cérébraux et le canal central de la moelle épinière -Contrôlent le passage de substances du LCR dans le tissu nerveux -Elles jouent un rôle considérable dans le contrôle du sens de la migration de certaines cellules pendant le développement cérébral
<p>La microglie</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Petites cellules allongées -Représentent 10 à 15% des cellules cérébrales -Participent à la défense du tissu cérébral (Phagocytose)

1-2-Le système nerveux périphérique :

Le SNP est constitué par les nerfs (spinaux et crâniens), les plexus et les ganglions qui relient le SNC aux effecteurs et récepteurs de l'organisme. Le SNP est subdivisée en deux catégories :

-Système nerveux périphérique somatique : assure l'innervation motrice, sensitive et sensorielle de l'ensemble de l'organisme.

-Le système nerveux périphérique autonome : est responsable des fonctions vitales (rythme cardiaque, sécrétions...). [11]

1-3-Les méninges crâniennes : structure, localisation et fonction :

Une méninge est une membrane placée entre le SNC et les os protecteurs. Les méninges sont au nombre de trois de la plus externe à la plus interne :

- **La dure-mère** : membrane protectrice, fibreuse, épaisse et résistante, son adhérence à la paroi osseuse est variable selon les régions ;

- **L'arachnoïde** : conjonctive et avasculaire appliquée sur la dure-mère, rôle dans la résorption du liquide cérébro- spinal.

- **La pie-mère** : conjonctive, vasculaire et recouvre la surface externe du névraxe, c'est une barrière vasculaire du cerveau, elle produit du LCS par les plexus choroïdes. **(Figure 5) [12]**

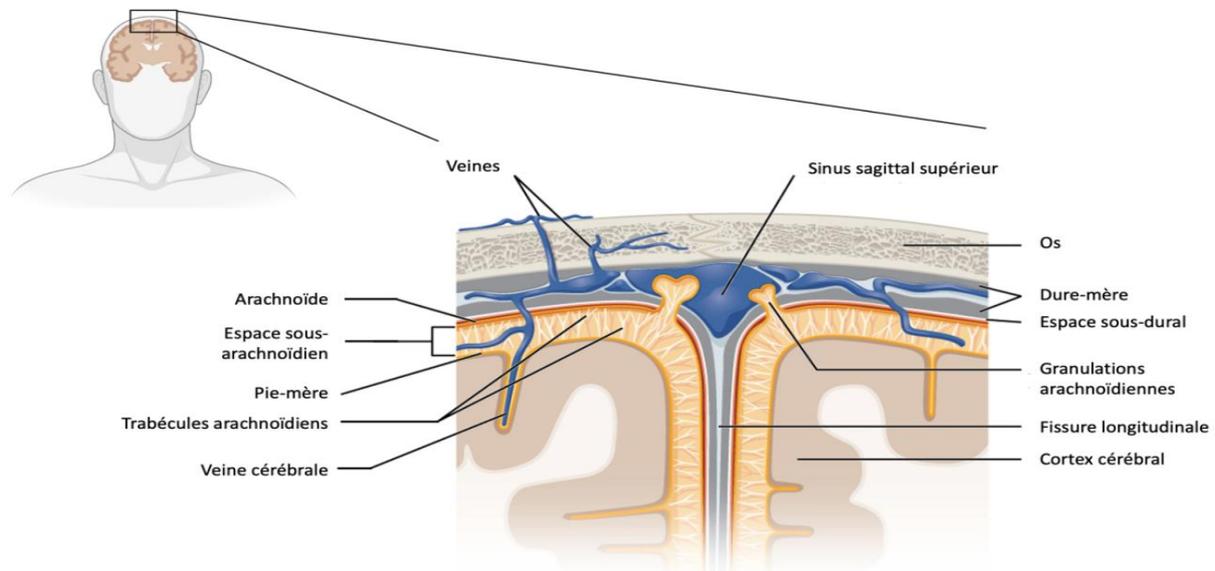


Figure 5 : Les méninges crâniennes (Open-stax, 2012)

I-2-Le microbiote :

2-1-Définition du microbiote intestinal :

Longtemps appelé flore intestinale, on donne aujourd'hui à l'ensemble des micro-organismes qui peuplent l'intestin le nom de microbiote intestinal. Il est composé d'un ensemble de bactéries, virus, champignons, parasites, non pathogènes en concentration physiologique, qui vivent en homéostasie avec leur hôte. Le microbiote est présent partout dans le corps humain, au niveau de la bouche, de la peau, des poumons, des organes génitaux, etc. Cependant, le microbiote intestinal est le plus important en termes de quantité. Il représente près de 2kg de micro-organismes soit près de 10 fois la quantité de cellules qui constitue notre organisme. [13]

2-2-Axe intestin-cerveau :

Plusieurs systèmes sont fonctionnels pour assurer l'efficacité de l'axe intestin-cerveau, y compris le système nerveux central, autonome et entérique, le système endocrinien et le système immunitaire. Les voies endocrines sont toutes impliquées dans la communication avec les microbiotes intestinaux par des nerfs efférents et afférents. En conséquence, le SNC régule les fonctions sécrétoires et sensorielles ainsi que la mobilité de tractus gastro-intestinal.

Le microbiote affecte la fonction neuronale à travers les vitamines, neurotransmetteurs et les métabolites microbiens neuroactifs comme les acides gras à courte chaîne. Ces métabolites microbiens affectent la fonction cérébrale et divers mécanismes de rétroaction vont entraver l'accès direct au cerveau.

De nombreuses données expérimentales suggèrent que le microbiote peut envoyer des signaux vers le cerveau par activation des neurones sensoriels afférents du nerf vague via les voies neuroimmunes et neuroendocriniennes. [14]

Les micro-organismes du microbiote intestinal ont également un rôle important dans l'immunité de l'hôte. Tout d'abord, ils contribuent au développement et à la maturation du système immunitaire. [15]

Par ailleurs, le microbiote participe à l'inflammation dite physiologique de l'intestin, qui se traduit par la présence continue de cellules inflammatoires dans la paroi intestinale et la production de cytokines. Le microbiote régule le niveau de cette inflammation physiologique : par exemple, un traitement antibiotique entraîne une augmentation du niveau inflammatoire [16]; de plus, il a été démontré que les bactéries commensales modulaient le signal NF- κ B, molécule fondamentale de l'inflammation. [17]

2-3-Implication du microbiote et la voie de la kynurénine dans l'apparition des tumeurs cérébrales :

Il est bien connu que certains micro-organismes ont des propriétés oncogènes ou une activité oncolytique sur les cellules tumorales.

Cependant, son association possible avec le cancer du cerveau est un nouveau sujet pour comprendre les mécanismes d'implication de l'axe microbiote intestinal-cerveau dans le développement ou la suppression d'une tumeur au cerveau pourrait établir une nouvelle perspective pour la génération de nouvelles interventions thérapeutiques anti tumorales.

La voie de la kynurénine est la voie principale du métabolisme de tryptophane qui aboutit à la biosynthèse du nicotinamide adénine dinucléotide (NAD⁺) et divers neuroactifs intermédiaires.

