

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département de biologie physico-chimique
Filière : Sciences Biologiques
Option : Biochimie Appliquée



Réf :.....

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

MASTER

Thème

**Dosage hormonal du sang des
patients atteints des tumeurs
cérébrales**

Présenté par :

LAIDAOUI Nawel
LOUNIS Souad

Devant le jury composé de :

M^r OUCHEMOUKH S
M^{elle} AIT ALI DJ
M^r GHIDOUCHE A

MCA (U.A.M.B)
MAB (U.A.M.B)
MCB (U.A.M.B)

Président
Encadreur
Examineur

Année universitaire : 2014 / 2015

Remerciements

Au terme de ce travail on remercie Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage et la patience de réaliser ce travail.

On adresse nos plus sincères remerciements à notre promotrice M^{elle} Ait ali Djida pour nous avoir guidé durant cette année de pratique, pour ses conseils, sa disponibilité et surtout son sérieux dans le travail.

Nos sincères considérations et remerciements sont également exprimés aux membres de jury : Mr Ouchemoukhi S qui nous a fait honneur par sa présence en qualité de président de jury et Mr Ghidouche A qui a accepté d'examiner ce travail.

Nos remerciements sont également exprimés à tous le personnel du laboratoire d'enzymologie et biophysique : Melle Khatel, Habiba et Saida et Mr Hammoum.

Enfin, nos remerciements s'adressent à tous les enseignants et à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail:

A mes très chers parents: Khalef et Hassina.

A mes chers frères : Yacine et Wassim

A toute ma grande famille: mes oncles et mes tantes

A toutes mes amies : Hafsa et Siham /Sylia et Dawia

*A tous ceux et celles qui m'ont encouragés, entourés de leur soutien
durant les moments difficiles sans oublier ma cher binôme Nawel*

SOUAD

*A la mémoire de ma très chère Mère, ma source de courage
A mon chère père, pour m'avoir transmis le goût d'apprendre, de
comprendre et de découvrir toujours plus.*

*A mes chers frères : Kamel, Samir, Djamel, Boualem, Adel et Hichem
Et particulièrement mon cher Radouan la compréhension et l'aide qui
ma toujours apporté*

A mes chères sœurs : Aldjia et Hanane

A toute ma grande famille: mes Belles sœurs et mon Bon frère

*A toutes mes amies : Kahina , Nabila, Khéra, Linda, Lilia, Mariem, cilia
Et mes chère Hafsa et Siham*

*A mon cher fiancé Hamza, ton soutien de chaque instant, ton aide
dans ma vie commune et ta Patience m'ont beaucoup touchée, sans toi
rien n'aurait été possible.*

*A mes beaux-parents qui ont su si bien m'accompagner, je les remercie
Pour leur gentillesse et leur simplicité.*

*A tous ceux et celles qui m'ont encouragés, entourés de leur soutient
durant les moments difficiles sans oublier ma cher binôme Souad*

A toute ma famille...

Nawel

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste Abréviations

Introduction.....1

Chapitre I: Revue Bibliographique

I. Généralités sur les tumeurs cérébrales.....2

I.1. Tumeurs cérébrales..... 2

I.2. Mécanisme de formation2

I.2.1. Tumeur primitive.....2

I.2.2. Tumeur secondaire.....3

I.3. Classification4

I.4. Altérations cytogénétiques et moléculaires.....5

I.5. Facteurs de risque8

I.5.1. Facteurs génétiques.....8

I.5.2. Facteurs environnementaux.....8

II. Caractéristiques et physiopathologie des hormones.....9

II.1. Les hormones stéroïdiennes.....9

II.2. Récepteurs des hormones stéroïdiennes et cancer.....9

II.2.1. Récepteurs aux androgènes.....10

II.2.2. Récepteurs à la progestérone (RP)12

II.3. Les hormones hypophysaires.....13

III. Méthodes analytiques.....15

III.1. Dosage colorimétrique des protéines.....15

III.2- Dosages des hormones17

III.2.1- Dosages immunologiques.....17

III.2.1.1-Principe général.....17

III.2.1.2-Dosage en phase homogène et hétérogène.....17

III.2.1.3. Méthodes de détections.....19

Chapitre II: Matériel et méthodes

I- Matériel	21
I.1- Appareillage, réactifs chimiques et produit.....	21
I.2- Matériel biologique.....	21
II- Méthodes.....	22
II.1- Dosage des protéines.....	22
II.1.1- Préparation des solutions.....	22
II.1.2-Méthode de Bradford.....	23
II.1.2.1-Courbe d'étalonnage.....	23
II.2-Dosage des hormones.....	23
II.3-Analyse statistique.....	23

Chapitre III: Résultats et discussions

III-Résultats et discussions.....	25
III.1-Teneurs en protéines totales.....	25
III.1.2- Concentrations des protéines plasmatiques en fonction du sexe.....	27
III.1.2-Concentrations des protéines plasmatiques en fonction de la pathologie.....	28
III.1.3-Concentrations des protéines plasmatiques en fonction de l'âge.....	29
III.2-Teneurs en hormones.....	30
III.2.1- FSH/LH.....	31
III.2.2- Progestérone.....	33
Conclusion	35
Références bibliographiques	36

Glossaire**Annexe**

Figure 1: Les différents étapes d'installation d'une tumeur primitive.....	3
Figure 2: les différentes étapes d'apparition d'une tumeur secondaire.....	4
Figure 3: le rôle de la protéine Rb dans le contrôle du cycle cellulaire.....	7
Figure 4: Principales étapes du mécanisme d'action du récepteur des androgènes.....	11
Figure 5: Représentation schématique des effets non génomiques des androgènes.....	12
Figure 6: les hormones hypophysaires.....	14
Figure 7: Voie dépendante de l'AMPc et la PKA déclenché par FSH.....	15
Figure 8 : Schéma sur les dosages immunométrique et compétitif.....	18
Figure 9 : résultats de la courbe d'étalonnage.....	22
Figure 10 : Les concentrations des protéines plasmatiques en fonction du sexe.....	28
Figure 11 : concentration protéique chez les patients TN et T selon le sexe.....	29
Figure 12 : différentes concentration protéique en fonction des tranches d'âge (20-40) et (40-60) des patients T/NT et S.....	30

Tableau I: Hormones stéroïdes et leurs intermédiaires métaboliques.....	10
Tableau II : La répartition des patients selon âge et le sexe et leurs caractéristiques.....	22
Tableau III : la composition du réactif de Bradford.....	23
Tableau IV: Gamme d'étalonnage pour le dosage des protéines par la méthode de Bradford.....	23
Tableau V : Résultat de dosage protéines totales.....	26
Tableau VI : Les résultats de dosages hormonaux.....	31
Tableau VII : Les valeurs normales des hormones.....	31

LISTE DES ABBREVIATIONS

ADH : Antidiuretic Hormone

ARE : Androgene Response Element

CDK : Cyclin-Dependent Kinases

DHT : Dihydrotestostérone

EGFR: Epidermal Growth Factor Receptor

FSH : Follicle- Stimulating Hormon

GABAAR : Gamma-AminoButyric Acid type A Receptor.

GnRH : Gonadotrophin Releasing Hormone

GH : Growth Hormone

IDH : Isocitrate Déshydrogénase

HSP : Heat Shock Protein

LH : Luteinizing Hormon

MAPK : Mitogen-Activated Protein Kinases

MDM2: Mouse Double Minute 2

MGMT : MethylGuanine MethylTransferase

NADPH : Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Hydrogen

RA : Récepteur de l'Androgène

SHBG : Sex Hormone Binding Globuline

SNC: Système Nerveux Central

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

P53: Protéine 53

p14/ARF: Protéine 14 Alternative Reading Frame

Rb: Rétinoblastome

RP : Récepteur de la Progestérone

TSH : Thyroïd-Stimulating Hormon

Introduction

Le cancer est une maladie grave, caractérisée par un processus pathologique qui trouve son origine dans des changements génétique. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) le nombre de décès liés au cancer est estimé à environ 8 millions ce qui représente approximativement 12 % de la mortalité mondiale. Cette valeur devrait augmenter à plus de 15 millions de nouveaux cas d'ici l'année 2020. Certains types de cancer tels que les tumeurs cérébrales sont la première cause de mortalité liée au cancer chez les enfants et représente environ 25 % des cas pédiatriques. De plus, Leur incidence chez les personnes adultes est d'environ 10 pour 100.000 habitants par ans. Plus fréquentes chez les enfants, elles représentent 20% de l'ensemble des cancers. À ces chiffres s'ajoutent ceux des métastases cérébrales. Ces tumeurs secondaires, consécutives à la présence d'un cancer localisé hors de la région cérébrale, ont une incidence d'environ 3 à 8 pour 100.000 habitants par ans (**Porter *et al.*, 2010**).

Annuellement en Algérie, le nombre de nouveaux cas est estimé à 40.000 avec 22.000 décès. De plus, les études épidémiologiques effectuées au sein de l'Hôpital de Bejaia entre l'année 2012 et 2014 montrent une importante recrudescence de l'incidence des tumeurs cérébrales qui passe de 5 à 18 cas pour 100.000 habitants par ans. Ces statistiques dénotent de la gravité de la situation, d'où la nécessité de rechercher de nouvelles voies de prise en charge et de traitement des tumeurs cérébrales. C'est également la troisième cause de mortalité liée au cancer chez les jeunes adultes (**Jemal *et al.*, 2007**). La recherche sur les tumeurs cérébrales s'avère donc une nécessité afin d'améliorer la compréhension des mécanismes cellulaires et moléculaires de cette maladie et notamment de développées des techniques de diagnostic et de pronostic.

En effet le dosage des marqueurs tumoraux est une technique de diagnostic de grande importance, peut permettre la détection dans les fluides biologiques tels que le sang des hormones ou des protéines dont l'expression et/ou la structure est modifiée. Les marqueurs tumoraux utilisés pour la détection et le suivie des tumeurs cérébrales restent peu nombreux, posant ainsi la nécessité d'identifier de nouveaux marqueurs. L'intérêt de cette étude est donc d'explorer de nouvelles pistes pouvant mener à l'identification de marqueurs hormonales qui permettant le suivie et facilitée le diagnostic.

I-Généralité sur les tumeurs cérébrales

I.1-Tumeur cérébrale

L'appellation tumeur cérébrale regroupe les tumeurs localisées à l'intérieur du crâne ou dans le canal spinal central. Ces néoplasmes ne peuvent métastaser, il ne s'agit donc pas de cancer à proprement parler mais uniquement de tumeurs malignes ou bénignes. Mis à part ce point de vocabulaire et l'absence de métastases, elles sont en tout point semblable à des cancers et reposent sur les mêmes mécanismes (**Hablutzel, 2009**). Elles surviennent par le développement anormal et anarchique de divisions cellulaires, à partir soit d'une cellule du cerveau elle-même, soit d'une cellule métastatique exportée d'un cancer situé dans une autre partie du corps. La définition actuelle est plus restrictive et repose sur la notion d'un déséquilibre d'homéostasie des tissus du système nerveux central (SNC). En raison de l'espace limité de la cavité crânienne, les tumeurs cérébrales, si elles ne sont pas toutes mortelles, ont toutes un impact important sur la santé du patient (**Ardailou et Couturier, 2013**).

Les tumeurs du cerveau ne doivent pas être confondues avec les métastases au cerveau. Les premières naissent directement à partir des cellules originaires du SNC, il s'agit des tumeurs primaires. Par contre, les secondes sont des tumeurs dites secondaires, résultat d'une métastase provenant d'un autre organe. Bien que n'importe quel cancer puisse métastaser dans le cerveau, les plus fréquents sont ceux du poumon, du sein ainsi que les mélanomes (**Andaloussi, 2010**).

I.2-Mécanismes de formation

Comme dans la plupart des processus de cancérisation, la formation de la tumeur cérébrale est issue de mutations génétiques affectant principalement deux catégories de gènes impliqués dans la tumorigenèse: les oncogènes et les gènes suppresseurs de tumeur. Le déséquilibre entre ces deux types d'effecteurs est principalement à l'origine de la dérégulation de la croissance cellulaire et donc de la croissance tumorale (**Hanahan et Weinberg, 2000**).

I.2.1-Tumeur primitive

La transition d'une cellule à croissance contrôlée normale à une cellule tumorale est un processus multiphasiques (figure 1), nécessitant l'accumulation de modifications au niveau de l'ADN. La première phase, appelée **initiation**, est une étape rapide qui résulte de la présence d'altération irréversible du matériel génétique de la cellule induite par des agents initiateurs (carcinogènes chimiques, virus), mais aussi l'absence de réparation de ces lésions par les

mécanismes normalement mis en place. Une ou plusieurs divisions cellulaires sont nécessaires afin de fixer ces modifications génétiques (Argyle, 2003).

Il s'ensuit alors une seconde phase, la **promotion** durant laquelle des agents promoteurs identique à l'agent initiateur, ou au contraire différent, comme des hormones par exemple, induisent ainsi la croissance de la cellule initiée et la stabilisation de ces lésions (Martinez *et al.*, 2003).

La dernière phase, la **progression** correspond à la conversion de la tumeur bénigne en tumeur maligne. C'est un procédé très complexe qui inclut l'augmentation des modifications génétiques, mais également de modifications non génétiques, aboutissant à la sélection de clones cellulaires présentant un caractère malin (Heron, 2003).

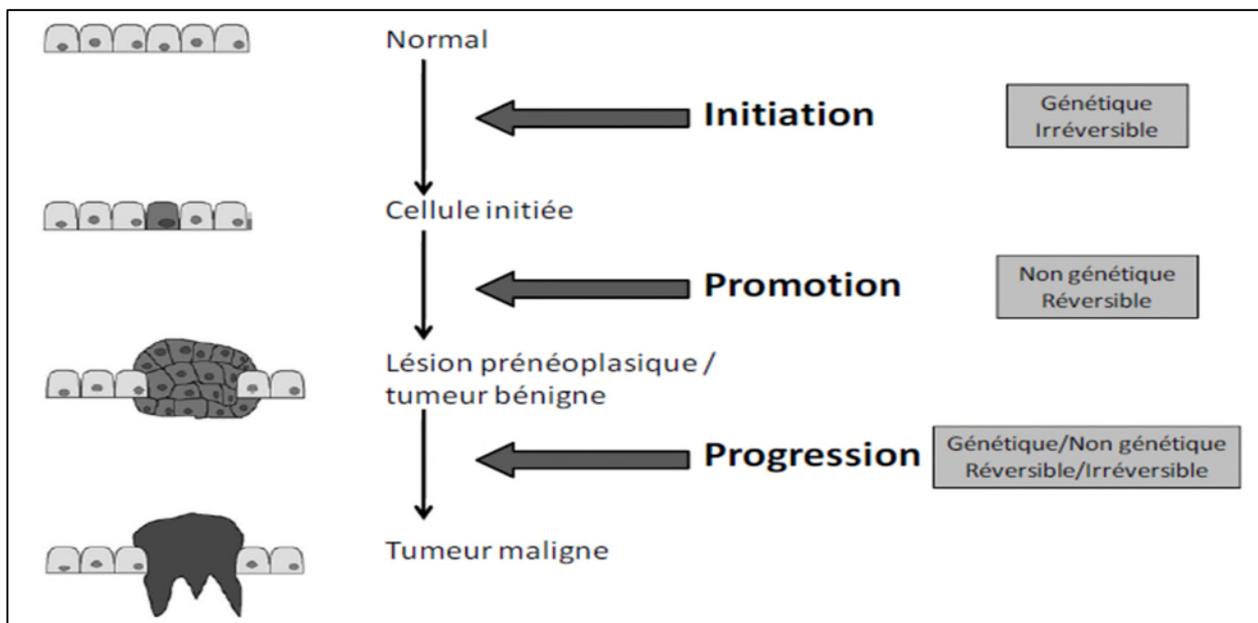


Figure 1 : Les différents étapes d'installation d'une tumeur primitive (Damaison, 2011). Les cellules initiées présentent des dommages génétiques irréversibles. En présence d'un promoteur, ces cellules se transforment en une lésion préneoplasique ou en tumeur bénigne. Au bout de plusieurs autres altérations, génétiques et épigénétiques, une tumeur maligne émerge d'un sous clone de cellules provenant de la lésion bénigne.

