



Neuropathologie et pathologie moléculaire des gliomes

Les gliomes sont les tumeurs primitives du système nerveux central les plus fréquentes. La classification selon l'OMS se base essentiellement sur des critères histologiques et immunohistochimiques. Plus récemment, de multiples altérations cytogénétiques et moléculaires associées à l'initiation et la progression de ces tumeurs ont été mises en évidence et des profils génétiques ont ainsi été incorporés dans la classification de l'OMS. Des tests moléculaires tels que l'hyperméthylation du promoteur du gène MGMT pour les glioblastomes ou la détection de pertes des chromosomes 1p et 19q pour les tumeurs oligodendrogiales en tant que marqueurs pronostiques ou prédictifs supplémentent le diagnostic histopathologique. Dans un futur proche, les progrès accomplis par la technologie des puces ADN vont mener à une classification incorporant des données moléculaires et permettre des thérapies ciblées.

Rev Med Suisse 2009 ; 5 : 1501-4

R.-C. Janzer

Dr Robert-Charles Janzer
Unité de neuropathologie
Institut universitaire de pathologie
CHUV, 1011 Lausanne

Neuropathology and molecular pathology of gliomas

Gliomas are the most frequent primary brain tumours. The WHO classification is essentially based on histological and immunohistochemical criteria. More recently multiple cytogenetic and molecular alterations associated with initiation and progression have been shown and the genetic profiles of tumour entities have been incorporated in the WHO classification. Molecular testing of the MGMT promoter methylation in glioblastoma, predictive for the response to combined radio-/chemiotherapy, and the LOH 1p/19q in oligodendroglial tumours, as prognostic factor supplements the histopathological diagnosis. In the near future array-based profiling techniques will contribute to a refinement of glioma classification and identify targets for more individualized glioma therapies.

INTRODUCTION

Les tumeurs primitives du système nerveux central (SNC) représentent 2 à 3% de tous les cancers. L'incidence est de quinze patients pour 100 000 habitants et la prévalence a été estimée à 69 patients pour 100 000 habitants.¹ Chez les enfants, les tumeurs du SNC sont les plus fréquentes après les leucémies.

Les tumeurs cérébrales primitives les plus fréquentes sont des tumeurs dont la cellule d'origine présumée est une cellule gliale, raison pour laquelle le terme gliome est appliqué à l'ensemble de ces tumeurs. Les gliomes sont classés en fonction de leur morphologie et de leur degré de malignité (I à IV par le système de classification de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) 2007).² La classification histologique et le grade représentent encore à ce jour l'indicateur le plus fiable pour le comportement biologique et le pronostic clinique des gliomes. Les patients avec des tumeurs de grade I peuvent en règle générale être guéris par une résection chirurgicale complète. Les tumeurs de grade II, en dépit d'une croissance lente, récidivent invariablement à plus ou moins long terme après résection chirurgicale et évoluent quasiment toujours vers un gliome de grade III ou IV. Ainsi, la survie médiane des patients avec une tumeur de grade II se situe entre cinq et huit ans. Toutefois, une résection chirurgicale maximaliste permet d'augmenter la durée de survie globale.³ Les gliomes anaplasiques (grade OMS III) progressent rapidement, nécessitent un traitement adjuvant de radio- et/ou chimiothérapie et la survie médiane des patients se situe entre deux et trois ans à l'exception d'un sous-groupe de patients porteurs d'une délétion combinée des bras chromosomiques 1p et 19q, facteur pronostique favorable pour les oligodendrogliomes anaplasiques de grade OMS III. Les tumeurs de grade OMS III peuvent compliquer l'évolution d'un gliome de bas grade ou survenir de novo.⁴ Le grade OMS IV correspond aux glioblastomes, les gliomes les plus fréquents et les plus malins avec une survie moyenne de douze mois pour la majorité des patients.⁵ Un facteur prédictif pour une meilleure réponse au traitement adjuvant de radio- et chimiothérapie combinées est l'hyperméthylation du promoteur du gène de MGMT (O₆-méthylguanine-DNA-méthyltransférase).⁶ Les glioblastomes,



comme les gliomes anaplasiques peuvent compliquer l'évolution d'un gliome de plus bas grade ou survenir de novo.⁷ Malgré un aspect histologique et un pronostic similaires, les glioblastomes de novo et les glioblastomes secondaires correspondent à des entités moléculaires différentes.⁸

La classification OMS des tumeurs du SNC souffre d'un certain manque de reproductibilité interobservateur, en particulier dans les cas difficilement classables ou avec des caractéristiques *borderline*. Il existe également un manque de précision en termes de pronostic, puisqu'un même sous-type histologique peut regrouper des patients avec des survies variables et des réponses variables au traitement. De nombreux travaux récents ont tenté une classification moléculaire, basée sur les altérations cytogénétiques et moléculaires qui surviennent lors de l'évolution des gliomes. Toutefois, il reste encore à identifier la combinaison de marqueurs génomiques, transcriptomiques ou protéiques la plus pertinente qui pourra être utilisée en complément de la classification neuropathologique. Nous allons discuter dans les paragraphes suivants quelques altérations génétiques impliquées dans l'initiation et la progression de certains types de gliomes, en particulier ceux ayant une valeur pronostique ou prédictive.