Au cours des dernières décennies, l'implication de la voie de la kynurénine dans les maladies du cerveau, en particulier les tumeurs cérébrales, a gagné plus attention. Le tryptophane est également catabolisé par la voie de la sérotonine qui conduit à la biosynthèse des métabolites neuroactifs comme la sérotonine et la mélatonine. (Figure 6)

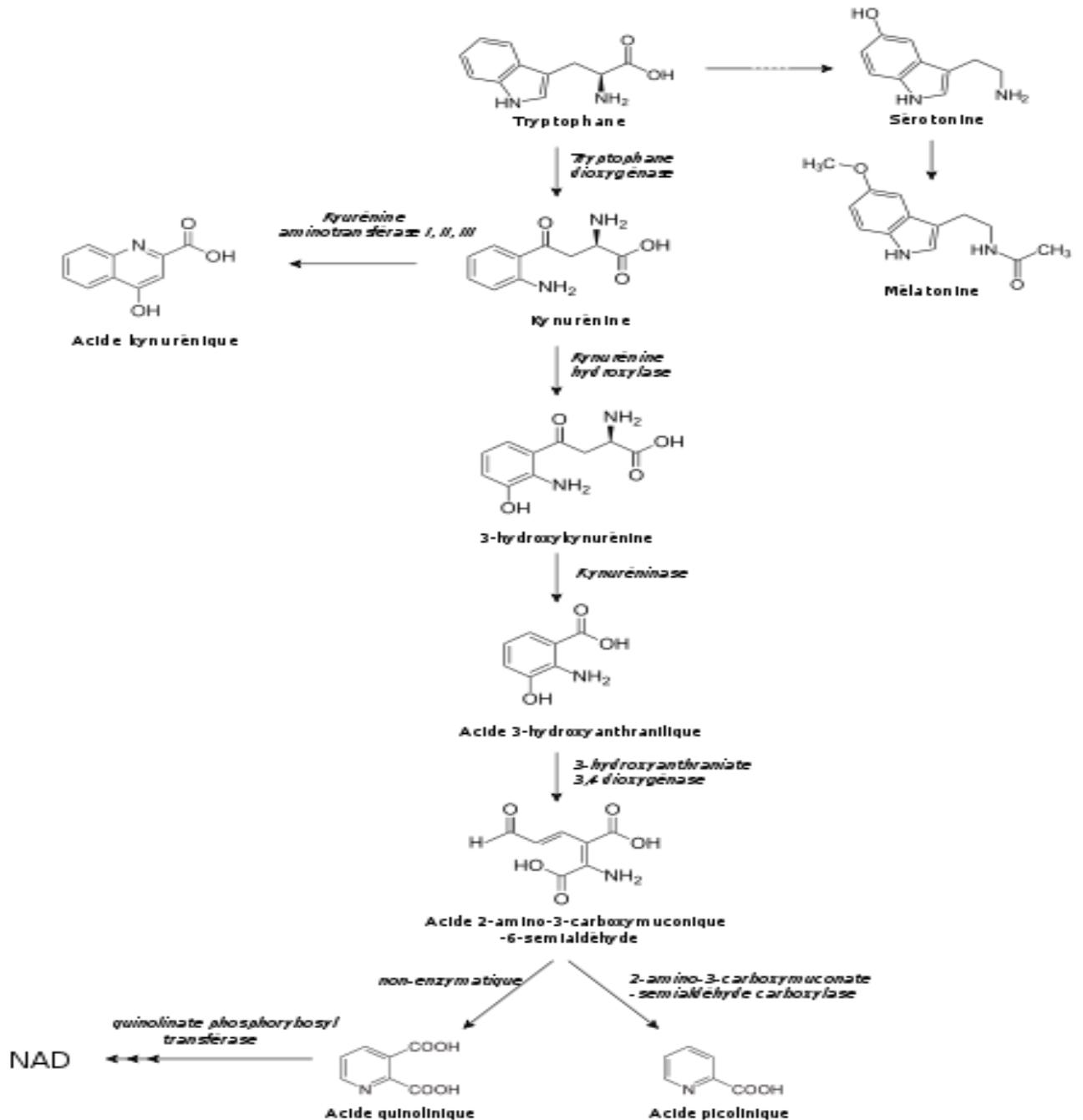


Figure 6 : La voie de kynurénine. (J Neuroinflammation, 2005)

Il est important de noter que les micro-organismes intestinaux utilisent le tryptophane comme substrat pour produire des indoles dérivés d'indole, qui sont des molécules clés impliquées dans les voies de signalisation entre le tractus gastro-intestinal et le système immunitaire.

La dérégulation de la voie de la kynurénine pourrait contribuer au développement du cancer en perturbant la réponse immunitaire anti tumorale. [18]

I-3-Le liquide céphalorachidien :

3-1-Définition du liquide céphalorachidien :

Le liquide céphalo-rachidien (en anglais cérébro-spinal fluid) (LCR) se trouve dans les ventricules du cerveau et entre les méninges, baigne le cerveau et permet de le protéger. Ce fluide circule à travers une série de cavités communicantes appelées ventricules. En plus de contribuer à absorber les coups, le LCR diminue la pression à la base du cerveau en faisant "flotter" le tissu nerveux. Il est produit par les plexus choroïdes dans les ventricules les plus hauts puis il est absorbé dans le système veineux à la base du cerveau. Le LCR circule vers le bas en évacuant les déchets toxiques et en transportant des hormones entre des régions éloignées du cerveau. [19,20]

3-2-Mécanisme de formation et de sécrétion du liquide céphalorachidien :

Le LCR est un ultrafiltrat du plasma sanguin, d'aspect aqueux, transparent et incolore, sécrété principalement par les plexus choroïdes et les capillaires sanguins cérébraux. Les vaisseaux de l'arachnoïde et de la pie-mère, ainsi que les espaces extracellulaires du parenchyme cérébral, constituent d'autres sources de LCR. À l'exception des protéines synthétisées au niveau du cerveau, le LCR renferme les mêmes constituant que le sang, à des concentrations toutefois beaucoup plus basses. [21]

Pour le mécanisme de formation du LCR : Le moteur principal de la sécrétion du LCR est le transfert actif du Na^+ de l'espace interstitiel vers le ventricule. Cela se fait en deux étapes La première étape est passive, la seconde active. Le Na^+ est échangé passivement à la base de la cellule suivant un gradient de potentiel puis il est rejeté dans le ventricule par une pompe Na^+ / K^+ qui fonctionne à l'ATP. Le débit de cette pompe est limité par la vitesse d'entrée du Na^+ au pôle basal de la cellule. De même, le CO_2 entre dans la cellule, y est hydraté pour former de l' H_2CO_3 qui est lui-même scindé, sous l'action d'une anhydrase carbonique, en HCO_3^- , qui est rejeté du côté LCR, et H^+ , qui est échangé contre Na^+ .

La cellule choroïde rejette donc beaucoup d'ions et rend son pôle apical très hypertonique. C'est cela qui attire l'eau vers le ventricule, de façon passive, suivant un gradient osmotique. En résumé, les plexus choroïdes sécrètent un mélange de Na^+ , Cl^- et d'anions comme HCO_3^- , ce qui entraîne l'eau dans les ventricules. Par ailleurs, ils réabsorbent du K^+ du LCR vers le sang. [22]. La composition comparée du plasma et du liquide céphalorachidien est démontré dans le tableau suivant (**Tableau II**)

Tableau II : Compositions comparées du plasma et du LCR. [23]

	Plasma	LCR
Na ⁺	150 mmol/l	147 mmol/l
K ⁺	4,6 mmol/l	2,8 mmol /l
Ca ⁺⁺	A,8 mmol/l	1 ,1 mmol/l
Cl ⁻	115 mmol/l	130 mmol/l
HCO ₃ ⁻	26 mmol/l	22 mmol/l
PH	7,4	7,3
P _{co2}	45mmHg	50 mmHg
Protéines	8g /100ml	0,02g/100ml

3-3-Régulation de la production du liquide céphalorachidien :

La régulation de la sécrétion du LCR est encore mal comprise, mais on sait maintenant que les plexus choroïdes sont innervés par des fibres cholinergiques et adrénergiques et que la stimulation des fibres B-adrénergiques élève le taux de 3'-5' AMPc dans les plexus choroïdes, ce qui active la pompe à Na⁺ et donc augmente la sécrétion de LCR. On notera que ni l'aldostérone ni l'ADH n'ont de rôle dans la régulation du LCR.