I.2.2-Tumeur secondaire

Les tumeurs secondaires représentent jusqu'à 30% de l'ensemble des tumeurs cérébrales, elles résultent de la migration d'embolies tumorales par voie sanguine ou lymphatique et atteint le tissu crânien, où elles vont se développer (Kehrli, 2008).

Ce processus métastatique fait intervenir plusieurs cellules génétiquement programmés pour une action spécifique. Ainsi, certaines seraient spécifiquement impliquées dans les processus d'invasion (enzymes), tandis que d'autres auraient plutôt un rôle dans les phénomènes

d'angiogénèses (Facteurs pro-angiogéniques) ou bien d'adhésion (cadhérines). Ce processus permet de filtrer une très faible proportion des cellules tumorales circulantes qui échappent au système de défense de l'organisme et fondent une nouvelle tumeur (figure 2) (Papin-michault, 2013).

Cette cascade dépend de plusieurs facteurs tels que le microenvironnement local et la plasticité des cellules tumorales favorisée par des mécanismes de transition épithélio-mésenchymateux ((Steeg, 2003).

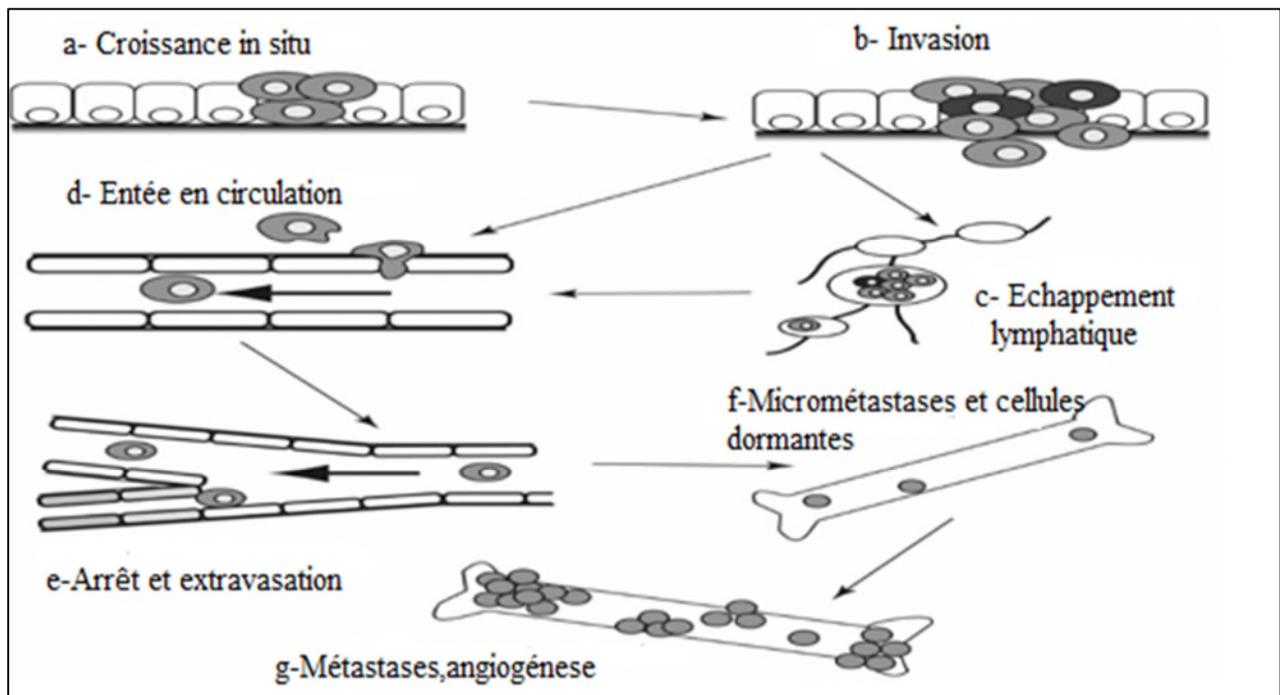


Figure 2 : les différentes étapes d'apparition d'une tumeur secondaire (Laferrrière, 2003). (a) La tumeur se forme localement. (b) Les cellules deviennent invasives, elles traversent la membrane basale et migrent. (c) Les cellules entrent dans la circulation par l'intermédiaire du système lymphatique ou directement dans le système sanguin (d). Les cellules survivent dans la circulation s'arrêtent et entrent dans un nouvel organe (e). Les deux dernières étapes sont parfois appelées la colonisation métastatique. Les cellules isolées survivent dans le nouvel organe (f) et commencent à croître et se vasculariser pour former une métastase visible (g).

I.3-Classification

L'OMS a mis en place une nomenclature des tumeurs cérébrales dans le but d'aboutir à une norme internationale. Cette classification est fondée sur l'origine cellulaire, leur type histologique, et leur degré de malignité. Ce dernier permis de créer un système de grading qui s'échelonne de I à IV (Cohen et Weller, 2007 ; Louis et al., 2007).

- **Grade I**: tumeurs bénignes à croissance lente et généralement bien circonscrites, regroupent les astrocytomes pilocytiques.

- **Grade II:** tumeurs pré-malignes à croissance lente mais aux délimitations imprécises, ce groupe est représenté par les astrocytomes fibrillaires, des oligodendrogliomes et des oligoastrocytomes.
- **Grade III:** tumeurs malignes composées de cellules anaplasiques, à croissance modérée, représentées par des astrocytomes, oligodendrogliomes et oligoastrocytomes anaplasiques.
- **Grade IV:** tumeurs hautement malignes, contenant divers types cellulaires se multipliant rapidement et ayant une forte propension à la nécrose. Les contours tumoraux sont mal définis et angiogéniques. Ce grade est représenté par les glioblastomes multiformes.

La classification de l'OMS fait l'objet de controverses puisqu'elle se base principalement sur les données histologiques. D'autres classifications existent comme celle de l'hôpital Sainte-Anne à Paris, qui prend en compte l'analyse des Images par Résonance Magnétique (IRM) en plus des données histologiques (Daumas-Duport *et al.*, 2000; Varlet *et al.*, 2005).

I.4-Altérations cytogénétiques et moléculaires

Au cours des vingt dernières années de nombreux travaux ont été menés afin de caractériser les altérations génétiques présentes dans les tumeurs cérébrales principalement les gliomes. Ces altérations activent certaines voies de transduction du signal ou entraînent une dérégulation du cycle cellulaire (Guillaudeau, 2012).

Parmi les premières altérations génétiques clairement impliquées dans la tumorigenèse et qui ont été identifiées comme étant fréquemment altérées dans les gliomes on distingue:

- **Altération de la voie de p53**

Les gènes suppresseurs de tumeurs ont également un rôle important dans la cancérogenèse, parmi eux le gène codant pour la protéine p53. Ce dernier code pour une phosphoprotéine impliquée à la fois dans le contrôle du cycle cellulaire, la stabilité du génome et l'induction de l'apoptose (Sansou et Taillibert, 2004).

Dans les glioblastomes, la voie de transduction du signal dépendante de p53 est altérée par des mutations de ce même gène. Dans 90% des cas, ces mutations sont de type faux sens et correspondent souvent à la transition des G/C en A/T (Ohgaki et Kleihues, 2005; Gross *et al.*, 2005). Ces mutations inactiveraient la fonction régulatrice négative de la prolifération cellulaire (Soussi, 2000).

La voie de p53 peut également être altérée suite à une atteinte d'autres gènes qui codent pour des protéines impliquées dans le contrôle des niveaux cellulaires de la p53. Entre autre, la protéine p14/ARF (Alternative Reading Frame), qui contrôle l'activité MDM2 (Mouse Double Minute 2) qui joue un rôle d'ubiquitine ligase pour la p53. La perte des deux copies du gène codant p14/ARF ou l'amplification/surexpression de MDM2 conduit rapidement à une déplétion en protéine p53 (Collins, 2004).

- **Altération de la voie rétinoblastome (Rb)**

La protéine du rétinoblastome est considérée comme la gardienne du point de restriction. Cette protéine, sous sa forme active déphosphorylée, est liée aux facteurs E2F, empêchant ainsi leur transcription durant la phase G₁, elle possède donc une action antiproliférative. Lorsque la cellule atteint le point de restriction, pRb devient hyperphosphorylée et donc inactive sous l'action des complexes cyclines D/CDK4 (cyclin-dependent kinases 4). La liaison entre pRb et le domaine transactivateur des facteurs E2F se trouve rompue, autorisant ainsi la progression du cycle cellulaire (figure 3) (Martinez *et al.*, 2003).

Dans la majorité des glioblastomes, il existe des anomalies qui peuvent toucher l'un des constituants impliqués dans la voie du Rb, telle que la protéine p16 un inhibiteur du complexe cycline D/CDK, ou de pRb elle-même. Si pRb est inactivée, la transcription des facteurs E2F est activée et la cellule entre en division (Ueki *et al.*, 2002).

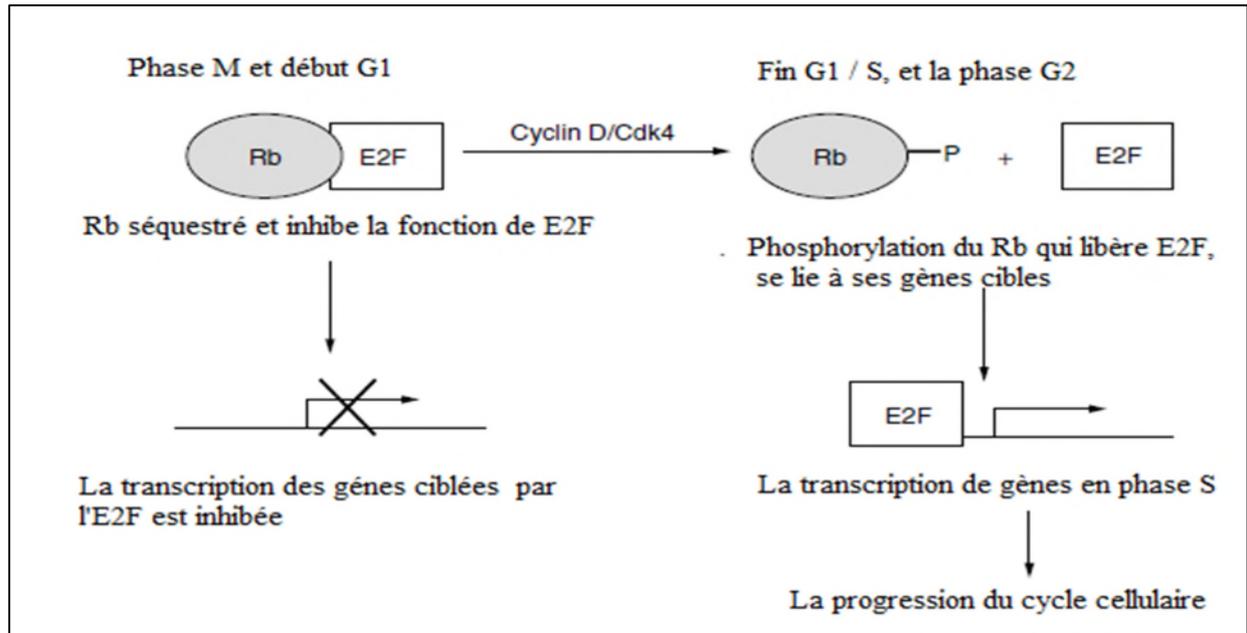


Figure 3 : le rôle de la protéine Rb dans le contrôle du cycle cellulaire (Martinez *et al.*, 2003). Rb non phosphorylée régule négativement la progression de la phase S du cycle cellulaire en se liant à l'E2F. Ce complexe empêche l'activation de la transcription. À la fin de G1, Rb est phosphorylée par le complexe cycline D/CDK4 et ne peut plus séquestrer le facteur de transcription, ainsi ce dernier se lie alors à ses gènes cibles et permet la progression du cycle cellulaire.

- **Mutations du gène isocitrate déshydrogénase (IDH1 et IDH2)**

Les gènes isocitrate déshydrogénase code pour des enzymes impliquées dans le cycle de Krebs. Cette enzyme est localisée dans le cytoplasme et dans le peroxysoxe où elle représente une source de NADPH (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Hydrogen) qui est un cofacteur impliqué dans la protection cellulaire contre les dommages liés au stress oxydatif (Cohen *et al.*, 2013; Kang *et al.*, 2009).

Les mutations touchants ces deux gènes consistent dans la majorité des cas d'une substitution de l'arginine par une histidine et ont pour conséquence une diminution de l'affinité de l'enzyme vis-à-vis de son substrat et l'inhibition de son activité (Balss *et al.*, 2008). Ces mutations ont d'abord été décrites comme étant spécifiques des gliomes avant d'avoir été mise en évidence dans des leucémies myéloïdes chroniques (Marcucci *et al.*, 2010).

- **Inactivation du gène MGMT (MethylGuanine MethylTransferase)**

Le gène MGMT code pour une protéine O6-méthylguanine-DNA méthyltransférase. Cette enzyme est une protéine clé dans la réparation des lésions causées au niveau de l'ADN, par les agents alkylants (Esteller, 2000; Esteller *et al.*, 2004). La méthylation au sein du promoteur du

gène MGMT induit une inhibition de la transcription. Cette modification épigénétique s'observe dans 40 à 57% des cas de glioblastomes (**Bleeker et al., 2012; Hegi et al., 2005**).

- **Rôle de l'EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor)**

L'EGFR est un récepteur appartenant à la famille des récepteurs à activité tyrosine kinase codé par un proto-oncogène. Le gène altéré provoque l'amplification de la production du récepteur du facteur de croissance, et est responsable de la croissance tumorale *via* la perturbation de voies de signalisation. Dans les gliomes la plupart des anomalies aboutissent à la formation d'un transcrit mutant appelé EGFRvIII, cette forme mutante s'observe dans des gliomes de haut grade et surtout dans 20 à 50% des glioblastomes (**Jigisha et al., 2014; Mazzoleni et al., 2010**).

D'autres altération récurrentes sont aussi observées toutefois les gènes impliqués son mal connue. A titre d'exemple, la perte du chromosome 10q est particulièrement fréquente dans les glioblastomes; alors que la délétion conjointe des chromosomes 1p et 19q caractérise les oligodendrogliomes (**Ueki et al., 2002**).

II.5.Facteurs de risque

Il existe plusieurs facteurs qui peuvent être impliqué dans l'apparition des tumeurs cérébrales parmi eux on peut citer:

II.5.1.Facteurs Génétiques

Certaines caractéristiques génétiques communes sont retrouvées dans les tumeurs du système nerveux central. Il peut s'agir soit de la surexpression d'un oncogène, soit de la perte d'une zone spécifique d'un chromosome (la perte totale ou partielle du chromosome 17 dans les médulloblastome) dont le résultat est l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs L'étude de Claus et ces collaborateurs ont démontrés une sur-expression d'un proto-oncogène Myc dans le cancer du sein et les méningiomes. Lorsque le proto-oncogène Myc subit des mutations ou est sur-expressimé, stimule la prolifération des cellules et agit comme un oncogène (**Claus et al, 2008**).

II.5.2.Facteurs environnementaux

Ces facteurs regroupent les radiations ionisantes (les rayons X, les rayons γ ou encore des substances radioactives), qui sont les seuls facteurs de risque indiscutables pour l'apparition de tumeurs cérébrales. (**Doll et Wakeford 1997 ; Sadetzki et al., 2005**). Des doses plus importantes de ces radiations données pendant des séances de radiothérapie, ayant pour but de détruire ou de

réduire une tumeur préalablement diagnostiquée, peuvent induire le développement d'une tumeur sur le site de traitement (Cullen *et al.*, 2002).

De nombreux facteurs chimiques peuvent également conduire au développement de tumeurs. Parmi eux les pesticides qui ont des effets carcinogènes. Certains agents de chimiothérapie peuvent aussi avoir un effet carcinogène s'ils sont utilisés sur une longue période (Morris et Dobson, 2001; Navas-Acién *et al.*, 2002).