ALTÉRATIONS CYTOGÉNÉTIQUES ET MOLÉCULAIRES

Les *astrocytomes diffus* de grade OMS II présentent dans 50% des cas une trisomie 7 ou un gain de 7q,⁹ mais les gènes impliqués sur le chromosome 7 ne sont pas encore identifiés. Les trois altérations moléculaires les plus fréquentes sont des mutations de TP53 dans environ 60% des cas, les mutations du gène de l'isocitrico-déshydrogénase 1 (IDH1) dans environ 70% des cas et la surexpression du *platelet-derived growth factor récepteur alpha* (PDGFRA) et de son ligand PDGFalpha dans environ 60% des cas.¹⁰⁻¹³

Les *astrocytomes anaplasiques* (figure 1), grade OMS III, présentent des gains sur le chromosome 7, des mutations du

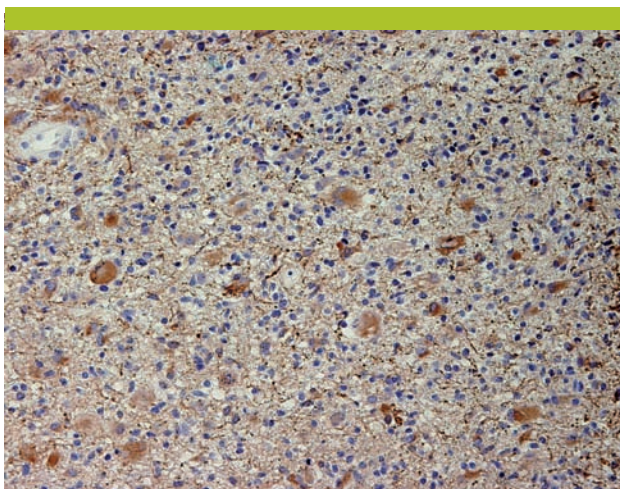


Figure 1. Astrocytome anaplasique, grade OMS III (GFAP)

Population cellulaire polymorphe, exprimant majoritairement le GFAP et présence de multiples mitoses.

TP53 et du IDH1 avec une fréquence superposable à celle observée dans les astrocytomes grade OMS II. En plus, 50% de ces tumeurs développent une perte allélique sur le chromosome 19 et 25% des mutations du gène RB1.^{14,15}

Les *glioblastomes* (figure 2) subissent de nombreuses aberrations chromosomiques et génétiques. En plus de celles déjà présentes dans les astrocytomes de grades OMS II et III, survient fréquemment une perte sur le chromosome 10q. Dans les glioblastomes primaires ou de novo, sans évidence d'une lésion préexistante de plus bas grade, une surexpression du récepteur de EGF, une amplification de MDM2 ou MDM4, une mutation ou délétion du RB1 et une mutation du PTEN sont fréquentes.¹⁶ Par contre, on ne trouve des mutations de TP53 et de IDH1 que dans très peu de glioblastomes primaires (60% à 70% dans les glioblastomes secondaires). Ceci implique que les glioblastomes primaires et secondaires représentent des entités différentes au niveau de la pathogénie moléculaire.¹⁰ Toutefois, les deux entités sont similaires histologiquement et montrent le même comportement agressif avec le même pronostic défavorable. Le fait que ces altérations moléculaires convergent sur la voie p53, pRb1, PTEN/PI3K/AKT pourrait expliquer cette observation.¹⁷

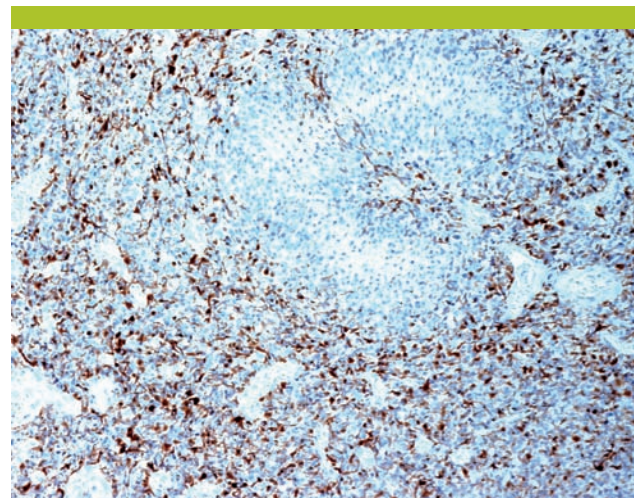


Figure 2. Glioblastome, grade OMS IV (GFAP)

Population cellulaire polymorphe exprimant en partie le GFAP et présence de nécrose avec prolifération de cellules tumorales en pseudopalisades et prolifération microvasculaire pathologique.