3-4-Rôle du liquide céphalorachidien :

Le LCR exerce une fonction physique (répartition des pressions, équilibration des modifications de volume, protection contre les variations de pression veineuse et artérielle, réduction du poids du cerveau in situ après une accélération) et une fonction métabolique (apport des substrats contenus dans le liquide extracellulaire et des hormones, élimination des produits du catabolisme). [24]

I-4-Les tumeurs cérébrales :

4-1-Définition des tumeurs cérébrales : sont des tumeurs au cerveau sont des masses intracrâniennes due à une croissance incontrôlée des cellules on la trouve généralement dans les neurones, les tissus lymphatiques, les cellules gliales etc...[25]

4-2-Classification des tumeurs cérébrales :

Les tumeurs cérébrales sont de deux types :

-Les tumeurs primitives : naissent dans le cerveau. On distingue les tumeurs bénignes (deux tiers des cas de tumeurs primitives), composées de cellules non cancéreuses. Qu'elles soient bénignes ou malignes.

-Les tumeurs secondaires : sont des métastases d'un cancer préexistant. Elles naissent lorsque des cellules d'une tumeur initiale située hors de l'encéphale parviennent à migrer, via la circulation sanguine, vers le tissu cérébral. [26]

-Gradation des tumeurs selon l'OMS : Des grades établis selon l'OMS permettent une classification des tumeurs en fonction de leur malignité et de leurs caractéristiques comme il est démontré dans le (Tableau III).

Tableau III : Classification des tumeurs cérébrales selon l'OMS en 2007

Grade 1 Tumeurs bénignes	Tumeurs à croissance lente et circonscrites (limites bien définies)
Grade 2 Tumeurs bénignes	Tumeurs à croissance lente, mais, contrairement aux tumeurs de grade 1, leurs limites sont imprécises
Grade 3 Tumeurs malignes	Tumeurs anaplasiques, un ou plusieurs foyers « anaplasiques » se sont développés au sein d'une tumeur préexistante de bas grade (1 ou 2). Leur croissance est plus rapide que celle des tumeurs de bas grade
Grade 4 Tumeurs malignes	Les tumeurs de grade 4 présentent une anaplasie très prononcée. Leur croissance est plus rapide que celle des tumeurs de bas grade

L'OMS distingue environ 200 types de tumeurs cérébrales, classifiées en fonction des cellules dont elles sont issues. Les tumeurs cérébrales les plus fréquentes sont représentées dans la **figure 7**.

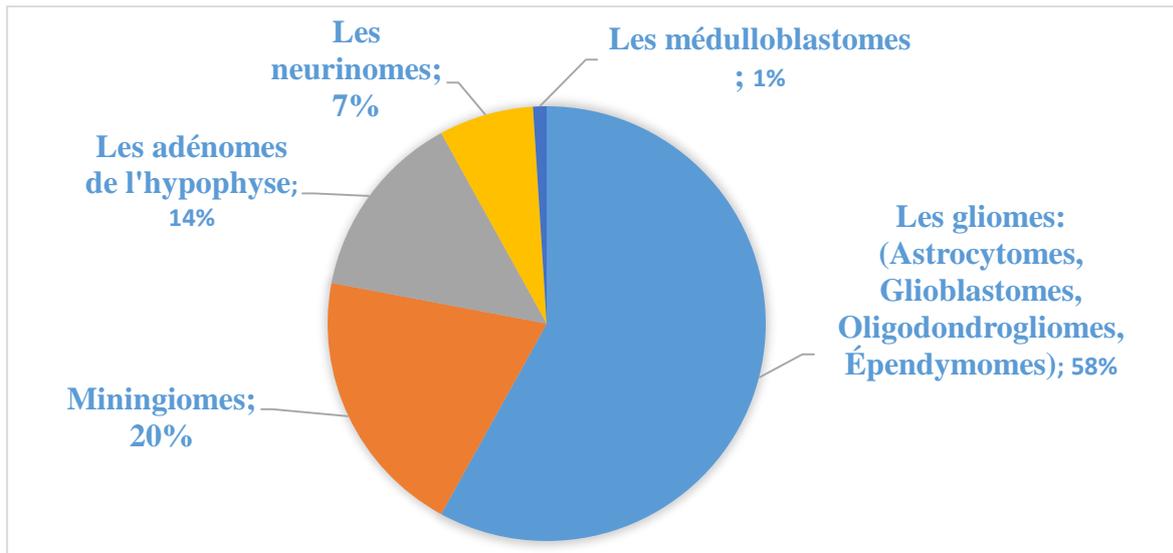


Figure 7 : Diagramme en secteur des pourcentages des tumeurs cérébrales les plus fréquentes

4-3-Différences entre tumeurs cérébrales adultes et enfants :

Les tumeurs cérébrales sont les lésions tumorales les plus fréquentes (20%-22%) chez l'enfant après les leucémies (30%), mais elles demeurent les premières causes de décès par cancer.

Chez l'adulte, les tumeurs cérébrales malignes représentent 1 à 2% de l'ensemble des cancers. Les tumeurs cérébrales chez l'enfant présentent certaines spécificités par rapport à l'adulte, selon la topographie les tumeurs de la fosse postérieure sont globalement aussi fréquentes que les tumeurs sus-tentorielles, mais cela varie en fonction de l'âge. Avant l'âge de 3ans, les tumeurs sus-tentorielles prédominent, tandis que les tumeurs de fosse postérieure sont plus fréquentes de 3 à 11 ans ; les fréquences des localisations sus- et sous-tentorielles sont identiques par la suite.

Selon les variétés histologiques les tumeurs neuroépithéliales primitives sont les plus fréquentes (80%), suivies par les craniopharyngiomes et les germinomes (3à5%). [27]

Chez l'adulte les tumeurs gliales diffuses, ou gliomes diffus, sont les tumeurs cérébrales primitives les plus fréquentes, représentant environ 50% de l'ensemble des tumeurs primitives du SNC. Pour les tumeurs astrocytaires, il existe une différence entre les astrocytomes de grade I pédiatriques et ceux de l'adulte. Les astrocytomes de grade II sont observés dans la majorité des cas (environ 60%), les astrocytomes de grade III sont des tumeurs relativement rares, les glioblastomes multiformes ou astrocytomes de grade IV sont les tumeurs gliales les plus fréquentes et les plus agressives avec une médiane de survie globale inférieure à 24 mois. [28]

4-4-Altérations génétiques des tumeurs cérébrales :

De nombreux travaux ont été menés afin de caractériser les altérations génétiques présentes dans les tumeurs cérébrales :

-Le gène P53 est situé en position 17p13, il code pour une phosphoprotéine de 393aa (P53) qui est présente en très petite quantité dans les cellules normales, mais en abondance dans les cellules transformées en culture ou dans les tumeurs humaines qui a un rôle dans le contrôle du cycle cellulaire et l'induction de l'apoptose. Une mutation au niveau de ce gène conduisant à la perte de ses fonctions, est observée dans la majorité des tumeurs cérébrales (environ 60%). [29]

-Le gène du récepteur EGF est un proto-oncogène, les altérations multiples du gène EGFR sont présents dans les glioblastomes, elles correspondent à une amplification génique, à une délétion génique des exons 2 à 7 codant un récepteur tronqué constitutionnellement actif et/ou à une mutation de la région génique codant le domaine extracellulaire du récepteur. [30]

Le récepteur EGF en réponse à la fixation du ligand transmet un signal mitotique grâce à son activité tyrosine kinase. Il peut être activé par deux mécanismes génétiques, soit amplification génique aboutissant à une surproduction de récepteurs normaux, soit production d'un récepteur anormal, tronqué et actif de façon constitutionnelle et non régulable.