Des facteurs biologiques peuvent aussi être mis en cause dans le développement de tumeurs. Il peut s'agir de virus, comme par exemple Simian Virus (SV40), virus d'Epstein-Barr (EBV). Ces virus peuvent affecter directement l'ADN cellulaire *via* des oncogènes viraux, ou augmenter le rythme des divisions cellulaires (Cullen *et al.*, 2002).

II. Caractéristiques et physiopathologie des hormones

Les hormones sont des substances sécrétées par des glandes endocrines et elles sont de nature chimique (lipide/protéine). Ces substances ont une fonction de messenger chimique permettant la communication d'un organe vers un autre en passant par la circulation sanguine. Elles sont liées le plus souvent à une protéine de transport. Elles se fixent ensuite sur des récepteurs portés par les organes cibles. Ces récepteurs sont des senseurs précis du milieu extérieur, ils transmettent les messages extracellulaires à l'intérieur de la cellule. Ce mécanisme de communication permet de nombreuses régulations physiologiques, entre autres le développement et la croissance cellulaire mais aussi la maturation du système nerveux (Kroeze *et al.*, 2003).

II.1. Les hormones stéroïdiennes

Les hormones stéroïdes sont des molécules de nature lipidique dérivant du cholestérol (Gottlieb et Beitel, 2004). Ces hormones sont synthétisées dans les cellules glandulaires des surrénales pour les gluco et minéralo-corticostéroïdes, et dans celles des gonades et du placenta dont les dérivés sont impliqués dans l'activité sexuelle. Ces derniers sont synthétisés également au niveau du cerveau en présence de cholestérol indépendamment des glandes endocrines. Elles présentent un caractère lipophile ce qui explique le passage facile de la barrière hémato-encéphalique au niveau cérébrale (Robe and Baulieu, 1990).

Les hormones stéroïdes regroupent divers types représentés dans le Tableau I. Ces hormones ont un mode d'action cellulaire identique. Une fois libérées dans la circulation sanguine, elles peuvent traverser la membrane plasmique des cellules cibles par diffusion passive et se lier à leurs récepteurs spécifiques intra-cellulaires, au niveau du cytoplasme ou du noyau (Brosens *et al.*, 2004). Le complexe hormone-récepteur se dissocie et migre vers le noyau où il se fixe à l'ADN sur

un des éléments de réponse aux stéroïdes. Ce complexe agit alors comme modulateur de la transcription des gènes, modifiant ainsi la fonction cellulaire (**Garrett et Grisham, 2000**).

Les hormones stéroïdes sont susceptibles d’influencés le développement du cancer. En effet, l’évolution des cancers du sein et prostate est affecté par ces hormones. Une étude réalisée sur une population atteinte du cancer du sein conclue qu’un taux d’hormone stéroïdes élevé expose à un risque de cancer ((**Kahal, 2012**). Ceci s’explique par le fait que ces hormones, notamment la progestérone et l’androgène (testostérone convertie en DHT) vont activer les récepteurs dont l’un des rôles est la régulation de gènes impliqués dans la prolifération cellulaire. Ainsi, si leur concentration est augmentée, la prolifération cellulaire le serait d’autant plus élevée, entraînant un accroissement du risque de développer un cancer.

Tableau I: Hormones stéroïdes et leurs intermédiaires métaboliques (**Fahy et al., 2005**)

Stéroïdes	Corticostéroïdes (C ₂₁ prégnane)	Minéralocorticoïdes	prégnénolone · 11-désoxycortisol · corticostérone · aldostérone
		Glucocorticoïdes	prégnénolone · 17-hydroxyprégnénolone · 17-hydroxyprogestérone · cortisol cortisol · cortisone
	Stéroïdes sexuels	Androgènes (C ₁₉ androstane)	déhydroépiandrostérone (DHEA) · androstènedione/5-androstènediol · testostérone · androstanolone (DHT) sulfate de DHEA · épitestostérone
		Œstrogènes (C ₁₈ œstrane)	estétrol · estrone · estradiol · estriol
		Progestagènes (C ₂₁ pregnane)	Progestérone

II.2. Récepteurs des hormones stéroïdiennes et cancer

Des études ont confirmé l’expression de récepteurs des hormones stéroïdes (Œstrogène, Progestérone, Androgène) au niveau des tumeurs cérébrales, notamment les méningiomes. Ces récepteurs pourraient avoir un rôle et une utilité dans l’étude d’apparition de ces tumeurs. (**Rocheffort et al., 2008**).

II.2.1. Récepteurs aux androgènes

Le récepteur aux androgènes (RA) est un bon exemple pour illustrer le pouvoir oncogène de certains récepteurs stéroïdes. En présence de leurs ligands (la testostérone et surtout la dihydrotestostérone (DHT)), le RA stimule les gènes de prolifération cellulaire (figure 4) (**Lacave et al., 2004**). Ce récepteur activé est capable de moduler l’expression de facteurs de transcription. Ainsi, la régulation transcriptionnelle de ces derniers par le RA est responsable de la stimulation de

la transcription de différentes métalloprotéases impliquées dans l'invasion des cellules cancéreuses prostatiques (Cai *et al.*, 2007).

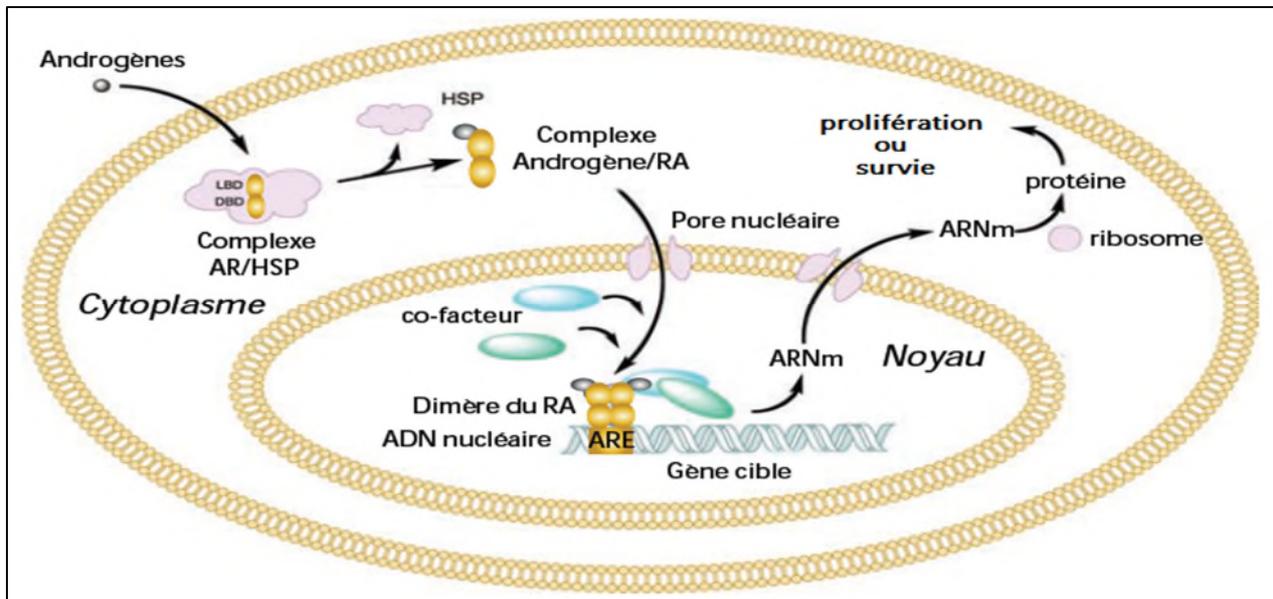


Figure 4 : Principales étapes du mécanisme d'action du récepteur des androgènes (Lumbroso *et al.*, 2006). La liaison des androgènes au RA active le récepteur et régule la synthèse de nouvelles protéines suite à l'activation de la transcription de gènes contenant des ARE (Elément de Réponse à l'Androgène) dans leur voisinage. En l'absence de ligand le RA est cytoplasmique, complexé avec des protéines chaperons, comme les HSP90 et 70 qui le maintiennent dans une conformation stable, inactive et de haute affinité pour le ligand.

Le RA, qui est une phosphoprotéine, présente plusieurs sites de phosphorylation parmi eux la sérine en position 94 qui se phosphoryle par les voies de signalisation des kinases comme PI3K/Akt, (Phosphoinositol-3-kinase/ Acutely transforming retrovirus.), Ras/MAPK ou ERK (Mitogen-Activated Protein Kinase). La capacité des cascades de signalisation à influencer la fonction du RA doit jouer un rôle significatif dans le développement et la progression du cancer. Une augmentation de l'activité des signaux de transduction a été associée à l'acquisition de l'androgéno-indépendance (Lorenzo *et al.*, 2003) (figure 5).

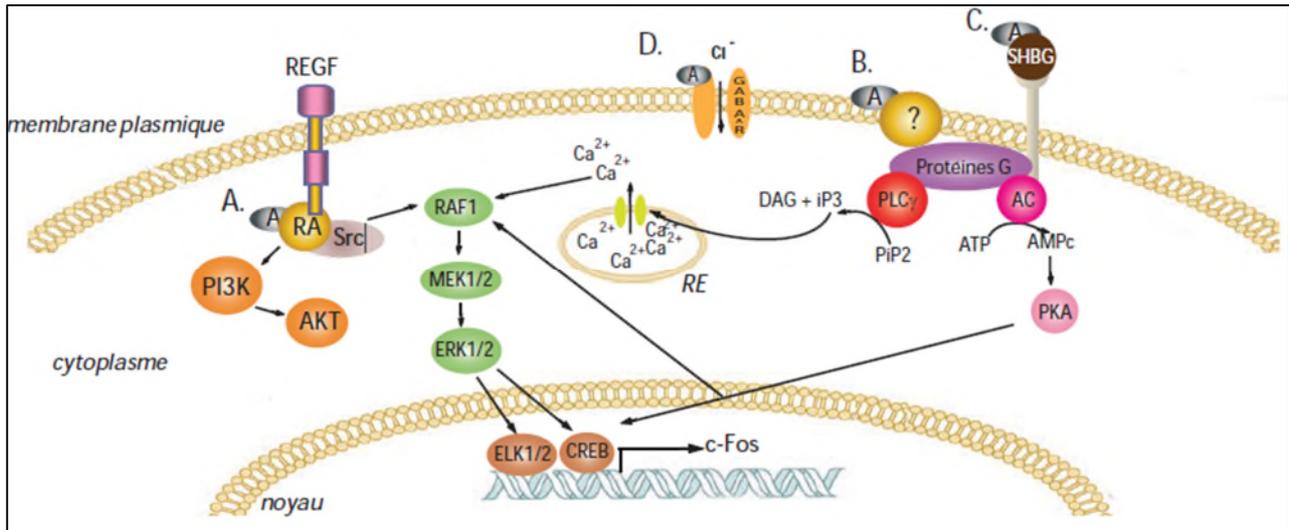


Figure 5: Représentation schématique des effets non génomiques des androgènes (Michels et Hoppe, 2008). Les androgènes sont capables d'activer rapidement diverses cascades de signalisation (A) en formant avec le RA un complexe avec Src au niveau du cytoplasme, en se liant (B) à un hypothétique récepteur membranaire couplé aux protéines G ou (C) au récepteur à la SHBG (Sex Hormone Binding Globuline). (D) Ils peuvent aussi moduler l'activité de canaux ioniques comme le GABAAR (Gamma-AminoButyric Acid type A Receptor).

L'augmentation de l'expression des récepteurs RA en situation pathologique favorise une captation maximale des androgènes, même si la concentration circulante de ces derniers est réduite. Les RA peuvent également être désensibilisés suite à des mutations aux niveaux de leurs gènes. Ceci attribue à ces récepteurs une capacité à lier d'autres ligands non androgéniques qui peuvent l'activer. Des récepteurs aux androgènes ont également été retrouvés dans un grand nombre de méningiomes (69% de tumeurs chez l'homme et 31% chez la femme) (Lacave *et al.*, 2004).

II.2.2. Récepteurs à la progestérone (RP)

La progestérone est une hormone stéroïde importante pour le fonctionnement de l'organisme. En effet, cette hormone régule plusieurs protéines du cycle cellulaire impliquées dans la transition G1/S, ceci induit une accumulation du complexe de Cdk4/Cyclin D1, et une hyper-phosphorylation de Rb. Donc ce mécanisme favorise la progression de cancer (Sherman *et al.*, 2008).

Le récepteur de la progestérone (RP) est une protéine de la superfamille des récepteurs nucléaires. Ces molécules sont des facteurs de transcription dont l'activité transcriptionnelle dépend le plus souvent de leurs liaisons à un ligand (Conneely *et al.*, 2003).

Plusieurs travaux ont démontrés la présence élevée des RP au niveau des tumeurs cérébrales principalement les méningiomes. Toutefois le mécanisme impliqué dans le cycle cellulaire n'a cependant jamais été illustré dans ces tumeurs (Marosi *et al.*, 2008).

II.3. Les hormones hypophysaires

Les hormones hypophysaires sont secrétées sous l'effet de l'axe hypothalamo-hypophysaire, une composante du système nerveux central intervenant dans la régulation des grandes fonctions physiologiques. Il est composé de deux glandes intra-cérébrales, l'hypothalamus et l'hypophyse, la première commande l'hypophyse par l'intermédiaire de neurohormones, la seconde commande les organes internes de manière indirecte par le système endocrinien et ses hormones périphériques.

Diverses hormones sont produites au niveau des deux régions de l'hypophyse (adénohypophyse et neurohypophyse) (figure 6) (**Girard et al., 2005**). La neurohypophyse sécrète deux principaux polypeptides: l'ocytocine et la vasopressine. L'ocytocine est responsable de la contraction des muscles lisses, notamment au niveau des glandes mammaires et de l'utérus. La vasopressine (ou hormone antidiurétique ou ADH) a pour effet principal la rétention de l'eau par les reins et secondairement l'augmentation de la pression sanguine par contraction des cellules musculaires lisses des vaisseaux sanguins (**Marcilhac, 2013**). L'adénohypophyse produit un ensemble d'hormone: hormone de croissance (ou GH), la prolactine, l'hormone stimulant la thyroïde (Thyroid-Stimulating Hormon ou TSH), l'hormone stimulant les follicules (Follicle-Stimulating Hormon ou FSH), l'hormone lutéinisante (Luteinizing Hormon ou LH) et les dérivés de la proopiomélanocortine. La GH, l'ACTH (AdrenoCorticoTropic Hormone) et la prolactine sont des protéines à simple chaîne protéique, alors que la FSH, la LH et la TSH sont des glycoprotéines (**Sissoko, 2002**).

L'hypothalamus contrôle la sécrétion des hormones gonadotropes hypophysaire (LH et FSH) par l'intermédiaire d'un facteur unique de régulation qui sécrète une neuro-hormone, la GnRH (Gonadotrophin Releasing Hormone). Ces hormones agissent *via* un récepteur à sept domaines transmembranaires contrôlant la croissance des gonades, leurs différenciations et la production de Stéroïdes (**Ouezzani, 2013**).

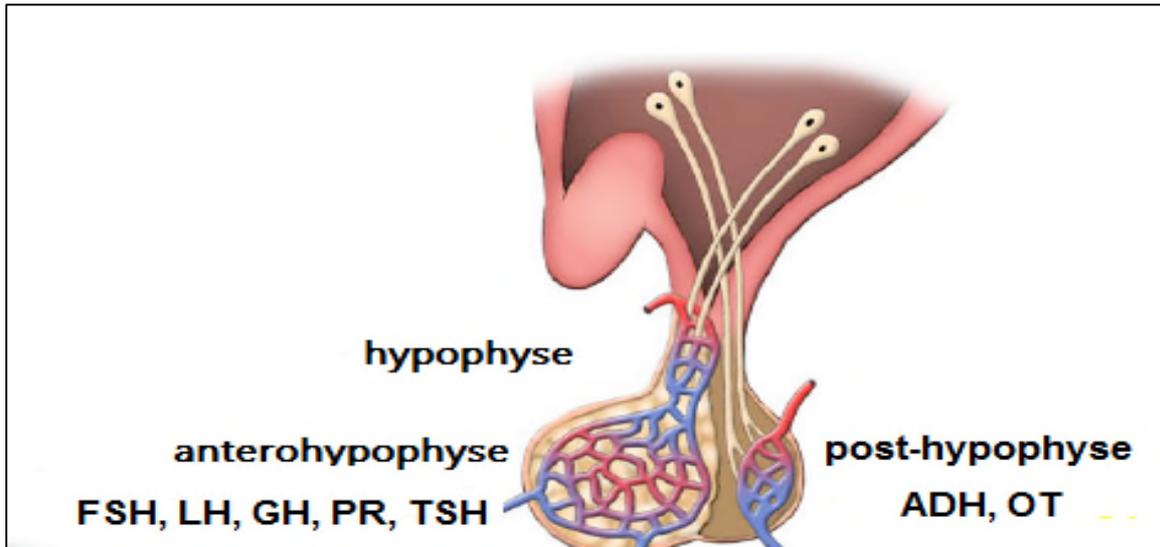


Figure 6 : les hormones hypophysaires (Rumeur, 2012). Le post-hypophyse sécrète deux principaux polypeptides : l'ocytocine (OT) et la vasopressine (ADH). L'antéhypophyse produit un ensemble d'hormone : hormone de croissance (GH), la prolactine, l'hormone stimulant la thyroïde (TSH), l'hormone stimulant les follicules (FSH), l'hormone lutéinisante (LH).

Le récepteur d'hormone folliculo-stimulante (R-FSH) est sélectivement exprimé par les cellules somatiques (Sertoli chez le mâle et les cellules de la granulosa chez la femelle). Il active plusieurs voies de signalisation suite à une réponse à l'hormone, principalement la voie de l'AMPC/PKA (protéine kinase AMPC dépendante). L'activation de l'adénylate cyclase par la FSH augmente la concentration intracellulaire en AMPC qui stimule à son tour la PKA. Cette dernière est responsable de la phosphorylation de nombreux facteurs de transcription dont ceux de la famille CREB/CREM qui stimulent la transcription de nombreux gènes (figure 7) (Lécureuil *et al.*, 2007).

Les adénomes hypophysaires représentent 10% des tumeurs cérébrales. Elles sont des tumeurs bénignes développées aux dépens de l'hypophyse en fonction de leur taille et de leur caractère fonctionnel (sécrétant) ou non, peuvent être responsables d'apparition d'un syndrome tumoral hypophysaire ou des syndromes d'hypersécrétion hormonale ou bien un syndrome d'insuffisance antéhypophysaire, portant généralement sur toutes les hormones hypophysaires (Brassier et Poirier, 2007; Castinetti *et al.*, 2008).

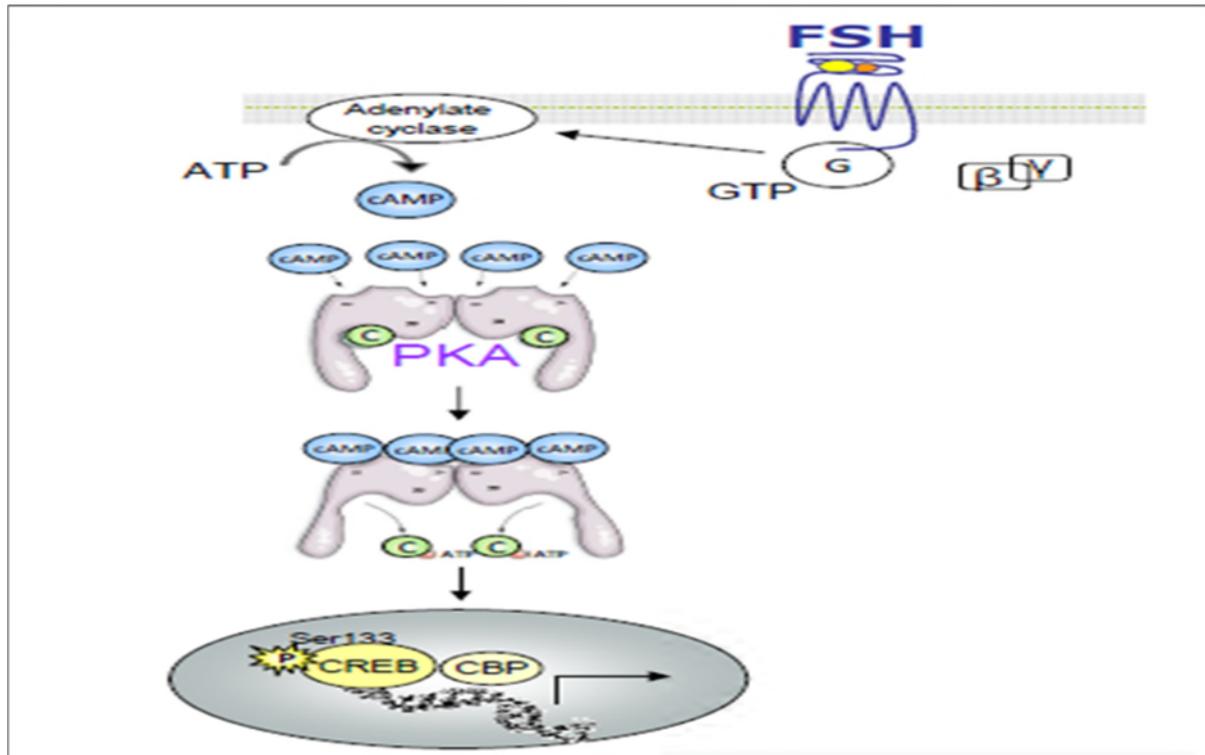


Figure 7: Voie dépendante de l'AMPC et la PKA déclenché par FSH (Murray, 2008).

III. Méthodes analytiques

III.1. Dosage colorimétrique des protéines

Des méthodes colorimétriques sont souvent employées pour déterminer la concentration de protéines totales, dans un mélange complexe par spectrophotométrie d'absorption. Ces méthodes sont basées sur une réaction d'agents chromophores avec les liens peptidiques ou avec certains acides aminés des protéines. Cette réaction donne lieu à une coloration (dans le visible) dont l'intensité ou l'absorbance est directement proportionnelle à la concentration de la protéine. Les méthodes colorimétriques les plus utilisées pour quantifier les protéines sont celles du biuret, de Lowry et Bradford (Perrin, 2011).

- **Méthode du Biuret**

Cette méthode a été développée par Gornall et collaborateurs en 1949 qui ont appliqué la réaction du biuret pour obtenir une méthode quantitative de dosage des protéines. Ce dosage est basé sur la formation, en milieu alcalin, d'un complexe de coloration violet-pourpre entre des ions cuivriques et les liaisons peptidique des protéines. Le complexe de coordination résultant, présente un maximum d'absorption à 540-550 nm (Thibault et Tremblay, 2002).

Cette méthode est relativement rapide mais elle est peu sensible (1-6 mg/ml). Elle n'est pas rigoureusement spécifique des protéines, divers substances peuvent interférer sur le dosage et donné une réaction colorée. Les risques de réduction des ions cuivrique par les sucres réducteurs

contenue dans l'échantillon à doser, en milieu alcalin, limite l'utilisation de cette méthode (Gavrilovic *et al.*, 1996).

- **Méthode de Lowry**

Cette méthode a été développée par Lowry et collaborateurs en 1951 qui ont combiné la réaction du biuret et la réaction de Folin-Ciocalteu. Cette dernière réagit avec les tyrosines et les tryptophanes pour donner une coloration qui s'ajoute à celle du biuret avec une absorption maximum aux environs de 750 nm. Cette technique est très sensible peut détecter jusqu'à 5 à 10 µg/ml de protéine, mais de nombreuses substances peuvent interférer durant le dosage tel que: le saccharose, le tris, le glycérol, et de nombreux détergents (Bradley *et al.*, 2007).

- **Méthode de Bradford**

C'est une technique mise au point par Bradford et collaborateurs en 1976. Elle utilise un colorant, le Blue de Coomassie G-250 (annexe 2) ajouté à la solution de protéine dans des conditions de pH acide. Le G-250 se lie à la protéine au niveau de l'arginine, le tryptophane, la tyrosine, l'histidine et la phénylalanine par des interactions non-covalentes. En solution, il possède une forme cationique rouge qui absorbe à 470nm. Une fois lié aux protéines, il devient anionique d'une couleur bleue et absorbe à 595nm (Bradley *et al.*, 2007).

Cette méthode très sensible (2-5 µg de protéines) est très rapide. Elle est aussi assez résistante à la plupart des interférents qui nuisent à la plupart des autres méthodes. Seuls les détergents, comme le Triton, le dodecylsulfate de sodium (SDS), et des bases fortes interfèrent avec cette méthode (Tsaffrir et Selinger, 1996).

Pour doser les protéines par la méthode de Bradford trois types de solution sont nécessaires dont le détail sera cité dans la partie pratique :

- ✓ une solution de concentration connue d'une protéine référence ou standard par rapport à la protéine à doser (BSA).
- ✓ une solution de la protéine à doser dont on veut déterminer la concentration
- ✓ une solution de réactif de Bradford qui développe une coloration en réagissant avec des acides aminés spécifiques de ces protéines.

III.2- Dosages des hormones

III.2.1- Dosages immunologiques

III.2.1.1-Principe général

Les techniques de dosage immunologique permettent de mesurer la quantité des substances biologiques telles que les hormones, au niveau du liquide biologique principalement le sang. Ces méthodes de dosage peuvent être classées selon différentes catégories. On distingue les méthodologies permettant le suivi d'une réaction réalisée à une interface solide liquide de celles impliquant une réaction en milieu homogène liquide. On connaît également les dosages employant un seul anticorps, ou deux anticorps reconnaissant des épitopes différents (dosage sandwich). Les méthodes de dosage peuvent également être classées en fonction du type de marqueur ou de la méthode de détection employée (*Assie et al., 2004*)

III.2.1.2-Dosage en phase homogène et hétérogène.

Classiquement, on distingue deux types de dosages suivant l'intervention éventuelle d'une étape de séparation des complexes immunologiques. Les dosages en phase homogène sont réalisés dans un seul et même milieu. Ils sont utilisés lorsque la formation du complexe Ag/Ac modifie le signal porté par le traceur. La formation de ce complexe peut alors être suivie directement en mesurant le signal global de la solution. Ainsi, la mesure est effectuée sur l'ensemble des constituants de l'équilibre immunologique, sans qu'il soit nécessaire d'effectuer une séparation préalable.

A l'inverse, les dosages en phase hétérogène font intervenir, après réaction immunologique, une étape de séparation du traceur non complexé de celui engagé dans les complexes Ag/Ac. Cette phase regroupe deux types de dosages, compétitif et non compétitif. (*Charlier et Plomteux, 1996*).

- **Dosage compétitif et immunométrie**

Les dosages par compétition sont basés sur une compétition entre un antigène marqué (Ag*) et un antigène non marqué (l'hormone) pour la fixation sur les sites de liaison de l'anticorps (paratope) dont sa quantité est limitée. La concentration en antigène non marqué est soit connue pour établir la courbe d'étalonnage, soit inconnue dans les échantillons. Plus la concentration en Ag est importante, plus la liaison du traceur est déplacée: le signal obtenu est donc généralement inversement corrélé à la concentration en Ag (*Benoist et al, 2008*).

Dans le cas des dosages immunométriques, le traceur correspond à un anticorps marqué. Le principe consiste à prendre l'antigène à doser en sandwich entre deux anticorps, qui sont utilisés en

excès par rapport à l'antigène. Généralement, le signal augmente avec la concentration en antigène à doser. L'intérêt majeur de ce dosage réside dans l'emploi de réactifs en excès, favorisant la formation de complexes et aboutissant à une meilleure sensibilité (10 à 1000 fois) que les dosages par compétition (figure 8) (Herbomez et Sapin, 2007).

En revanche, cette méthode implique le plus souvent la fixation simultanée de deux molécules d'anticorps sur l'analyte, elle est moins aisément applicable au dosage des molécules de faible masse molaire. Il faut en effet pour cette méthode disposer de deux anticorps reconnaissant deux épitopes différents sur l'antigène (ou anticorps complémentaires) (Creminon *et al.*, 1995).

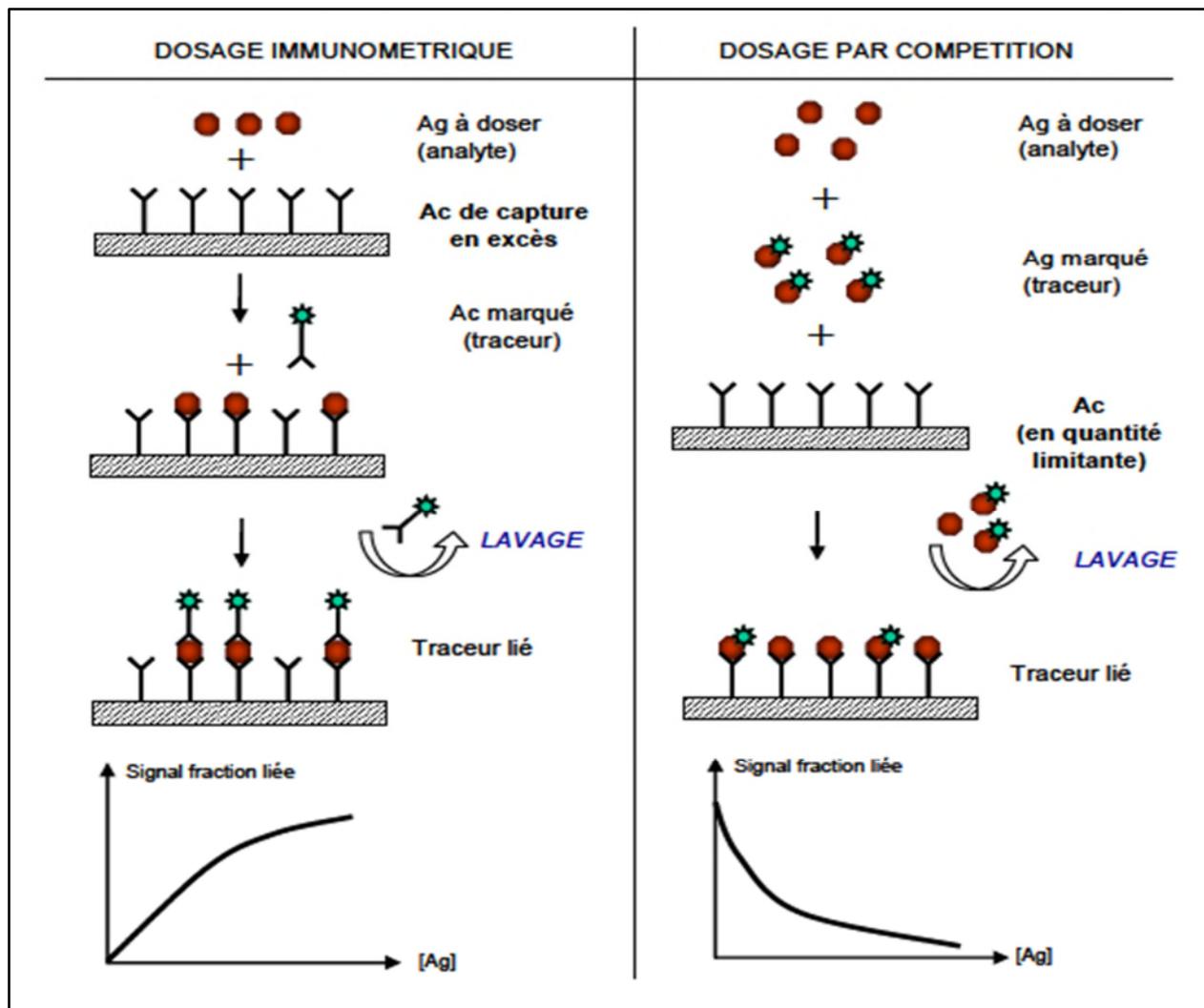


Figure 8 : Schéma sur les dosages immunométrique et compétitif (Herbomez et Sapin, 2007). Dans le dosage immunométrique, l'analyte est pris en sandwich entre deux anticorps. Alors que le dosage compétitif, l'analyte et le traceur rentrent en compétition pour la fixation sur les sites de liaison de l'anticorps.