-Le gène PTEN est un gène suppresseur de tumeur localisé sur le chromosome 10. Les mutations de ce gène sont plus fréquemment observées dans les glioblastomes de novo, dans un tiers des cas. Les altérations activatrices de l'EGFR (mutation, amplification, délétion) entraînant principalement l'activation de la voie de signalisation intracellulaire d'aval phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt (entre autres voies de signalisation). Les acteurs de cette voie de signalisation induisent, via des complexes protéiques de transcription, l'expression de gènes impliqués dans le processus tumoral en favorisant la prolifération cellulaire, l'angiogenèse tumorale, la migration cellulaire et la survie cellulaire notamment. L'activation de la voie de signalisation phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt/mTOR est amplifiée par les mutations inactivatrices de la protéine PTEN. [31,32]

-Le gène MGMT (MethylGuanine MethylTransferase) est un gène de 299kb situé sur le chromosome 10 (10q26). Il code une protéine de 238 acides aminés, O⁶-méthylguanine-DNA méthyltransférase. Cette enzyme est une clé dans la réparation des dégâts, léthaux causés à l'ADN par les agents alkylants. La méthylation des îlots CpG situés dans le promoteur du gène MGMT induit une inhibition de la transcription et donc de la traduction du gène. Cette modification épigénétique s'observe dans 40 à 57% des glioblastomes. [33,34]

-Le gène IDH1 sur le bras long du chromosome 2, 2q32-qter code l'isocitrate déshydrogénase 1. Il s'agit d'une enzyme impliquée dans le cycle de Krebs. Cette enzyme est localisée dans le cytoplasme et dans les peroxysomes où elle représente la seule source de NADPH qui est un cofacteur impliqué dans la protection cellulaire contre les dommages liés au stress oxydatif. Par conséquent, IDH1 agit en protégeant les cellules contre le stress oxydatif et en diminuant leur sensibilité à l'apoptose [35]. Le gène IDH2 sur le bras long du chromosome 15, 15q26.1 code pour l'isocitrate déshydrogénase 2. Elle présente la même activité qu'IDH1.

Les mutations du gène IDH1 et d'IDH2 [36-37] entraînent dans 90% des cas la substitution de l'arginine132 d'IDH1 et 172 d'IDH2 par une histidine. Ces mutations notées R132H pour IDH1 et R172H pour IDH2 ont pour conséquence une diminution de l'affinité d'IDH1 pour son substrat et l'inhibition de l'activité enzymatique d'IDH1. Les mutations du gène IDH1 ont d'abord été décrites comme étant spécifiques des gliomes avant d'avoir été mise en évidence dans des leucémies myéloïdes chroniques et semblent être liées au grade de la tumeur. [38]

4-5-Les métastases cérébrales :

Les métastases cérébrales désignent un cancer qui a pris naissance dans une autre partie du corps et qui s'est propagé à l'encéphale. On les appelle parfois tumeurs cérébrales métastatiques. Les métastases intracrâniennes représentent l'atteinte la plus fréquente du système nerveux central (SNC) au cours des cancers comme en témoignent les chiffres suivants : elles correspondent à plus du quart des tumeurs intracrâniennes de l'adulte ; elles sont retrouvées chez 25 à 30% des patients porteurs de cancer ; et à l'autopsie, chez 10 à 25% des patients atteints de tumeurs malignes. [39] Les métastases cérébrales sont différentes d'un cancer qui prend naissance dans le cerveau (appelé cancer primitif du cerveau).

Les métastases cérébrales sont bien plus courantes que le cancer primitif du cerveau [40]. Elles peuvent toucher toutes les structures du système nerveux : cerveau, méninges et nerfs.

Les cancers primitifs les plus fréquents responsables de localisations secondaires cérébrales sont les cancers du poumon et du sein et les mélanomes.

Les cancers qui métastasent le plus le cerveau sont le cancer du poumon (environ la moitié de toutes les métastases cérébrales proviennent d'un cancer du poumon; sein; mélanome; rein; colorectal [41]).

Chapitre II : Matériels et Méthodes

1-Matériels :

I-1-Echantillons biologiques :

Afin de réaliser cette étude des échantillons de liquides céphalo-rachidiens ont été prélevés chez trois patients atteints de tumeurs cérébrales et un atteint d'autres pathologies neurologiques non tumoral. Ces échantillons sont récupérés au niveau du service de neurochirurgie du CHU de Bejaïa. Les détails des échantillons prélevés sont représentés dans le **tableau IV**.

Tableau IV : Détails des échantillons de patients selon le type de tumeurs et leurs caractéristiques

Code	Date	Age	Sexe	Nature	Pathologie	Méthode de prélèvement
LCR PE1	29/03/2023	4ans	M	Tumoral	Kyste arachnoïdien tumoral	PEIC*
LCR PE2	24/04/2023	12ans	F	Tumoral	Tumeur ventriculaire et du thalamus	Ponction ventriculaire à l'aide d'un trocard
LCR PE3	07/05/2023	15ans	M	Tumoral	Tumeur FCP*	Ponction de la grande citerne
CP		4 mois	M	Non tumoral		PL*

PEIC : Processus Expansif Intracrânien ; **FCP** : Fosse cérébrale postérieure ; **PL** : Ponction lombaire.

I-2-Matériels utilisés :

La réalisation de notre travail a nécessité l'utilisation de différents équipements présentés dans le **tableau V** :

Tableau V : Matériels utilisés dans les différentes méthodes.

Méthodes	Matériels utilisés
Extraction d'ADN	Embouts, micropipette 100 μ l, micropipette 10 μ l, centrifugeuse, agitateur, tubes Eppendorf 1.5ml, Nanodrop

II-Méthodes :

II-1-Collecte des échantillons :

Les échantillons du LCR sont prélevés pendant l'intervention chirurgicale et récupérés dans des tubes stériles, transportés dans une glacière. Les échantillons sont conservés à -80°C .

II-2-Extraction de l'ADN :

Cette étape consiste en la recherche d'ADN bactérien dans le LCR d'origine tumoral. La manipulation est faite dans des conditions stériles sous un poste microbiologique de type II.

Pour l'extraction de l'ADN, 100 μ l de LCR ont été prélevés dans des tubes de 1,5ml et chauffés à 100°C pendant 20 minutes puis centrifugés à 10 000 rpm pendant 1 minute à 4°C . L'essai est répété deux fois.

Une deuxième extraction a été réalisée avec 250 μ l de LCR, en suivant les mêmes étapes de l'extraction précédente.

Les concentrations d'ADN de chaque surnageant ont été estimées par un dosage spectrophotométrique à 260 nm grâce au Nanodrop. La qualité de l'extraction est quant à elle évaluée en calculant le ratio 260/280 nm. (**Figure 8**)

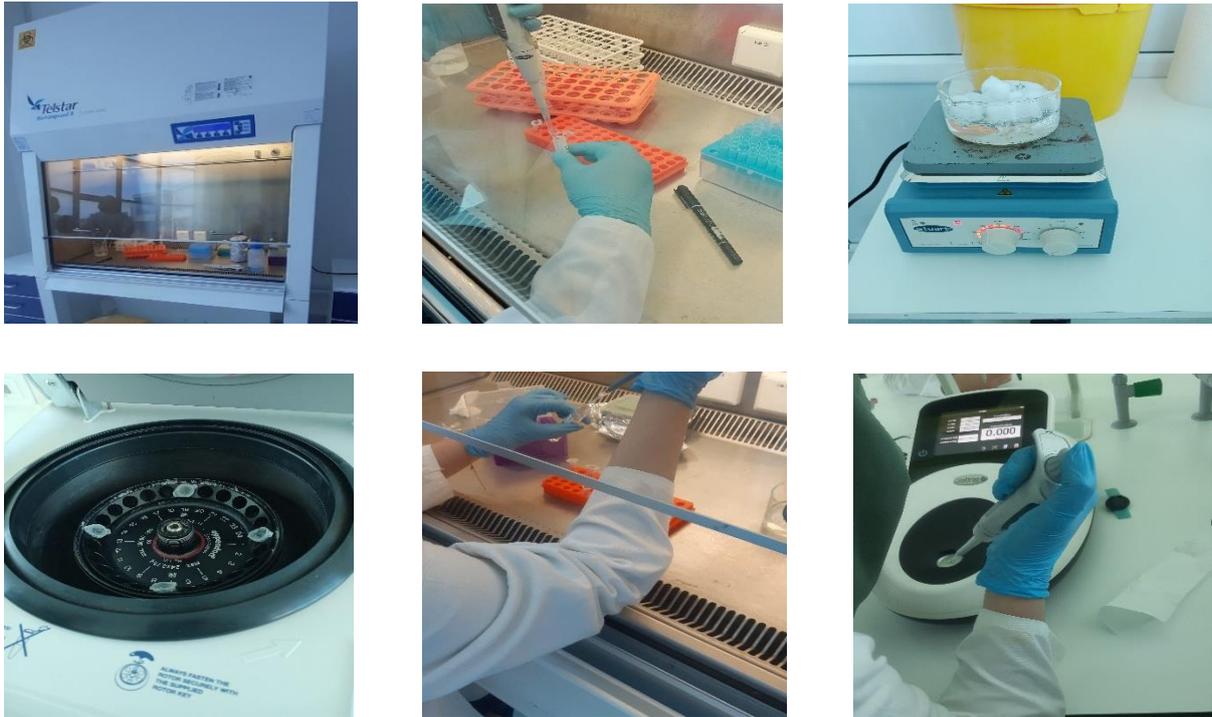


Figure 8 : photographies prises lors de l'extraction d'ADN

A260 : La longueur d'onde d'absorbance maximal des acides nucléiques.

Ratio A260nm/A280nm: Il est utilisé le plus souvent pour déterminer la contamination des acides nucléiques par des protéines ses valeurs sont comprise entre 1,8 et 2,0 pour l'ADN et 2,0 et 2,2 pour l'ARN. Lorsque le rapport d'absorbance 260/280 est inférieur à 1,8, cela indique la présence d'une contamination par des protéines.

Ratio A260nm/A230nm : C'est un deuxième indicateur de pureté, allant de 2,0 et 2,2 pour l'ADN. Si le ratio est faible ceci indique la présence d'une contamination par des composants organiques absorbant à 230.

Concentration : C'est la quantité d'ADN contenue dans le surnageant.

Pic d'absorbance : Représente le pic de dénaturation de la moitié d'ADN. Il correspond à l'absorbance maximale d'ADN à 260 nm.

Chapitre III : Résultats et Discussion

Dans le but de réaliser une extraction d'ADN dans le LCR nous avons utilisé un protocole d'extraction par chaleur extrait de l'article « *Comparaison of 16S rDNA-PCR Amplification and Culture of Cerebrospinal Fluid for Diagnosis of Bacterial Meningitis* » (Sarookhani et al, 2010), durant notre manipulation nous avons croisé un certain nombre d'obstacle qui nous ont conduit à des mauvais résultats, de ce fait une optimisation est réalisée dans le but d'obtenir de meilleurs résultats.

Les résultats de l'extraction d'ADN que nous avons obtenus sont évalués par le Nano Drop, qui est un spectrophotomètre UV-visible, développé pour l'analyse de micro-volumes d'acides nucléiques purifiés. Il affiche dans ces résultats l'Absorbance 260, le ratio A260nm/A280nm, le ratio A260nm/A230nm, concentration de l'échantillon ainsi que le pic d'absorbance.

III-1-Interprétation des résultats d'absorbance:

Dans les résultats obtenus avec un volume de 100 µl nous avons remarqué que chez la personne dont le LCR est d'origine infectieux (contrôle positif) nous avons obtenu une concentration élevée de 811 µg/ml dans le 1^{er} essai. Par contre dans le 2^{ème} essai, nous avons obtenu aussi une concentration élevée de 1139 µg/ml. Le ratio A260/280 est égal à 1,410 dans le 1^{er} essai et 1,384 dans le 2^{ème} essai, cela indique qu'il y a une contamination protéique.

Alors que chez les personnes atteintes de tumeurs cérébrales nous avons obtenu des concentrations faibles qui varient entre 32 µg/ml et 123 µg/ml dans le 1^{er} essai. Par contre dans le 2^{ème} essai, nous avons obtenu presque les mêmes résultats avec des concentrations entre 32 µg/ml et 95 µg/ml. Le ratio A260/280 est égal à 0,826 dans le 1^{er} essai et 0,766 dans le 2^{ème} essai pour le LCR PE1 et égal à 1,127 dans le 1^{er} essai et 1,141 dans le 2^{ème} essai pour le LCR PE3 cela indique qu'il y a une contamination protéique. Par contre, pour le LCR PE2 le ratio est égal à 2,00 dans le 1^{er} et le 2^{ème} essai, cela indique qu'il n'y a pas de contamination protéique.

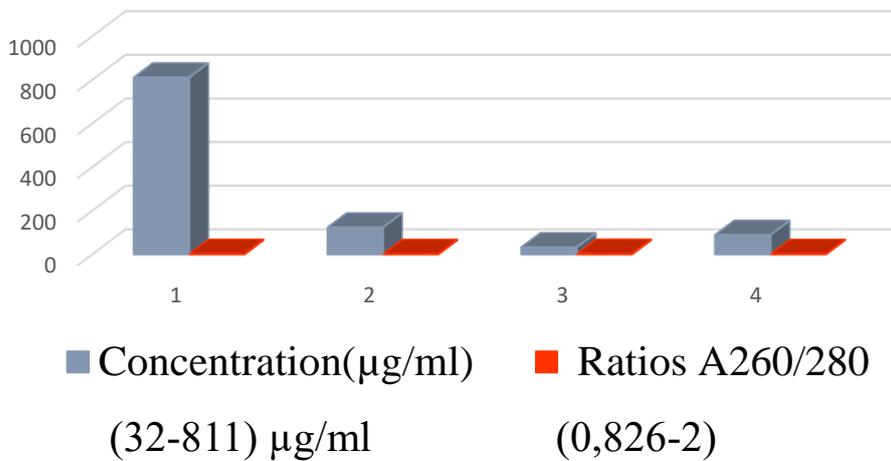
Pour les résultats obtenus avec un volume de 250 µl nous avons remarqué que chez la personne dont le contrôle positif nous avons obtenu une concentration élevée de 820 µg/ml dans le 1^{er} essai. Par contre dans le 2^{ème} essai, nous avons obtenu aussi une concentration élevée de 1128 µg/ml. Le ratio A260/280 est égal à 1,392 dans le 1^{er} essai et 1,382 dans le 2^{ème} essai cela indique qu'il y a une contamination protéique.

Alors que chez les personnes atteintes de tumeurs cérébrales nous avons obtenu des concentrations faibles qui varient entre 36 µg/ml et 114 µg/ml dans le 1^{er} essai. Par contre dans le 2^{ème} essai, nous avons obtenu aussi des concentrations faibles entre 33 µg/ml et 121 µg/ml. Le ratio est égal à 0,740 dans le 1^{er} essai et 0,747 dans le 2^{ème} essai pour le LCR PE1 et égal à

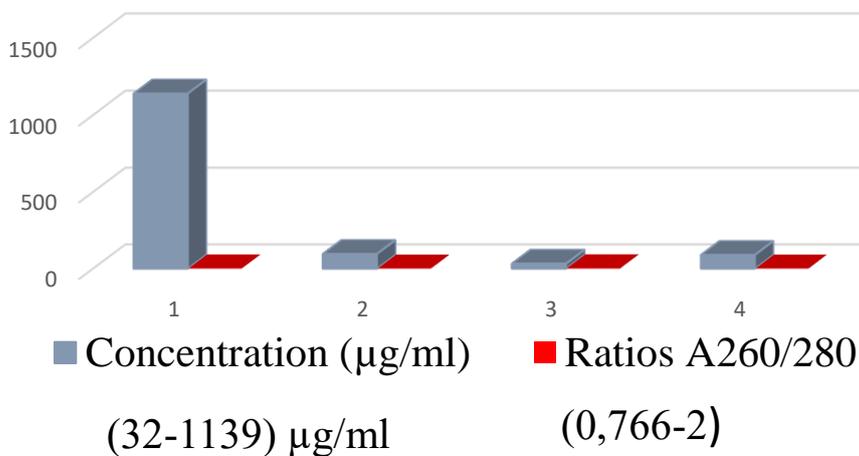
0,950 dans le 1^{er} essai et 1,143 dans le 2^{ème} essai pour le LCR PE3 cela indique qu'il y a une contamination protéique par contre pour le LCR PE2 est égal à 2,118 dans le 1^{er} essai et 2,200 dans le 2^{ème} essai ce qui indique qu'il n'y a pas de contamination protéique.