II.2.1.3. Méthodes de détection

La plupart des dosages immunologiques emploient des molécules marquées permettant la révélation du complexe immunitaire formé. Ce signal est porté par un marqueur lié (de façon covalente

ou non) à l'anticorps ou l'antigène. De nombreux marqueurs peuvent être employés. Il s'agit le plus souvent d'enzymes (avec formation d'un produit coloré ou luminescent), de marqueurs fluorescents, luminescents ou radioactifs (**Pelizzola et al., 1995**).

- **Les dosages radio-immunologiques**

Les premiers dosages développés utilisaient des traceurs radioactifs, utilisant notamment le Tritium (3H) et l'Iode 125 (125I), ce dernier étant le marqueur le plus utilisé en raison de sa forte activité spécifique. Les dosages RIA (RadioImmunoAssay) sont en général très sensibles, et permettent une mesure directe du signal. De plus, le marquage radioactif au 3H entraîne très peu de modification de la molécule, préservant ainsi son immuno-réactivité. Cependant, pour des raisons de sécurité, ils nécessitent des précautions importantes de manipulation, et sont rarement entièrement automatisés. La gestion des déchets radioactifs implique un coût important, et il est nécessaire de renouveler fréquemment les traceurs en raison de leur radioactivité décroissante (**Herbomez et Sapin, 2007**).

- **Les dosages immuno-enzymatiques**

De nombreuses méthodes de dosage immuno-enzymatique (EIA, pour Enzyme ImmunoAssay) se sont développées. La détermination de la concentration d'antigène marqué se fait en utilisant un substrat, qui conduira après réaction avec l'enzyme à la formation d'un produit portant le signal (généralement coloré, fluorescent ou chimiluminescent). Ces dosages permettent d'atteindre de très bonnes sensibilités (jusqu'aux atto-moles, et même zepto-moles d'analyte) notamment grâce au phénomène d'amplification du signal inhérent au turnover de l'enzyme (**Pépin et al., 1997**). Les enzymes les plus utilisées sont la peroxydase de raifort, la phosphatase alcaline. En général, ces enzymes sont utilisés avec le type hétérogène avec une mesure indirecte du signal. Après élimination du traceur non engagé dans les complexes immunologiques par une étape de séparation, le substrat est ajouté, après réaction enzymatique, le produit formé est quantifié (**Herbomez et Sapin, 2007**).

- **Dosages immunologiques par fluorescence**

Ces méthodes ont été très développées ces dernières années en raison de leur haute sensibilité et de leur rapidité. Elles permettent en effet une mesure direct, évitant toute étape de révélation (**Harma et al., 2000**).

Il existe principalement 4 types de dosages immunologiques par fluorescence (en plaque de microtitration): les dosages basés sur l'utilisation d'une enzyme, ceux reposant sur une mesure de

l'anisotropie de fluorescence, les dosages en temps résolu et les dosages par FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) (**Schultz *et al.*, 2003**).

I- Matériel

I.1- Appareillages, réactifs chimiques et produits

L'ensemble des appareillages et les réactifs chimiques ainsi que les produits utilisés durant ce présent travail sont cités dans l'annexe 1.

I.2- Matériel biologique

Nous avons collecté 13 échantillons sanguins dont 5 échantillons appartiennent aux patients atteints des tumeurs cérébrales et 8 échantillons pour les patients non tumoraux au niveau du CHU de Khelil Amran (tableau II). Ces derniers sont soumis à une centrifugation pendant 10 min à une vitesse de 1500 rotation/min à 4°C. Le surnageant de chaque échantillon est récupéré puis conservé à 4°C.

Tableau II : La répartition des patients selon l'âge et le sexe et leurs caractéristiques.

N° Echantillons	Age (ans)	Sexe	caractéristique
197	56	F	Méningiome
201	52	H	Leucémie (tumeur possible)
210	34	H	Tumeur intracrânienne
214	53	H	Hémorragie méninge
217	22	F	Hydrocéphalie
223	04	F	Hydrocéphalie
248	04	H	Hydrocéphalie
250	46	F	Tumeur hypophysaire
271	53	H	Méningiome
273	30	H	Traumatisme crâniens
309	69	F	Mal formation
315	66	H	Hématome sudorale
329	21	H	Tumeur intracrânienne
330	23	F	Témoin sain

II- Méthodes

II.1- Dosage des protéines

II.1.1- Préparation des solutions

- La solution BSA : préparation de 5ml de la solution BSA à une concentration de 1mg/ml.
- La solution du réactif de Bradford : cette solution est préparée selon les instructions de fabrication citée dans le tableau I, la solution obtenue est mise sous agitation magnétique pendant 30 min, puis filtré par papier walttmen et conservé a 4C° (**Bradford, 1976**).

Tableau III : la composition du réactif de Bradford

Les réactifs	La quantité
Bleu de coomassie G250	75mg
Ethanol (99.5 %)	37,5ml
Acide phosphorique (85 %)	37ml
L'eau distillée	637,5ml
Volume totale	500ml

II.1.2- Méthode de Bradford

II.1.2.1- Courbe d'étalonnage

A partir de la solution mère de BSA (1mg/ml), on a préparé cinq tubes contenant cette solution à différentes concentrations (représentée dans le tableau II) dans le but d'obtenir une gamme d'étalon. La mesure d'absorbance a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595nm, après addition du réactif du Bradford aux solutions de BSA précédemment préparées, puis incubé pendant 20min à l'obscurité.

Tableau IV: Gamme d'étalonnage pour le dosage des protéines par la méthode de Bradford.

BSA (mg/ml)	0,2	0,4	0,6	0,8	1
BSA (µl)	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	80	60	40	20	0

Pour le dosage des protéines une dilution 1/50 (20 µl du plasma avec 980µl d'eau distillé pour un volume totale de 1000 µl) a été réalisée pour chaque échantillon, à partir de cette nouvelle concentration un volume de 50 µl de chaque échantillon est ajouté à 1450 µl de réactif de Bradford.

On laisse le mélange incuber pendant 20 min à obscurité puis on mesure les absorbances à la même longueur d'onde déjà utilisé.

II.2-Dosage des hormones

Le dosage des différentes hormones FSH, LH et la progestérone a été effectués au niveau de laboratoire d'analyse médical du Dr LALAOUI K. Ces dosage ont été réalisées par une méthode d'immunologie de type compétition en phase hétérogène, révélé par électrochimiluminescence, réalisé sur l'automate Elecsys 2010.

Elecsys 2010 est un automate d'immunologie multiparamètres, possède plusieurs compartiments principalement :

- **Une partie échantillons** : Constituée de carrossel qui est divisé en deux parties, des portoirs pour les réactifs (accepte 15 packs de réactifs pour optimiser le dosage d'un bilan complet).et des portoirs pour les échantillons (30 positions pour les échantillons).
- **Une unité de pipetage** : Comprend l'aiguille d'échantillonnage qui permet de pipeter l'ensemble des composants requis pour les analyses (échantillon, fluide de dilution, réactifs) sur les cuvettes réactionnelles.
- **Une unité de lavage / déchets** : Comprend un conteneur contient un liquide de lavage qui sert à nettoyer l'aiguille après chaque pipetage un autre conteneur contient de l'eau distillée permet de rincer le système avant le pipetage .le troisième conteneur recueille les eaux usées (déchets).

II.3.Analyse statistique

Des analyses statistiques ont été effectuées en utilisant un logiciel de statistique GraphePad Prism pour la comparaison des différentes concentration des protéines totales selon les divers paramètres le sexe, la pathologie et l'âge.

III-Résultats et discussions

- **Résultat de la gamme étalon**

Suite au résultat obtenu lors de la mesure des absorbances de la gamme étalon représenté au niveau de l'annexe 2, nous avons tracé la courbe d'étalonnage représenté dans la figure 9.

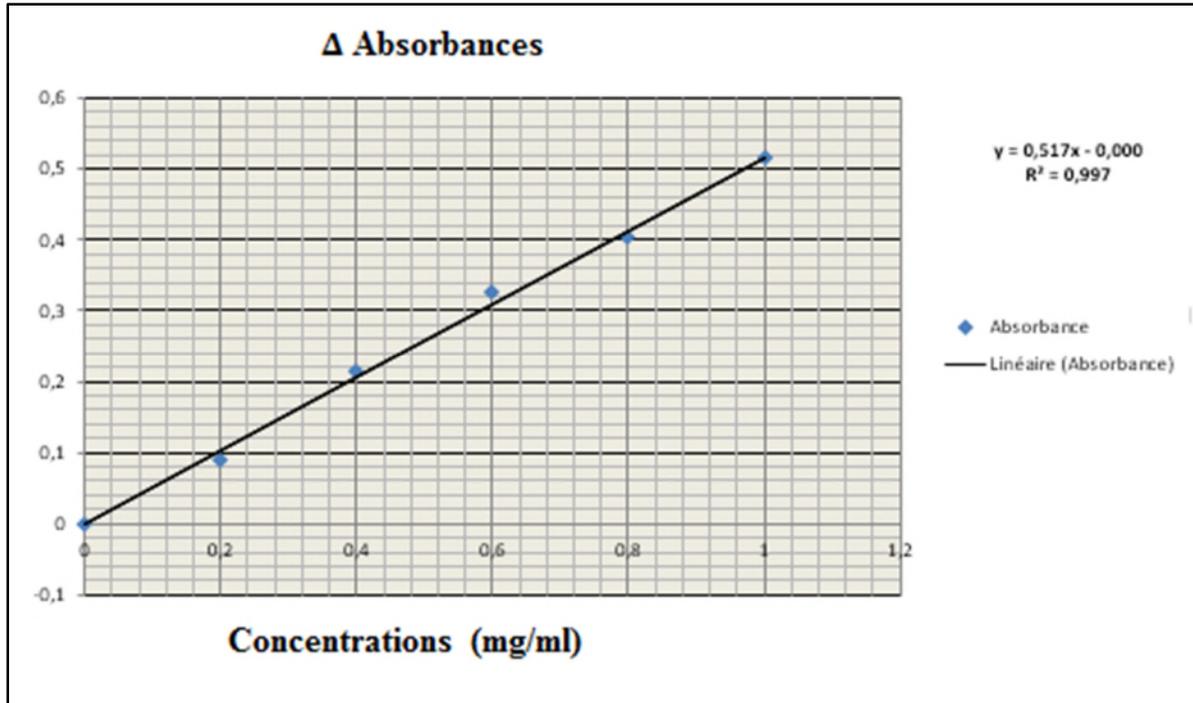


Figure 9 : Résultats de la courbe d'étalonnage. La mesure de Δ absorbance de la gamme étalon est effectuée à 595 nm après addition du réactif de Bradford aux solutions de la BSA et incubation pendant 20 min à l'obscurité.

III.1.Teneurs en protéines totales.

Après la mesure des absorbances des différents échantillons, les concentrations ont été déterminées en utilisant la formule suivante :

Concentration de protéine = Δ absorbance d'échantillon / Δ absorbance standard \times la concentration du standard. Elles sont représentées dans le tableau V.

Tableau V : Résultat de dosage des protéines totales.

N° Echantillons	Age (ans)	Sexe	Δ Absorbance	Concentration totale (mg/ml)
197	56	F	0,664	64,92
201	52	H	0,883	85,39
210	34	H	0,686	66,34
214	53	H	0,679	65,66
217	22	F	0,706	68,27
223	04	F	0,706	68,27
248	04	H	0,664	64,21
250	46	F	0,718	69,43
271	53	H	0,713	66,63
273	30	H	0,816	78,91
309	69	F	0,708	68,47
315	66	H	0,691	66,92
329	21	H	0,729	65,28
Sain	23	F	0,879	85

Blanc : 0.641

Les protéines jouent un rôle central dans la structure et la fonction des cellules. Le sérum contient un mélange de protéines qui diffèrent par leurs origines et leurs fonctions. La quantité de protéine dans le compartiment vasculaire dépend de l'équilibre entre le taux de synthèse et de la vitesse de leurs catabolismes (**Hamad et al., 2009**). Les changements dans les concentrations de protéines dans le sérum ont été associés à des processus pathologiques du cancer et peuvent être le signe de problèmes de santé qui peuvent fournir des informations sur le diagnostic importantes (**Yilmaz et al., 2003**).

Dans cette optique, le but de la présente étude était en première lieu de déterminer les taux de protéines totales dans le plasma des patientes atteintes d'une tumeur cérébrale en les comparant avec les non tumoraux. Ces résultats pourraient aider à une détection préliminaire des tumeurs cérébrales en observant les variations de concentrations en protéine plasmatique chez les patients.

Les résultats obtenus ont montré qu'aucune différence significative des concentrations des protéines totale n'est trouvée entre les patients tumoraux et non tumoraux. Alors que l'étude menée par Hamad et collaborateur en 2009 a révélé que il ya une augmentation des taux de

protéines totales chez les patients atteints de tumeur cérébrale (**Hamad et al, 2009**). Ces résultats peuvent être expliqués par une perturbation de la perméabilité de la barrière hémato encéphalique qui permet ainsi le passage des protéines du liquide céphalorachidien (LCR) vers le sang. En effet, dans une étude parallèle il fut montré que les taux de protéines du LCR de patients (> 40 ans) atteints de tumeur cérébrale étaient plus élevés que les témoins. Nos résultats contradictoires s'expliquent probablement un échantillonnage faible par rapport aux études précédentes (n=12 et n=165 respectivement).

III.1.1. Concentrations des protéines plasmatiques en fonction du sexe

Des mesures des protéines plasmatiques chez les patients tumoraux des deux sexes ont montré qu'il n'y a pas de différence notable entre les femmes et les hommes [66-69 mg/ml] (figure 10). Ces résultats sont en accord avec l'étude apporté par Hamad et collaborateurs en 2009 qui ont montré un motif similaire puisque les concentrations des protéines totales chez les deux sexes atteints de tumeur cérébrale étaient identiques, dans cette même étude il fut montré que ces concentrations sont inchangées au niveau salivaire chez les deux sexes (**Hamad et al, 2009**). Une étude parallèle montre que les taux de protéines dans le LCR chez des patients tumoraux ne variée pas selon le sexe.

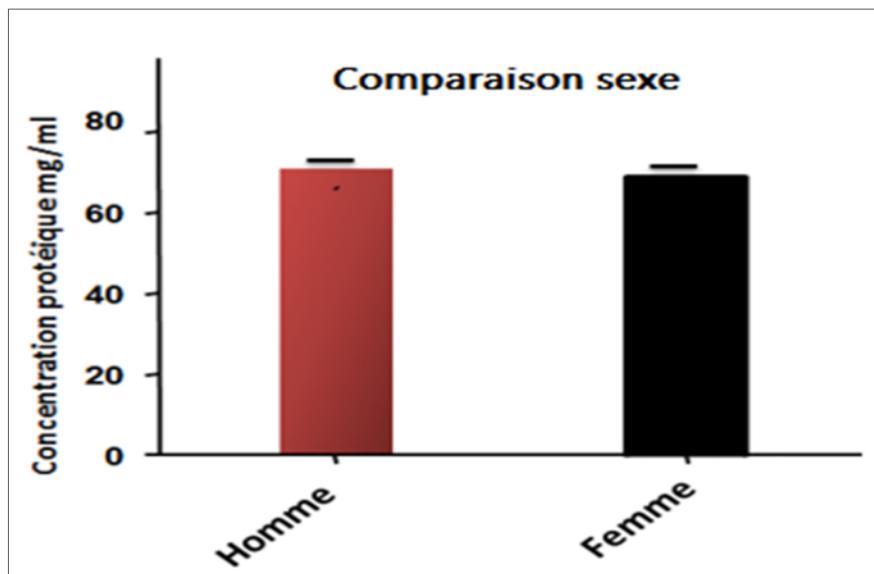


Figure 10 : Concentration protéique chez les patients atteints de tumeurs cérébrales selon le sexe. Le dosage des concentrations de protéines totales chez les patients tumoraux, Homme, n=3 et Femme, n=2.

III.1.2. Concentrations des protéines plasmatiques en fonction de la pathologie

Une étude statistique établie entre les patients tumoraux (T) et les patients non tumoraux (NT) chez les hommes a montré qu'il n'y a pas une différence significative entre les taux plasmatiques de ces patients ($p > 0.05$) (figure 11A). En parallèle, aucune différence de taux protéiques plasmatiques entre les T et NT chez les femmes n'a été observée (figure 11B). Cependant, Ces résultats sont en contradiction, avec les résultats retrouvés avec l'étude menée par Hamad et collaborateurs où ils ont montré une augmentation significative des niveaux de protéines totales dans le sérum et la salive de patients atteints de tumeurs cérébrales primaires par rapport à celle de sujets témoins.

Augmentation des taux protéiques dans l'étude précédente peut être expliquée sur la base que l'ensemble des patients atteints de cancer synthétise des protéines de diverses formes telles que : la C-réactive, des enzymes et des immunoglobulines ainsi que d'autres protéines (Hamad *et al.*, 2009).

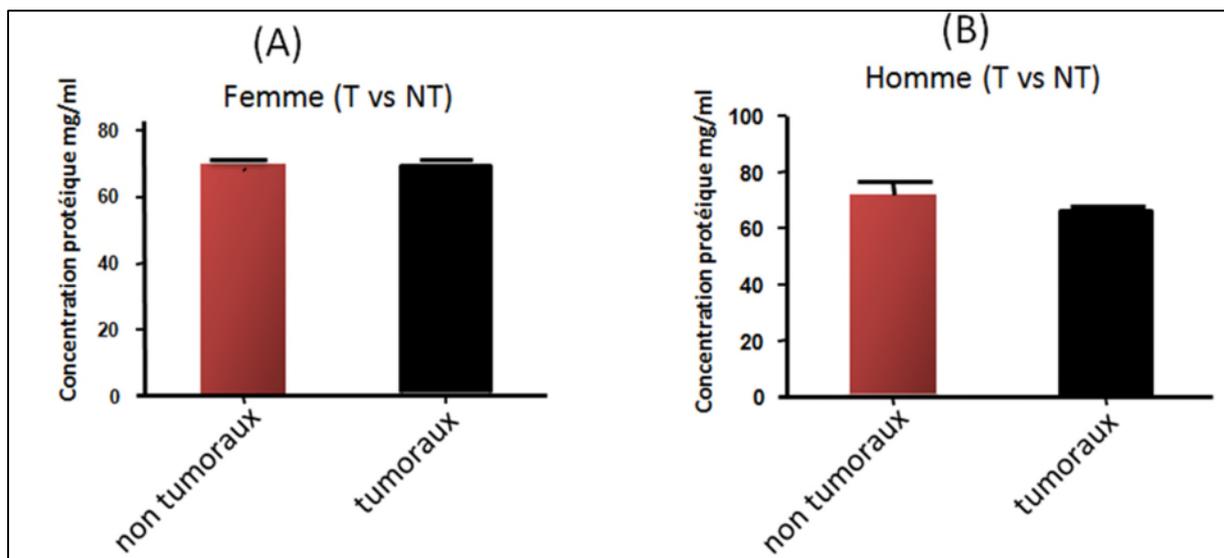


Figure 11 : concentration protéique chez les patients tumoraux et non tumoraux selon le sexe. (A) l'analyse statistique par le test de *Mann-Whitney* a été réalisée en comparant entre les concentrations protéiques dans le plasma des hommes T/NT ($p > 0.05$). (B) une comparaison de concentration protéique dans le plasma des femmes T/NT tumoraux.

III.1.3. Concentrations des protéines plasmatiques en fonction de l'âge

➤ Les tranches d'âge 20-40ans

D'après les résultats obtenus lors d'une comparaison entre les T/NT et Sain (S) on a remarqué une légère augmentation des concentrations protéiques dans le plasma du sujet sain (S) par rapport aux T et NT. Cette étude ne peut être confirmée que par une étude statistique,

puisque le nombre d'échantillons des sujets sains dans notre étude est égal à un (figure 12, graphe gauche).

➤ **Les tranches d'âge 40-60ans**

Une étude statistique a été réalisée sur cette tranche d'âge pour comparer entre les patients T/NT. Dont les résultats sont non significatif ($p < 0.05$)

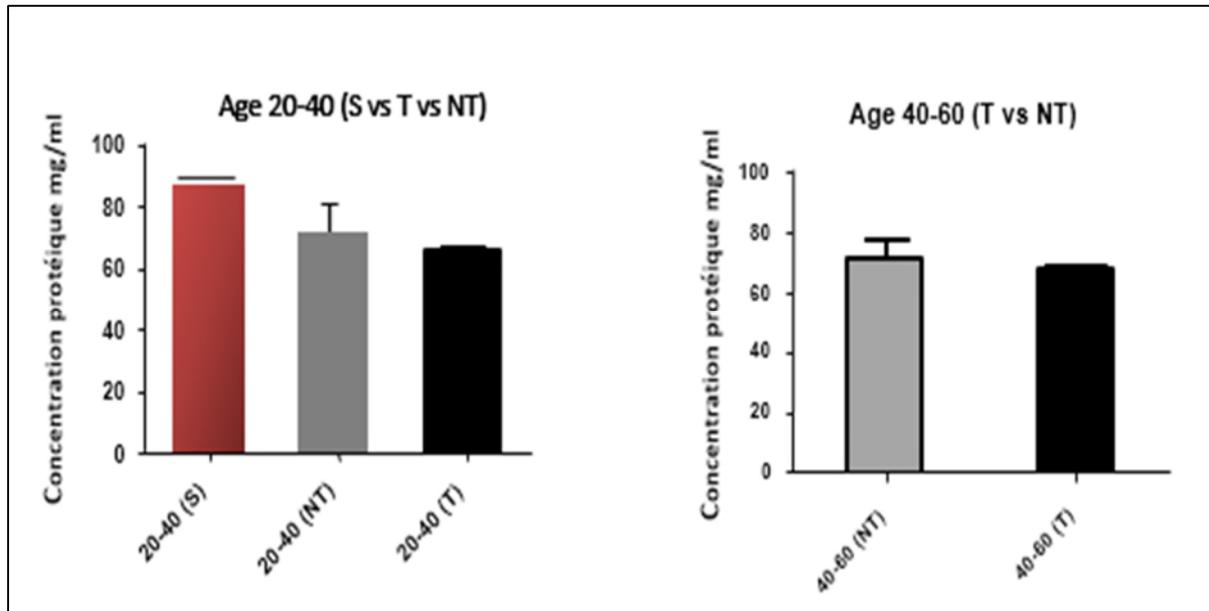


Figure 12 : différentes concentration protéique en fonction des tranches d'âge (20-40 ans) et (40-60 ans) des patients T, NT et S.

Les résultats de dosage sont toutefois non concluant quant à leur efficacité dans le diagnostic et pronostic des tumeurs cérébrales. De ce fait, dans la continuité de ce travail nous avons changé d'approche en mesurant les taux plasmatiques d'hormones chez nos patients atteints de tumeurs cérébrales afin de dégager une signature moléculaire spécifique.

III.2. Teneurs en hormones

L'influence des hormones stéroïdes sur les tumeurs cérébrales est reconnue cependant peu d'études ont mené à nos jours pour élucider le rôle de ces hormones dans l'apparition et la progression de ces tumeurs (**Louis et al., 2000**). Le deuxième but de cette étude est de tenter de montrer s'il existe une corrélation entre les concentrations hormonales et les tumeurs cérébrales. Pour ce faire, nous avons analysés les taux plasmatiques d'une hormone stéroïdienne et de deux hormones polypeptidiques, respectivement la progestérone (Pr) et les hormones gonadotropiques FSH et LH chez des sujets tumoraux et non tumoraux et les résultats sont présentés dans le tableau VI.

Tableaux VI : les résultats de dosage hormonal

N° Echantillon	Sexe	Age (ans)	Pathologie	FSH (mUI/l)	LH (mUI/l)	PR (ng/ml)
197	F	56	Méningiome	4,56	9,61	0,23
217	F	22	Hydrocéphalie	5,89	6,81	0,04
250	F	46	Tumeur hypophysaire	73,64	41,73	<0,030
271	H	53	Méningiome	4,37	5,60	2,86
248	H	04	Hydrocéphalie	2,96	8,64	061
329	H	21	Tumeur bénigne	ND	9,87	0,16
273	H	30	Traumatisme crâniens	1.63	0,19	<0,030

ND : non déterminé

Les valeurs physiologiques des différentes hormones analysées sont représentées dans le tableau VII ci-dessous.

Tableau VII : Les valeurs physiologiques des hormones.

Hormone	Valeur normale
FSH (m UI/l)	F: 2,23-10,08 H: 0,95-11,5
LH (m UI/l)	F: 3,31-30,18 H: 0,57-12,07
Pr (n g/ml)	F: 0,91-10,59 H: 0,2-1,4

III.2.1. FSH/LH

D'après les résultats de dosage hormonal les valeurs obtenues sont variables. Les taux de FSH/LH sont dans les normes pour l'ensemble des patients. Toutefois, une augmentation importante est notée chez le patient 250 avec un taux de FSH (73,64 mUI/l) et LH (41,73 mUI/l) supérieure aux normes physiologiques (7 fois et 1,3 fois, respectivement). A noter que le patient 250 est un sujet de sexe féminin âgé de 46 ans, non ménopausée et souffrant de troubles visuels.

La neuro-hormone GnRH sécrétée par les neurones hypothalamiques agit sur la sécrétion des gonadotrophines (FSH et LH) via l'axe hypothalamo-hypophysaire. Cette action est liée à la régulation de la sécrétion de la GnRH contrôlée par les hormones stéroïdiennes principalement l'œstradiol qui exerce un rétrocontrôle positif. D'un autre côté, la progestérone exerce un rétrocontrôle négatif sur cette même sécrétion (**Furelaud et al., 2002**). Une perturbation de l'axe hypothalamo-hypophysaire est observée chez les adénomes hypophysaires. Ceci provoque généralement soit une hyper sécrétion des gonadotropines dans le cas des adénomes fonctionnels (très rare et représente seulement 2% des tumeurs cérébrales) soit une hyposécrétion dans le cas des adénomes silencieux hypophysaires (**Oppenheim et al., 1990**).

Cette élévation peut être probablement expliqué par le déroulement d'un processus de tumorigénèse au sein de l'hypophyse dû à des anomalies moléculaires intrinsèques présentes au niveau des cellules hypophysaires et supposées être à l'origine du développement d'une tumeur à ce niveau (**Sahli et al., 2006**). Les études de physiopathologie hypophysaires ont également portés sur l'analyse du rôle potentiel des facteurs extrinsèques à la cellule hypophysaire (facteurs de croissance, cytokines et peptides hypothalamiques) qui interviennent dans le contrôle de la sécrétion des hormones hypophysaires (**Oppenheim et al., 1990**). L'effet de ces facteurs (stimulants ou inhibiteurs) semble être impliqué lors du développement des adénomes hypophysaires toutefois peu d'études le confirme, et leurs rôles restent hypothétiques (**Nielsen et al., 2006**).

L'adénome hypophysaire se développe le plus souvent entre 35 et 65 ans. D'après des études conduites sur une population de 150 cas d'adénome gonadotrope les résultats des valeurs comparables à notre résultat puisqu'ils ont constatés une hypersécrétion des hormones gonadotropines (FSH et LH) dans le plasma qui varie entre 32,18-84,69 mUI/l (**Ghayuri et al., 2007**). Chez les hommes un dosage de FSH est un marqueur qui peut être utilisé pour le diagnostic d'une tumeur cérébral principalement un adénome gonadotropique (**Kihara et**

al.,2006). Cette hormone est sécrétée en excès dans 93 à 100% des cas d'adénome gonadotrope masculin. Plusieurs études ont montrés que cette hypersécrétion était souvent associée a un adénome hypophysaire (**David et al., 2005**).Les adénomes hypophysaires sont souvent accompagnée avec des troubles visuelles (**Kihara et al., 2006**). Ces troubles peuvent perturbés la sécrétion de mélatonine, cet dernier qui est une neurohormone régule la sécrétions hormonales ,caractérisé par des récepteurs qui sont couplés aux protéines G, spécifiquement les protéines Gi, ces récepteurs dans le cas activé , sont responsables de l'inhibition d'adényl cyclase et ainsi conduit à la diminution de l'afflux cytosolique de calcium induits par GnRH est ainsi peut régulé la sécrétion de FSH et LH (**William et al.,1998**). Dans le cas d'adénome, les cellules hypophysaires ne répondent plus à l'effet de mélatonine par conséquent elles induisent une hypersécrétion de FSH et LH. D'autre part la progestérone régule négativement la sécrétion de FSH et LH, un dérèglement qui provoque une hypersécrétion de progestérone peut induire une hypersécrétion de FSH et LH.

Les résultats obtenus peuvent ainsi être expliqués en se fondant sur ces informations. En effet le sujet 250 (46 ans) qui souffre d'une tumeur hypophysaire, présente des signes neuro-ophtalmologiques, avec un taux élevé de FSH/LH et une diminution accru de progestérone <0.030 ng/ml. Toutes ces informations indiquent l'importance de dosage hormonal (FSH/LH) mais une augmentation de nombre d'échantillon est indispensable pour confirmer nos résultats de même les hypothèses proposée.

III.2.2. Progestérone

Les résultats de dosage de progestérone de l'ensemble des patients est également dans les normes physiologiques, exceptions faite du patient 271 un taux élevé de Pr (2,86 ng/ml) est observée par rapport à la normale (0,2-1,4 ng/l). Ce même patient présente des taux de FHS et LH normaux.

La progestérone joue un rôle important dans la croissance, le développement des tissus reproducteurs femelles, exerce également des effets neuroprotecteurs, stimule la myélinisation des axones et favorise la viabilité des neurones (**Stein, 2001; Nilson et Brinton, 2002**). Le fait que la progestérone soit synthétisé localement dans le cerveau, qu'elle est capable de passer la barrière hémato-encéphalique et étant donné son rôle dans le développement et la progression des tumeurs cérébrales (**Schumacher et al., 2008**) fait d'elle un candidat idéal comme marqueur plasmatique pour le diagnostic et pronostic des tumeurs cérébrales.

Les effets de la progestérone en effet sont relayées par leurs récepteurs (RPr), et sont impliquées dans régulation directe des gènes des cellules nerveuses (**Viroj et al., 2006**). Les anomalies au niveau de ces récepteurs peuvent affecter la fonction normale des cellules neuronale et ainsi participer dans le développement de processus tumoraux (**William et al., 1998**).

Plusieurs études montrent une présence des récepteurs a la progestérone chez les patients atteints de méningiome et montrons dans la plus part de leurs résultats une augmentation des PR (**Ghoumari et al, 2003; Wahab et Al-Azzawi, 2003; Milenkovic et al., 2004; Chargari et al., 2008; Strik et al., 2008**). De plus une analyse immunocytochimique sur les RPr chez 30 patient atteints de méningiome de tout âge et de sexe différents, montre une forte présence de ce récepteur chez les méningiomes masculins (**Chargari et al., 2008**).

Les résultats obtenus peuvent ainsi être expliqués en se basant sur ces dernières données. En effet, le RPr est capable de s'auto activer et induire une signalisation cellulaire qui aboutit à l'activation du gène codant pour les enzymes impliquées dans la production de la progestérone (**Strik et al., 2008**). Cette dernière, à des taux relativement élevés inhibe la Bcl-2 qui est une protéine impliqué dans la mort cellulaire ce qui explique probablement le développement du processus tumoral (**Chargari et al., 2008**). En effet le patient 271 souffre d'un méningiome, ce qui rend les résultats d'autant plus plausible quant à l'utilisation de la progestérone comme marqueur diagnostique et pronostic de e type tumoral.