Les résultats des concentrations d'ADN et les ratios A260/280 sont représentés dans les graphiques suivants :

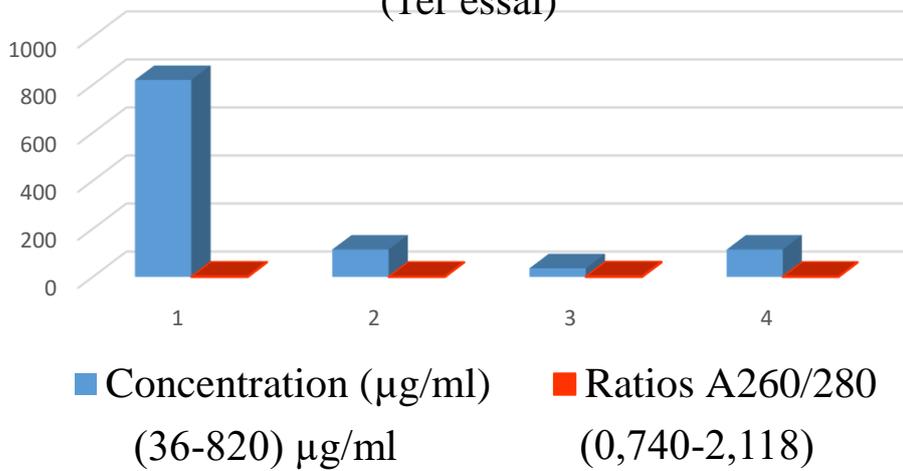
Graphique représentant les concentrations d'ADN et les ratios A260/280 pour 100 µl (1er essai)



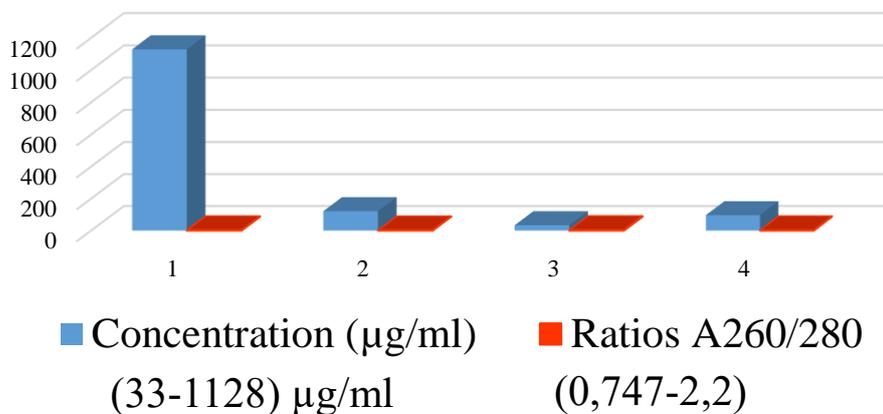
Graphique représentant les concentrations d'ADN et les ratios A260/280 pour 100 µl (2ème essai)



Graphique représentant les concentrations d'ADN et les ratios A260/280 pour 250 μ l (1er essai)



Graphique représentant les concentrations d'ADN et les ratios A260/280 pour 250 μ l (2ème essai)



III-2-Interprétations des pics d'absorbance:

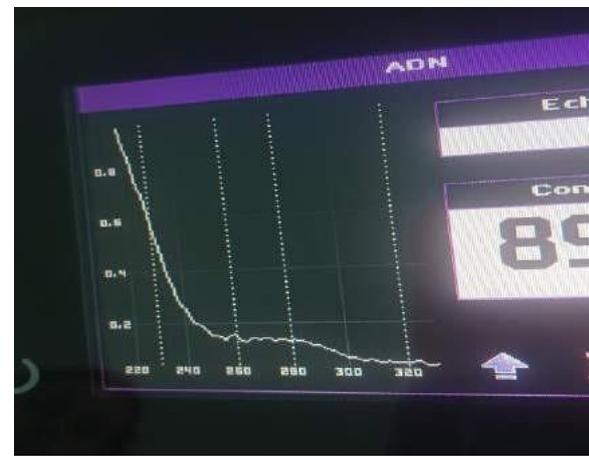
Pic 1 à 4 : Représente le pic de dissociation d'ADN. Le pic apparaît à 260 nm, parce qu'il correspond à l'absorbance d'ADN.

Pic 5 à 7 : Le pic apparaît à 280 nm, parce qu'il correspond à l'absorbance des protéines. Donc il y a une forte contamination protéique.

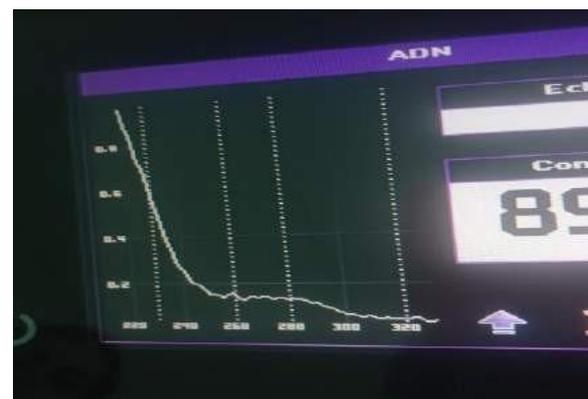
Pic 8 à 16 : Absence de pic de dissociation d'ADN. Cela est dû soit à l'absence ou à la présence d'une faible quantité de bactéries.

Les résultats des pics d'absorbance à 260 nm sont représentés comme suit :

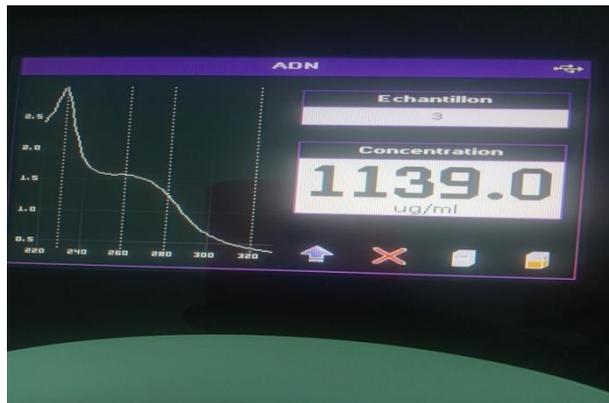
100 μ l (1^{er} essai):



100 μ l (2^{ème} essai):



250 µl (1er essai):



250 µl (2^{ème} essai):



Dans l'étude réalisée par Sarookhani et collaborateurs, les résultats de la PCR sont positifs ce qui indique la présence d'ADN. Dans nos résultats on a remarqué la présence d'ADN dans le contrôle positif alors que les résultats dans nos échantillons tumoraux ne sont pas probants. Ces résultats montrent que le protocole est fonctionnel pour l'extraction d'ADN du LCR d'origine infectieux mais pas pour le LCR d'origine tumoral. [42]

Dans une autre étude, les auteurs ont testé quatre méthodes différentes d'extraction les résultats (phénol-chloroforme, silice, résine, et résine avec éthanol). L'analyse spectrophotométrique a révélé que les concentrations d'ADN dans les échantillons de LCR varient entre 100µg/ml et 300µg/ml contrairement à nos résultats, les concentrations varient entre 32µg/ml et 1139µg/ml. Par contre, les ratios A260/280 varient entre 0.01 et 2.19 conformément à nos résultats les ratios A260/280 varient entre 0,740 et 2,2. [43]

Afin de surmonter cet obstacle il serait donc judicieux de tester d'autres protocoles tels que le protocole d'extraction d'ADN en utilisant la protéinase K. [44]

Le protocole consiste à prélever une quantité de LCR et le faire bouillir à 94°C pendant 10 minutes ensuite on va l'incuber toute la nuit à 56°C en utilisant 100 µg/ml de la protéinase K qui est une enzyme qui inactive les contaminants protéiques.