Les tumeurs cérébrales sont des pathologies qui se caractérisent par une prolifération anormale des cellules. La physiopathologie de ces tumeurs est encore parcellaire, et les recherches dans le domaine du diagnostic et du pronostic ou des traitements de ces tumeurs sont encore trop limitées. C'est pourquoi, il est nécessaire d'élaborer de nouvelles stratégies pour aboutir à une meilleure compréhension des mécanismes biochimiques impliqués dans les tumeurs cérébrales, et notamment de développer de nouvelles formes de dépistage et de diagnostic faisant le lien entre l'état du patient et son évolution clinique.

A cet effet, notre étude s'est axée sur l'identification de marqueurs potentiels de tumeurs cérébrales dans le sérum des patients et ceci en dosant les hormones circulantes. Pour ce faire, nous avons récupérés le sang sur un ensemble des patients atteints de tumeurs cérébrales et d'autres souffrants de pathologies diverses voir totalement sain (témoins) au niveau de l'hôpital de Bejaia.

Les résultats révèlent que les différentes concentrations protéiques étaient dans les normes pour les divers paramètres prisent en compte (sexe, âge et pathologie). De plus, ces résultats montrent qu'il n'y a pas de différence significative entre les concentrations protéiques des tumoraux et des témoins. En conclusion, ces résultats révèlent que l'utilisation d'une méthode colorimétrique pour l'évaluation des concentrations protéiques totales n'est pas spécifique pour évaluer l'état pathologique des patients.

En vue de ces résultats, nous avons effectué des dosages hormonaux principalement pour les hormones sexuelles telles que la FSH, LH et la progestérone. Les résultats montrent une augmentation majeure des taux plasmatiques des hormones FSH et LH chez le patient 250 de sexe féminin âgée de 46 ans et atteinte d'un adénome hypophysaire, et une augmentation de la teneur en progestérone observé chez le patient 271 de sexe masculin âgé de 53 ans souffre de méningiome. En conclusion, il ya une corrélation évidente entre les tumeurs cérébrales et les changements de taux des hormones. Dans le cas de méningiome et adénome hypophysaire la progestérone et FSH/LH sont les candidats les plus susceptibles pour le diagnostic de ces tumeurs.

Toutefois une étude intéressante comme celle-ci doit être en premier lieu réalisée sur plus d'effectifs, donc l'augmentation de nombre d'échantillons sera un avantage pour avancer et affirmer ces résultats, on prenant en compte de plusieurs paramètres comme l'âge et le sexe. Ceci peut permettre d'observé les variations hormonaux, Ainsi l'utilisation d'autre liquide biologique comme les urines et la salive en parallèles avec le plasma va potée plus

d'information sachant que plusieurs études joignent l'importance de ces liquide biologique dans l'étude des variation hormonales (**Siqueira et Dawes, 2011 ; Bigler *et al.*, 2009**).

En deuxième lieu le dosage hormonal doit être accompagné avec une méthode plus précise que l'électrophorèse sur gel polyacrylamide (SDS-PAGE). Cette dernière n'a pas donné des informations satisfaisantes, donc en propose d'utilisé une chromatographie liquide haute pression (HPLC) qui permet l'identification et la séparation des composés chimiques selon leurs polarités. Notons que les hormones stéroïdes et gonadotrophines caractérisé par une polarité intermédiaire, cette méthode permet alors des résultats plus précise qui pourrait apporter une meilleure conclusion sur les variations des hormones chez les patients atteints de tumeurs cérébrales, ces futurs résultats peuvent mener à un meilleur diagnostic de ces tumeurs.

- **Andaloussi. (2010).** Les tumeurs du système nerveux central : anatomie pathologique et difficultés diagnostique. Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine. p : 6-10.
- **Argyle, D. (2003).** The molecular biology of cancer. *In* : Dobson J M et Lascelles BD, editors. *Manual of Canine and Feline Oncology*. 2 ed. Gloucester : British Small Animal Veterinary Association. p : 1-9.
- **Argyle, D.J et Khanna, C. (2007).** Tumor biology and metastasis. *In* : Withrow SJ et Vailldm DM. *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. 4 ed. Saint Louis : Saunders Elsevier. p : 31-53.
- **Assié, G., Nonnenmacher, L., Clauser, E et Bertherat, J. (2004).** Biochimie des hormones et leurs mécanismes d'action. Méthodes de dosage, de biologie moléculaire, et pharmacologie endocrine. Vol 1. p : 93–105.
- **Balss, J., Meyer, J., Mueller, W., Korshunov, A., Hartmann, C et Deimling, A. (2008).** Analysis of the IDH1 codon 132 mutation in brain tumors. *Acta Neuropathol*. Vol 116, n 6. p:597-602.
- **Benoist, J.F., Boiu, D et chevenne, D. (2008).** Dosage des marqueurs biologiques par immunoanalyse. In: Beaudoux J L et Durand. *Biochimie médicale: marqueurs actuels et perspective*.
- **Bigler, L.R., Streckfus , C.F et Dubinsky, W.P. (2009).** Biomarqueurs salivaires pour la détection de tumeurs malignes qui sont à distance de la cavité buccale. *Lab Clin Med*. Vol 29 p :71-85.
- **Bleeker, F.E., Molenaar, R.J et Leenstra, S. (2012).** Recent advances in the molecular understanding of glioblastoma. *J Neurooncol*.
- **Bradford, M. (1976).** A Rapid and sensitive method for the quantitation microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. Vol 72.p : 248-254.
- **Bradley, J.S., Olson, C et Markwell, J. (2007).** Assays for Determination of Protein Concentration. *Current Protocols in Protein Science*. p : 6-9
- **Brassier, G et Poirier, J.Y. (2007).** Les adénomes hypophysaires : mise au point. p : 1-9.
- **Brosens, J., Tullet, J., Varshochi, R et Lam, E. (2004).** Steroid receptor action. *Best.Pract.Res.Clin.Obstet.Gynaecol*. Vol. 18.p : 265-283.
- **Cai, C., Hsieh, C., Omwancha, J., Zheng, Z., Chen, S., Baert, J et Shemshedini, L. (2007).** ETV1 is anovel androgen receptor-regulated gene that mediates prostate cancer cell invasion. *Mol Endocrinol* .Vol 21. p : 1835-1846.
- **Castinetti, F., Reynaud, R., Saveanu, A., Quentie, M., Albarel, F., Barlier, A., Enjalbert, A et Brue, T.(2008).** Déficit hypophysaire combiné multiple : aspects cliniques et génétiques *Encyclopédie Orphanet*.P :2-7.
- **Charlier, C et Plomteux, G. (1996).** La place actuelle de l'immunoanalyse en toxicologie clinique. *immunoanal Biol Spec*. Vol 11.p :225-239.
- **Chargari, C., Lionel, V., Oliver, B., Sylvestre, L., Bernard C et Magne, N. (2008).** Reappraisal of the role of endocrine therapy in meningioma management. Department of Radiotherapy.

- **Cohen, A., Holmen, S et Colman, H. (2013).** IDH1 and IDH2 Mutations in Gliomas . *Curr Neurol Neurosci Rep.* Vol 13, n 5.p :345.
- **Cohen, N et Weller, R. (2007).** Who Classification of Tumours of the Central Nervous System (4th edition). *Neuropathol Appl Neurobiol.*
- **Collins, V. (2004).** Brain tumors: classification and genes. *Journal of Neurology Neurosurgery Psychiatry.* Vol 75 .p:1-2.
- **Conneely, O.M., Jerivic, B.M et Lydon, J.P. (2003).** Progesterone receptors in mammary gland development and tumorigenesis .*J Mammary Gland Biol Neoplasia.* Vol 8.p :205-214.
- **Creminon, C., Dery, O., Frobert, Y., Couraud, J.Y., Pradelles, P et Grassi, J. (1995).** Two-Site Immunometric Assay for Substance P with Increased Sensitivity and Specificity. *Anal. Chem.* Vol 67, n 9. p : 1617-1622.
- **Cullen, J.M et Misdorp, W. (2002)** An overview of cancer pathogenesis, diagnosis, and management. *In : Meuten DJ, editor. Tumors in Domestic Animals.* 4 ed. Ames : Iowa State Press. P : 3-44.
- **Damaison, M.P. (2011).** La pathologie tumorale des lagomorphes. Etude bibliographique pour doctorat vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire. p : 61.
- **Daumas-Diport, C., Beuvone, F., Varlet, P et Fallet-Bianco, C. (2000).** Gliomas: WHO and Sainte-Anne Hospital classifications. *Ann Pathol .*Vol 20.P : 413-428.
- **Doll, R et Wakeford, R. (1997).** Risk of childhood cancer from fetal irradiation. *Br J Radiol,* Vol 70 .p: 130-139.
- **Engels, E.A., Chen, J., Viscidi, R.P., Shah, K.V., Daniel, R.W et Coll. (2002).** Poliovirus vaccination during pregnancy, maternal seroconversion to simian virus 40, and risk of childhood cancer. *Am J Epidemiol.* Vol 160.p : 306-316.
- **Esteller, M. (2000).** Epigenetic lesions causing genetic lesions in human cancer: promoter hypermethylation of DNA repair genes. *Eur J Cancer.* Vol 36, n 18.p:2294-300.
- **Esteller, M et Herman, J. (2004).** Generating mutations but providing chemosensitivity: the role of O⁶-methylguanine DNA methyltransferase in human cancer. *Oncogene .*vol 23, p : 1–8.
- **Gaillard, S., Aqqad, A., Aniba, K et Foubert, L. (2009).** Chirurgie endoscopique des adénomes hypophysaires. *Bull. Acad. Natle Méd,* Vol 193, n 7.p : 1573-1588.
- **Garrett et Grisham. (2000).** Biochimie : récepteur et transmission de l'information d'origine extra-cellulaire. P : 1665-1667.
- **Gast, M.C., Van, C.H., Wessels, L.F., Harris, N., Bonfrer, J.M, Rutgers, E.J., Schellens, J.H et Beijnen, J.H. (2009).** Serum protein profiling for diagnosis of breast cancer using Seldi Tof Ms. *Oncol Rep.* Vol 22.p :205-213.
- **Gavrilovie, M., Maginot, M.J., Schwartz-Gavrilovie, C et Wallach, J. (1996).** Manipulation d'analyse biochimique.in analyse de la quantité d'un spectrophotomètre. n 3. Paris. p : 158-160.
- **Gayurih, M et Liu, JH.** Ovarian hyperstimulation syndrome caused by pituitary gonadotroph adenoma secreting follicle-stimulating hormone *Obstet Gynecol.* Vol 109.p: 547-549.
- **Ghoumari, A.M., Ibanez, C., El-Etr, M., Leclerc, P., Eychenne, B., O'Malley, B., Baulieu, E et Schumacher, M. (2003).** Progesterone and its metabolites increase

myelin basic protein expression in organotypic slice cultures of rat cerebellum .Department of Cell Biology, Baylor College of Medicine.

- **Girard, F., Duron, F et Jublanc, C. (2005).** Exploration de l'ante hypophyse chapitre Exploration biologique. p : 3-15.
- **Gross, M.W., Kraus, A., Nashwan, K., Mennel, H.D., Engenhardt-Cabillic et Schlegel, J. (2005).** Expression of p53 and p21 in primary glioblastomas. *Strahlenther Onkol.* Vol 181, n 3.p:164-71.
- **Guillaudeau, A. (2012).** Etude de marqueurs moléculaires et des variants de l'EGFR dans les gliomes infiltrants de l'adulte. Thèse pour obtenir le grade de Docteur de l'université de Limoges. p : 33-39.
- **Gottlieb, B., Beitel, L.K et Wu, J. (2004).** Nuclear receptors and disease: androgen receptor. *Essays Biochem.*Vol 40.p:121-36.
- **Hablutzel, J. (2009).** Les tumeurs cérébrales et du système nerveux central. Ligue suisse contre le cancer, Berne. p : 8-19.
- **Hamad, A., Ibrahim, M.A., Al-Mohtasib, S.I et Al-Kobasi, K.N. (2009).** Comparative Study on Saliva Proteins in Patients of Brain Tumors and Healthy Individuals. *Trends in Medical Research.* Vol 4. p: 16-23.
- **Hanahan, D et Weinberg, R.A. (2000).** The hallmarks of cancer. *Cell.* Vol 100 ,n 1.p :57-70.
- **Harma, H., Soukka, T., Lonnberg, S., Paukkunen, J., Tarkkinen, P et Lovgren, T. (2002).** Zeptomole detection sensitivity of prostate-specific antigen in a rapid microtitre plate assay using time-resolved fluorescence. *Luminescence.* Vol 15 , n 6.p :351-355.
- **Hegi, M.E., Diserens, A.C., Godard, S et al. (2005).** Clinical trial substantiates the predictive value of O-6-methylguanine-DNA methyltransferase promoter methylation in glioblastoma patients treated with temozolomide. *Clin Cancer Res.* Vol 10, n 6. p:1871-4.
- **Herbomez, M et Sapin, R. (2007).** Les techniques de dosage en Endocrinologie. *Medecine clinique.* n 26.p :2-5.
- **Heron, J.F. (2003).** Histoire générale du cancer. Cancérologie générale. Faculté de Médecine de Caen France. p:1-5.
- **Jemal, A., Siegel, R., Ward, E., Murray, T., Xu, J et Thun, M. (2007).** Cancer statistics. *Cancer Journal for Clinicians.* Vol 57, no. 1. p: 43-66.
- **Jigisha, P., Thakkar., Therese, A. D., Craig, H., Quinn, T. O., Donita, D. L., Jill, S.B et John, L.V.(2014).** Epidemiologic and Molecular Prognostic Review of Glioblastoma. *Cancer Epidemiology, Biomarkers Prevention.* Vol 23, n 10.p :13-19.
- **Kahal, A. (2012).** Rôle des hormones stéroïdes dans la tumorigénèse des méningiomes intracrâniens : résultats préliminaires. Vol 27.
- **Kang, M.R., Kim, M.S., Oh, J.E et al. (2009).** Mutational analysis of IDH1 codon 132 in glioblastomas and other common cancers. *Int J Cancer.* Vol 125, n 2. p:353-5.
- **Kehrli, P. (2008).** Épidémiologie des métastases cérébrales. Vol 45, n 5. Page : 357-357
- **Kihara, M., Sugita, T., Nagai, Y., Saeki, N, Tatsuno, I et Seki K. (2006)** Ovarian hyperstimulation caused by gonadotroph cell adenoma: a case report and review of the literature *Gynecol Endocrinol.* Vol 22.p:110-113