Conclusion et Perspectives

Conclusion et Perspectives

Pour l'extraction d'ADN bactérien, nous avons utilisés des échantillons du LCR prélevés chez des patients atteints de tumeurs cérébrales et un patient atteint d'une pathologie infectieuse au sein du CHU de Bejaia. L'extraction d'ADN est réalisée par un protocole d'extraction par la chaleur.

Les résultats obtenus chez le patient atteint d'une pathologie infectieuse a donné des pics d'absorbance à 260 nm ce qui indique la présence d'ADN bactérien par contre les résultats obtenus chez les patients atteints de tumeurs cérébrales on a remarqué l'absence des pics d'absorbance d'ADN à 260 nm ce qui indique l'absence d'ADN. Cela est dû soit à l'absence ou la présence d'une faible quantité de bactéries.

En conclusion, le protocole testé dans cette étude fonctionne pour l'extraction d'ADN du LCR d'origine infectieux mais pas pour le LCR d'origine tumoral.

En perspective, il serait intéressant d'augmenter le nombre d'échantillons afin de confirmer ou d'infirmer les résultats obtenus. De plus, il serait également pertinent de tester d'autres protocoles d'extraction plus adaptés pour les échantillons contenant de faibles quantités d'acides nucléiques.

Références

Bibliographiques

Références Bibliographiques

[1]: Alexander R, Lucas, M.D, C. Mary Beard, M.P.H, W.Michael O’Fallon, Ph.D, Leonard T.Kurland,M.D, Dr.P.H. 50-Year Trends in the Incidence of Anorexia Nervosa in Rochester, Minn.: A Population-based Study. Journal of psyaiatry ; 1991; 148:1-5.

[2]: Fondation ARC pour la recherche sur le cancer. Les cancers du cerveau. Cedex : Edition Elsevier Masson, 2015 :8.

[3]: e-cancer.fr

[4]: A. Ghidouche, D. Ait Ali, L. Kheireddine, I. Takbou, H. Khechfoud, L.Hannou, H. Himeur, M.Ait Bachir, S.Tliba. Etude Epidémiologique des tumeurs cérébrales : cas du CHU de Bejaia. Journal de Neurochirurgie ; 2014 ; 60 : 321-358.

[5]: Bernard Sablonnière. Chimie, Biochimie et Biologie Moléculaire. Paris : Edition Paris : Omni Science, 2006 :720.

[6]: Elliott Kiersbaum, David Bieau, Aymane Moslemi, Jules Descamps, Philip Antract, Alexandre Hardy. Anterior Approach without traction table: A means of saving time and money in hemiar throplasty for femoral neck fracture? A case-matched studies with and without traction table. Journal of orthopedic and trauma surgery; 2020;106:321-326

[7]: V Delmas. Anatomie générale. Paris: Edition Elsevier Masson SAS, 2008:87-101.

[8]: Steve parker-Luis Morzac. London: Edition Gamma, 1992:16-17.

[9]:Silvia S.Mader. Biologie humaine, France: Edition :Amazon France, 2010 :467.

[10]:Tony Heurtaux. Modulation de l’activité de glucoronocongugaison et de l’expression de l’isoforme UGT1A6 cérébrale lors d’un stress ou d’une inflammation. Laboratoire de pharmacologie, Faculté de Médecine ; 2005 :16-179.

[11]: V.Delmas. Anatomie générale. Paris: Edition Elsevier Masson SAS, 2008:117-118.

[12]: Duvernoy H.M. The Human Brain Stem and Cerebellum, Berlin: Edition Springer Berlin Heidelberg, 2013: 237.

[13]: Microbiote intestinal (flore intestinale) [Internet]. Inserm - La science pour la santé. [cité 25 sept 2020]. Disponible sur:

<https://www.inserm.fr/informationen/sante/dossiersinformation/microbiote-intestinal-flore-intestinale>.

Références Bibliographiques

- [14]: M. Hasan Mohajeri, Giorgio La Fata, Robert E. Steinert, and Peter Weber. Relationship between the gut microbiome and brain function. *Nutrition reviews*; 2018; 0:1-16.
- [15]: Ann M.O'Hara, Pdraig O'Regan, Aine Faming, Caitln O'Mahony, Jean Mac Sharry, Anne Lyons, Jean Biemenstock, Liam O'Mahoney, Fergus Shanahan. Functionnal modulation of human intestinal epithelial cell reponses by *Bifidobacterium infantis* and *Lactobacillus salivarius*. *Journal of Immunology*; 2006; 118:202-215.
- [16]: Verdu EF, Bercik P, Verma-Gandhu M, Huang XX, Blennerhasset P, Jackson W Mao Y, Wang L, Rochat F, Collins SM. Specific probiotic therapy attenuates intibiotic induced visceral hypersensivity in mice. *Journal of Neurogastroenterology*; 2006;55:182-190.
- [17]: Ann M.O'Hara, Pdraig O'Regan, Aine Faming, Caitln O'Mahony, Jean Mac Sharry, Anne Lyons, Jean Biemenstock, Liam O'Mahoney, Fergus Shanahan. Functionnal modulation of human intestinal epithelial cell reponses by *Bifidobacterium infantis* and *Lactobacillus salivarius*. *Journal of Immunology*; 2006; 118:202-215.
- [18]: Mona Dehhaghi, Hamed Kazemi Shariat Panahi, Benjamin Heng, Glles J. Guillemin. The Gut Microbiota, Kynurenine Pathway, and immune System Interaction in the development of Brain Cancer. *Journal of Molecular and Cellular Pathology*;2020; 8:1-12.
- [19]: Morin Yves. «Larousse médicale». Edition la rousse, 2006.
- [20] : Reinhard rohkamm. Atlas de poche neurologie. Paris : Edition lavoisier.fr, 2016 :8.
- [21] : Jean-François vibert. Neurophysiologie de la physiologie à l'exploration fonctionnelle. France : Edition Elsevier Masson SAS, 2019 :53.
- [22] : Jean-François vibert. Neurophysiologie de la physiologie à l'exploration fonctionnelle. France : Edition Elsevier Masson SAS, 2019 :51-52.
- [23] : Jean-François vibert. Neurophysiologie de la physiologie à l'exploration fonctionnelle. France : Edition Elsevier Masson SAS, 2019 :54.
- [24]: Wen, P. Y, Teoh, S. K, and Black, P. M Churchill Livingstone. Brain Tumors. 2nd Edition,2010.

Références Bibliographiques

- [25]: Fondation ARC pour la recherche sur le cancer. Les cancers du cerveau. Cedex : Edition Elsevier Masson, 2015 :10.
- [26] : Jurg hablutzel.Les tumeurs cérébrales et du système nerveux central.Berne : Edition Ligue suisse contre le cancer. 2009 :14-15.
- [27] : M.koob, N.Girard. Tumeurs cérébrale : particularité chez l'enfant. Journal de radiologie diagnostic et interventionnelle. 2014 : 20 :1-17.
- [28] : A.Idbaih, Hoang-Xuan, D.Psimaras, M.Sanson, J-Y.Delattre. Aspects génétiques des tumeurs cérébrales primitives de l'adulte. Neurologie; 2009; 10:1-8.
- [29]: Ohgaki H, kleihuesP.Population-based studies on incidence, Survivale rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas. J Neuropathol Exp Neurol;2005 Jun; 64(6):479 -89.
- [30]:Lee JC,Vivanco I,Beroukhim R,Huang JH,Feng WL,Debiasi RM, et al.Epidermal growth factor receptor activation in glioblastoma through novel missence mutations in the extracellular domain.PLoS Med;2006;485.
- [31]:Ohgaki H,Dessen P,Juric D,Jourde B,Horstmann S,Nishikawa T,Di patre PL,et al.Genetic pathways to glioblastoma: a population-based study Cancer Res; 2004;64:6892-9.
- [32]:Houillier C,Lejeune J,Bounaich-Amiel A,Laigle-Donadey F,Crinière E,Mokhtari K,et al.Prognostic impact of molecular markers in a series of 220 primary glioblastomas.Cancer; 2006;106:2218-23.
- [33]: Bleeker FE, Molenaar RJ, Leenstra S. Recent advances in the molecular understanding of glioblastoma. J Neurooncol ; 2012.
- [34] : Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, Hamou MF, de Tribolet N, Weller M, et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. N Engl J Med; 2005; 352(10):997-1003.
- [35]: Kang MR, Kim MS, Oh JE, Kim YR, Song SY, Seo SI, et al. Mutational analysis of IDH1 codon 132 in glioblastomas and other common cancers. Int J Cancer; 2009; 125(2):3535.

Références Bibliographiques

- [36] : Balss J, Meyer J, Mueller W, Korshunov A, Hartmann C, von Deimling A. Analysis of the IDH1 codon 132 mutation in brain tumors. *Acta Neuropathol*; 2008; 116(6):597- 602.
- [37]: Ducray F, Marie Y, Sanson M. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N Engl J Med*; 2009; 360(21):2248-9.
- [38]: Marcucci G, Maharry K, Wu YZ, Radmacher MD, Mrozek K, Margeson D, et al. IDH1 and IDH2 gene mutations identify novel molecular subsets within de novo cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol*; 2010; 28(14):2348-55.
- [39]: De Angelis LM, Mandell LR, Tzvi Thaler H et al. The role of postoperative radiotherapy after resection of single brain metastases. *Neurosurgery* ; 1999; 24: 798-805.
- [40]: Hoàng-Xuân K, Delattre JY, Poisson M. Métastases cérébrales. Editions Techniques. *Encycl Méd Chir, Neurologie*, 2002 ; p 20.
- [41]: Delattre JY, Krol G, Thaler HT et al. Distribution of brain metastases. *Arch Neurol*; 1998; 45: 741-744.
- [42]: Mohammad-Reza Sarookhani¹, PhD Parviz Ayazi, MD Safar Alizadeh, MSc Farshad Foroughi¹, MSc Ahmad Sahmani¹, MSc, and Mohtaram Adineh, BSc. Comparison of 16S rDNA-PCR Amplification and Culture of Cerebrospinal Fluid for Diagnosis of Bacterial Meningitis. *Iranian Journal of Pediatrics* ; 2010; 20: 471-475.
- [43]: Flavia Silva Palomo, Martha Gabriela Celle Rivero, Milene Gonçalves Quiles, Fernando Pereira Pinto, Antonia Maria de Oliveira Machado, Antonio Carlos Campos Pignatari. Comparison of DNA Extraction Protocols and Molecular Targets to Diagnose Tuberculous Meningitis. *Hindawi Tuberculosis Research and Treatment*; 2017 ; 2017:1-5.
- [44]: Pirkko Kotilainen, Jari Jalava, Olli Meurman, Olli-Pekka Lehtonen, Esa Rintala, Olli Pekka Seppala, Eekki Eerola, Simo Nikkari. Diagnosis of Meningococcal Meningitis by Broad-Range Bacterial PCR with Cerebrospinal fluid. *Journal of Clinical Microbiology*; 1998; 36:2205-2209.

Adénomes de l'hypophyse : Est une lésion bénigne développée au niveau de l'hypophyse qui est une glande située à la base du crâne responsable d'une grande diversité de sécrétion hormonale. (**fo-rothschild.fr**).

Craniopharyngiomes : est une tumeur bénigne située sous le cerveau à proximité de la glande hypophysaire. (**fo-rothschild.fr**).

Germinomes : Tumeur rare du système nerveux central (0.3 à 4% des tumeurs intracrâniennes), développée dans 90% des cas sur la ligne médiane, notamment dans la région supra sellaire, observée principalement chez l'homme entre 10 et 25 ans. (**Dictionnaire Académie Nationale de Médecine**).

Les gliomes : Sont les plus fréquentes des tumeurs primitives du système nerveux central chez l'adulte. Ils regroupent différents types de tumeurs cérébrales, bénignes (astrocytomes, oligodendrogliomes) ou malignes (glioblastomes). (**Larousse.Fr**).

Médulloblastomes : Est une tumeur cancéreuse du cerveau. Il s'agit de la tumeur cérébrale maligne la plus fréquente chez les enfants, qui représente 20% des tumeurs du système nerveux central (SNC) chez l'enfant. (**St Jude Children's**).

Méningiomes : Tumeur intradurale histologiquement bénigne, développée à partir des villosités arachnoïdiennes, qui représente environ 15% de toutes les tumeurs intracrâniennes primitives et 12% des tumeurs intrarachidiennes. (**Dictionnaire médicale de l'Académie de Médecine version 2023**).

Neurinomes : Tumeur bénigne des nerfs périphérique, crâniens et rachidiens. Les neurinomes sont formés par les cellules qui produisent la gaine de myéline, une substance isolante qui gaine certaines fibres nerveuses. (**futura-science.com**).

Tumeurs anaplasique : L'anaplasie, à ne pas confondre avec l'aplasie, est un terme d'anatomie pathologique (ana-path) qui désigne la perte de certains caractères de différenciation cellulaire. Il existe donc des tumeurs (bien différenciées), en règle de meilleur pronostic, et des tumeurs (indifférenciées), dont le pronostic est a priori moins bon. Les cancers anaplasiques sont de point de vue de la différenciation cellulaire, ceux qui ont le pronostic le plus sombre car ils ont tendance à une évolutivité très rapide. (**Dictionnaire médicale.Fr**).

Résumé :

Objectif : Notre étude s'intéresse à la recherche d'ADN bactérien dans le liquide céphalorachidien d'origine tumorale.

Méthodes : L'analyse moléculaire du LCR a été effectuée au niveau du laboratoire de médecine de l'université de Bejaia. Les échantillons prélevés chez un patient atteint de pathologies neurologiques et 3 patients atteints de tumeurs cérébrales provenant du service de neurochirurgie au niveau du CHU de Bejaia. L'extraction d'ADN a été réalisée par un protocole d'extraction par chaleur.

Résultats : Les résultats indiquent que dans le contrôle positif et les autres échantillons on a obtenu des ratios faibles à A260/280 ce qui indique qu'il y a une contamination protéique par contre pour le 2^{ème} échantillon tumoral on a obtenu des bons ratios à A260/280.

Pour les pics d'absorbance on observe l'apparition d'un pic d'absorbance à 260 nm ce qui indique la présence d'ADN dans le contrôle positif et l'absence de pic d'absorbance à 260 nm qui correspond au pic d'absorbance d'ADN ce qui indique l'absence ou la présence d'une faible quantité de bactéries.

Conclusion : Le protocole d'extraction par chaleur est fonctionnel pour l'extraction d'ADN du LCR d'origine infectieux mais pas pour l'extraction d'ADN du LCR d'origine tumoral donc on propose d'utiliser d'autres protocoles d'extraction.

Mots clés : LCR-Tumeurs cérébrales-SNC-ADN-Pathologies neurologiques.

Abstract:

Objective: Our study is interested at the research of DNA in cerebro spinal fluid of tumor origin.

Methods: Molecular analysis of CSF was accomplished at medicine laboratory of university of Bejaia. The samples were taken in a patient affected by neurological pathologies and 3 patients with brain tumors disease from neurosurgery departement at CHU of Bejaia. The extraction of DNA was accomplished by an extraction protocol by heat.

Results: The results indicate that in the positive control and the other samples we have obtained low ratios at A260/280 which indicates there is a protein contamination against for the second tumor sample we have obtained good ratios at 260/280.

For the peaks of absorbance at 260 nm which indicates the presence of DNA in the positive control and the absence of peak of absorbance at 260 nm which appropriate at the peak of absorbance of DNA which indicates the absence or presence of small quantity of bacteria.

Conclusion: The protocol of extraction by heat is functional for DNA extraction of CSF of infectious origin but not for DNA extraction of tumor origin therefore, we propose to use others protocols of extraction.

Keywords: CSF-Brain tumors-CNS-DNA-Neurological pathologies.