- **Kroeze, W., Sheffler, D.J et Roth, B.L. (2003).** G-protein-coupled receptors at a glance. *J Cell Sci.* Vol 116, n 24 p: 4867–4869.
- **Lacave, R., Larsen, C. J et Jacques, R. (2004).** Cancérologie fondamentale. Paris. P : 46-90.
- **Laferrière, J. (2003).** Interaction des cellules cancéreuses avec l'endothélium vasculaire dans le processus métastatique.
- **Lécureuil, C., Kara, E., Guillou, F., Monniaux, D et Crépieux, P. (2007).** La signalisation FSH a-t-elle un sexe? *Médecine/Sciences.* Vol 23. p: 75-80.
- **Lorenzo, G.D., Bianco, R., Tortora, G et Ciardiello, F. (2003).** Involvement of growth factor receptors of the epidermal growth factor receptor family in prostate cancer development and progression to androgen independence. *Clin. Prostate Cancer.* Vol 2, n 1. p: 50 - 57.
- **Louis, D.N., Ohgaki, H., Wiestler, O.D., Cavenee, W.K., Burger, P.C., Jouvot, A., Scheithauer, B.W et Kleihues, P. (2007).** The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta neuropathologica .* Vol 114.p : 97-109.
- **Louis, D.N., Scheithauer, B.W., Budka, H., Demling, A et Kepes, J. (2000).** Meningiomas. In: Kleihues, P., Cavene, WK. *Tumours of the Nervous System: Pathology & Genetics: World Health Organization International Classification of Tumors.* Lyon: IARC Press. p. 176-84.
- **Lumbroso, S., Paris, F., Audran, F., Philibert, et Sultan, C. (2006).** Génétique moléculaire des insensibilités aux androgène. *Métabolismes Hormones Diabètes et Nutritionnes.* n 3.p :120-122.
- **Marcilhac, A. (2013).** Le système neuro-endocrinien hypothalamo hypophysaire. *Physiologie integre.* P : 2-25.
- **Marcucci, G., Maharry, K., Wu, Y.Z et al. (2010).** 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.* Vol 28, n 14. p:2348-55.
- **Marosi, C., Hassler, M., Roessler, K., Reni, M., Sant, M., Mazza, E et Vecht, C. (2008).** Meningioma. *Crit Rev Oncol Hematol.* Vol 67, n 2.p:153-171.
- **Martinez, J.D., Taylor, D., Parker, M., Fultz, E., Ignatenko, N.A et Gerner, E.W. (2003).** Molecular Biology of Cancer. In : Donald J.A. Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery. Virginia: Department of Medicinal Chemistry School of Pharmacy. p : 1-9.
- **Mazzoleni, S., Politi, L.S., Pala, M et al . (2010).** Epidermal growth factor receptor expression identifies functionally and molecularly distinct tumor-initiating cells in human glioblastoma multiforme and is required for gliomagenesis. *Cancer Res.* Vol 70.p : 7500–7513.
- **Michels, G et Hoppe, U.C. (2008).** Rapid actions of androgens. *Frontiers in Neuroendocrinology.* Vol 29.p :182-198.
- **Millenkovel, S., Berisavac, I et Dubravka. (2004).** Meningiomas - true dependent tumors?
- **Morris, J et Dobson, J. (2001).** Small Animal Oncology. Oxford : *Blackwell Science.* p :4-49.
- **Navas-Acién, A., Pollán, M., Gustavsson, P., Floderus, B., Plato, N et Dosemeci, M. (2002).** Interactive effect of chemical substances and occupational electromagnetic

- field exposure on the risk of gliomas and meningiomas in swedish men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* Vol 11 ,12.p:1678-83.
- **Nilsen, J et Brnton, R. (2002).** Impact of Progestins on Estrogen-Induced Neuroprotection: Synergy by Progesterone and 19-Norprogesterone and Antagonism by Medroxyprogesterone Acetate. Department of Molecular Pharmacology and Toxicology and the Program in Neuroscience, University of Southern.
 - **Ohgaki, H et Kleihues, P. (2005).** Population-based studies on incidence, survival rates and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas. *J Neuropathol Exp. Neurol.* Vol 64, n 6. p : 479-489.
 - **Ouezzani. (2013).** Neuroendocrinologie et Techniques d'analyse biomédicale. *Sciences de la Vie* p : 11-13.
 - **Oppenheim, D.S., Kana, A.R., Sangha, J.S et Klibanshi, A. (1990).** Prevalence of alpha-subunit hypersecretion in patients with pituitary tumors: clinically non functioning and somatotroph adenomas *J. Clin. Endocrinol Metab.* Vol 70:859-864
 - **Papin-Michault, C. (2013).** Etude de l'expression de LAT1 dans les métastases cérébrales. Human health and pathology. Thèse pour le doctorat en médecine. p : 12-40.
 - **Pelizzola, D., Bombardieri, E., Brocchi, A et al. (1995).** How alternative are immunoassay systems employing non-radioisotopic labels? A comparative appraisal of their main analytical characteristics. *Q. J Nucl. Med.*, Vol. 39, n 4. p.251-263.
 - **Perrin, J.F. (2011).** Dosage des protéines totales d'un échantillon. p : 1-3
 - **Pépin, G., Bensoam, J et Nomine, M. (1997).** Technique immunologique. Science et technique. N 8 p : 1-6.
 - **Robe, P et Baulieu, E. (1990).** Les neurostéroïdes : nouvelle fonction du cerveau ? médecine/science. Vol 6 .p: 252-260.
 - **Rochefort, H., Cavailles, V., Chalbos, D et al. (2008).** Cancer hormono-dépendant. In : Milgrom E et Baulieu .*Hormone, santé publique et environnement.* Paris : 15-30.
 - **Sadetzki S., Flint-Richter, P., Starinsky, S., Novikov, I., Lerman, Y., Goldman, B et Friedman, E. (2005).** Genotyping of patients with sporadic and radiation-associated meningiomas. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* Vol 14 , n 4.p:969-76.
 - **Sahli, R., Christ, E.R., Seller, R., Kappeller, A et Vajtai, I. (2006).** Clinicopathologic correlations of silent corticotroph adenomas of the pituitary: report of four cases and literature review *Pathol Res Pract.* Vol 202.p: 457-464.
 - **Sanson, M., Thillet, J et Hoang-Xuan, K. (2004).** Molecular chang in gliomas . *Curr Opin Oncol.* Vol 16. p : 607-613.
 - **Schultz, E., Perraut, F., Neuburger, L.M. et Volland, H. (2003).** Etude d'un système de dosage immunologique par fluorescence de très haute sensibilité. *Colloque "Méthodes et Techniques optiques pour l'industrie.*
 - **Sissoko, A. (2002).** Affections endocriniennes en médecine interne de l' hôpital du Point G. Thèse, Med, Bamako. p : 6-23.
 - **Siqueira, W.L et Dawes, C. (2006).** Les protéomique salivaires: défis et perspectives *Proteomics Clin Appl.* Vol 5. p: 575-579.
 - **Sherman, L., Michael, A., Boris, J., Boonyaratanakornkit, V., Eileen McGowan., Cheskis et Dean, P. (2006).** EdwardsThe Role of Extranuclear Signaling Actions of Progesterone Receptor in Mediating Progesterone Regulation of Gene Expression and the Cell Cycle. *Molecular Endocrinology* Vol 21, n 2,p :359–375.

- **Schumacher, M., Sitruk-Ware, R et Alejandro, F.D.(2008).**Progesterone and progestins: neuroprotection and myelin repair.
- **Soussi, T. (2000).**The p53 tumor suppressor gene: from molecular biology to clinical investigation. *Ann N Y Acad Sci.* Vol 910.p :121-37.
- **Steeg, P.S.(2003).** Metastasis suppressors alter the signal transduction of cancer cells. *Nat Rev Cancer.* Vol 3, n 1. p. : 55-63.
- **Strik, H.M., Strobel, I., Pietsch-Breitfeld, B., Iglesias-Rozas, J.R., Will, B et Meyermann, R. (2008).** The impact of progesterone receptor expression on relapse in the longterm clinical course of 93 benign meningiomas. Vol 16.p : 265–270.
- **Stein, D.G. (2001).** Brain damage, sex hormones and recovery: a new role for progesterone and estrogen? *Trends Neurosci.* 24. p : 386–391
- **Thibault, R et Tremblay, M. (2002).** Le dosage des protéines, Expo-Journal, rapport interne, département des Sciences de la nature. Cégep de Saint-Félicien .p :2.
- **Tsaffir, Z et Selinger, Z. (1996).** Linearization of the Bradford Protein Assay Increases Its Sensitivity: Theoretical and Experimental Studies. *Analytical Biochemistry.* Vol 236.p :302–308.
- **Ueki, K., Nishikawa, R., Nakazato, N et al., (2002).** Correlation of histology and molecular genetic analysis of 1p, 19q, 10q, TP53, EGFR, CDK4, et CDKN2 in 91 astrocytic and oligodendroglial tumors.*Clin Cancer Res.* Vol 8. p : 196-201.
- **Varlet, P., Jouvret, A., Miquel, C., Saint-Pierre, G., Boneuvon, F et Daumas-Duport, C. (2005).** Criteria of diagnosis and grading of oligodendrogliomas or oligo-astrocytomas according to the WHO and Sainte-Anne classifications. *Neurochirurgie* .Vol 51.p : 239-246.
- **William, S., Baldwin et Carl Barrett, J. (1998).** Melatonin: Receptor-Mediated Events That May Affect Breast and Other Steroid Hormone-Dependent. *Cancers Laboratory of Molecular Carcinogenesis, National Institute of Environmental Health Sciences, Research Triangle Park,*
- **Yilmaz, I.A., Akçay, T., Cakatay, U et al. (2003).** Relation between bladder cancer and protein oxidation *Int Urol Nephrol.*Vol 35.p :345-350.

- **Astrocytomes pilocytiques:** regroupent les astrocytomes de grade I majoritairement non infiltrants, non évolutifs et indolents. Elles représentent 5-6% de l'ensemble des gliomes et sont des tumeurs du SNC les plus fréquentes de l'enfant. Ces tumeurs se développent préférentiellement au niveau du parenchyme cérébelleux, du nerf optique, de la région diencephalique.
- **Astrocytomes fibrillaires:** appeler aussi astrocytomes diffus appartient au grade II représentent 10 à 15% des astrocytomes. Elles sont toujours infiltrants et évolutifs, progressant systématiquement en astrocytomes de haut-grade et entraînant le plus souvent le décès prématuré du patient. Ces tumeurs s'observent le plus souvent chez l'adulte jeune, 60% étant diagnostiquées entre 20 et 45 ans. Elles se localisent préférentiellement au niveau du compartiment supratentorial (lobes frontaux, pariétaux et temporaux) mais peuvent s'observer dans toutes les régions du SNC.
- **Glioblastomes multiformes :** Appartient au grade IV, elles se rencontrent le plus souvent chez l'adulte et se localise préférentiellement au niveau des hémisphères cérébraux. Son pic d'incidence varie de 45 à 75 ans Dix pourcents des GBM se développent à partir d'un astrocytome diffus de grade II qui se transforme. Ces tumeurs se caractérisent toujours par une hyperplasie endothéliale de type pseudoglomérulaire et la présence de foyers de nécrose.
- **Hématome sudorale :** représente une hémorragie sous-durale, désigne l'épanchement de sang dans les espaces méningés. À la suite d'un traumatisme crânien avec lésion des petites veinules qui traversent l'espace sous-dural. L'hémorragie a lieu entre l'arachnoïde qui entoure le cerveau et le feuillet interne de la dure-mère qui est en contact avec la boîte crânienne
- **Hémorragie méninge :** appelée aussi hémorragie sous-arachnoïdienne, correspond à l'irruption massive de sang dans les méninges, plus précisément dans les espaces sous arachnoïdiens (entre l'arachnoïde et la pie-mère), le plus souvent après une rupture d'anévrisme. C'est un accident grave, parfois mortel, qui impose un transfert urgent en neurochirurgie lorsqu'il est diagnostiqué à temps.
- **Hydrocéphalie :** Correspond à une anomalie neurologique sévère, définie par l'augmentation du volume des espaces contenant le liquide céphalo-rachidien (LCR). Cette dilatation peut être due à une hypersécrétion de LCR, un défaut de résorption, ou une obstruction mécanique des voies de circulation.

- **Leucémie** : est une affection hématologique maligne caractérisée par une prolifération anormale et excessive de précurseurs des globules blancs, bloqués à un stade de différenciation, qui finit par envahir complètement la moelle osseuse puis le sang.
- **Méningiome** Les méningiomes représentent environ 20% des tumeurs intracrâniennes, et sont considérés comme des tumeurs bénignes développée à partir des cellules arachnoïdiennes, de préférence au niveau ou tout près des sinus veineux de la dure-mère. Macroscopiquement, le méningiome est de siège extra cérébral, refoulant le cerveau qu'il n'envahit pas, et se présente sous la forme d'une masse arrondie.
- **Métalloprotéases** : sont des enzymes protéolytiques caractérisées par la présence d'un ion Zn^{2+} lié à 3 résidus histidine, au niveau de leur site catalytique. Elles ont des rôles dans la modification de la matrice extracellulaire .
- **Oligodendrogliomes** : c'est un type de gliome qui prend naissance dans les cellules gliales appelées oligodendrocytes (cellules qui recouvrent et protègent les nerfs). Ils représentent environ 3 % de toutes les tumeurs malignes (haut grade) du système nerveux central Environ 80 % de ces tumeurs ont une anomalie chromosomique.
- **Oligoastrocytomes** : sont des tumeurs hétérogènes sur le plan histologique et moléculaire en raison de leur double composante astrocytaire et oligodendrogliale. Une mutation des gènes (IDH) et la co-délétion des bras chromosomiques 1p et 19q sont des marqueurs moléculaires de meilleur pronostic dans ce type de gliomes.
- **Transition épithélio-mésenchymateuse** : un processus dynamique au cours duquel les cellules perdent leurs caractéristiques épithéliales et développent des propriétés mésenchymateuses, ce qui requiert des modifications architecturales et fonctionnelles complexes.
- **Traumatisme crâniens** : ou traumatisme crânio-cérébral, couvre les traumatismes du neurocrâne (partie haute du crâne contenant le cerveau) et du cerveau. Les séquelles immédiates et à distance des traumatismes crânio-cérébraux sont souvent la conséquence des lésions engendrées sur le système nerveux central (cerveau et moelle épinière cervicale).

Résumé

Les tumeurs cérébrales sont la deuxième cause de décès par cancer chez les enfants de moins de 15 ans et les jeunes adultes jusqu'à l'âge de 34 ans. Ces tumeurs sont aussi la deuxième cause de recrudescence des décès par cancer chez l'homme de plus de 65 ans après le cancer de la prostate. Ces tumeurs ont des conséquences dévastatrices et des signes cliniques et des symptômes induits peuvent résulter de l'effet mécanique de la tumeur et / ou de stimulation chimique / signalisation induite par la tumeur. Ainsi, Le but de la présente étude était en premier lieu de déterminer les taux de protéines totales dans le plasma de patients atteintes d'une tumeur cérébral ont les comparent avec les non tumoraux. En deuxième lieu des dosages hormonaux sont effectué pour comparer leurs concentrations entre les différents patients. Les premier résultats obtenues montre qu'il n'y a pas de différence significative entre les concentrations protéiques des tumoraux et des témoins. Alors qu'une augmentation de taux des hormones FSH/LH chez patients atteints d'adénome hypophysaire a été noter ainsi qu'une variation de taux de progesterone chez les patients atteints de méningiome a été observé.

Mots –clés : tumeur cérébrale - marqueur – dosage hormonal

Abstract

Brain tumors are the second leading cause of cancer death in children under 15 and young adults up to age 34 years. These tumors are also the second leading cause of increase in cancer deaths in men over 65 years after prostate cancer. These tumors have devastating consequences and induced clinical signs and symptoms may result from the automatic effect of the tumor and / or chemical stimulation / tumor-induced signaling Thus, the aim of this study was first necessary to determine the total protein in the plasma of patients suffering from brain tumors have not compare with the tumor. Second hormone assays are conducted to compare their concentrations between patients. The first results obtained showed that there was no significant difference between the protein concentrations of tumor and witnesses. While increased hormone levels FSH / LH in patients reach of pituitary adenoma was noted as well as a progesterone level of variation among patients reach meningioma was observed.

Key word: Brain tumor - markers – dosage hormone.

ملخص

أورام المخ هي السبب الثاني لوفيات بالسرطان عند الأطفال في سن اقل من 15 عام وعند الشباب في سن يعادل 35 سنة. هذه الأورام تعد أيضا السبب الثاني للزيادة الوفيات بالسرطان عند الرجال عن عمر يفوق 65 سنة بعد سرطان البروستات. أو التحفيز /ان هذه الظاهرة لها عواقب وخيمة وعلامات تأثير التلقائي للورم. ان الهدف من هذه الدراسة أولا تحديد كمية البروتين الكلي في البلازما عند المرضى الذين يعانون من أورام المخ مقارنة بمرضى اخرين ثانيا نقوم بإجراء فحوصات هرمون للمقارنة بين تركيزاتها بين الصنفين من المرضى. اظهرت النتائج الاولى التي تم الحصول عليها أنه لا يوجد فرق كبير بين تركيزات البروتين عند المصابين بالورم والشهود. زيادة نسبة الهرمون عند المرضى المصابين بورم في الغدة النخامية كما انه لوحظ ان مستوى البروجسترون متباين عند صنف خاص الا و هو ميننجيوم.

كلمات مفتاحية ورم في المخ –علامة بيولوجية- فحص هرموني