Les *oligodendrogliomes* (figure 3), grade OMS II, sont caractérisés au niveau génétique par une perte allélique combinée des chromosomes 1p et 19q dans 60% des cas. Une translocation t(1;19)(q10;p10) est le mécanisme cytogénétique responsable pour cette codélétion.^{18,19} On trouve, avec la même fréquence que dans les astrocytomes diffus, grade OMS II, la mutation de IDH1.¹²

Les *oligodendrogliomes anaplasiques*, grade OMS III, partagent les altérations génétiques observées dans les oligodendrogliomes, grade OMS II. En plus, ils montrent des délétions sur les chromosomes 9p et/ou 10.²⁰

Les *oligoastrocytomes mixtes* (figure 4), de grades OMS II et III, présentent soit des mutations TP53 et perte de 17p, soit une perte allélique combinée des chromosomes 1p et 19q.

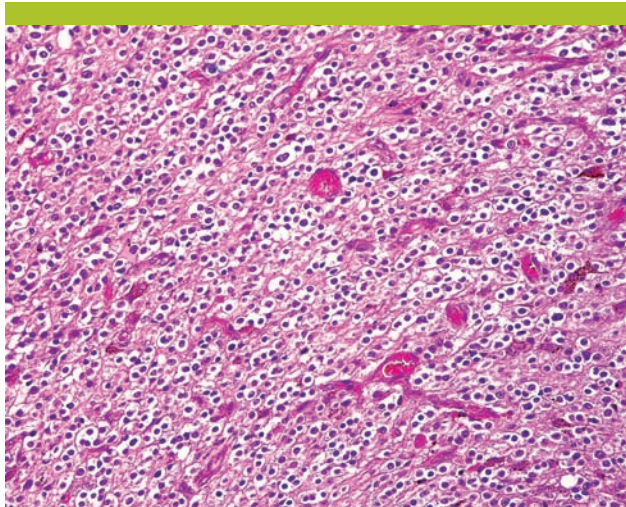


Figure 3. Oligodendrogliome, grade OMS II (HE)

Population cellulaire monomorphe avec halo périnucléaire clair et vascularisation capillaire riche.

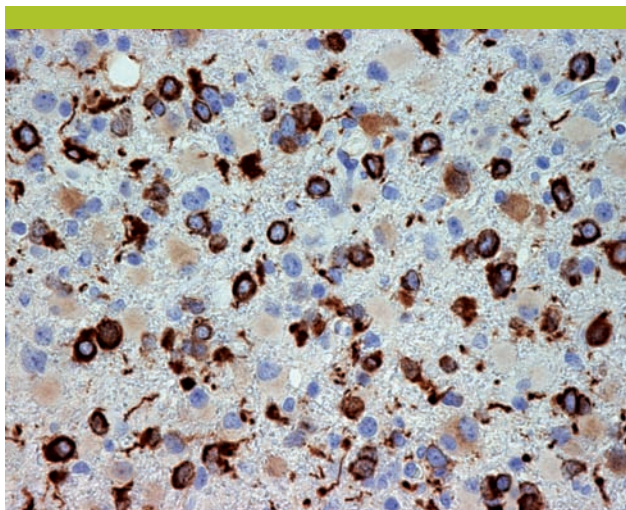


Figure 4. Oligoastrocytome mixte, grade OMS II (MAP-2)

Deux populations cellulaires distinctes avec composante oligodendrogliale montrant une accumulation concentrique périnucléaire de MAP-2 et composante astrocytaire avec cytoplasme abondant, sans expression de MAP-2.

Ceci pourrait rendre compte de l'existence de deux sous-entités génétiquement associées soit aux astrocytomes diffus, soit aux oligodendrogliomes. Des oligoastrocytomes contenant des territoires de nécrose sont actuellement classés comme *glioblastomes avec composante oligodendrogliale*, grade OMS IV. Si des délétions 1p/19q sont rares dans les glioblastomes classiques (moins de 10%), elles sont plus fréquemment observées dans les glioblastomes avec composante oligodendrogliale.

FACTEURS PRONOSTIQUES ET PRÉDICTIONNELS

Un facteur pronostique est un marqueur qui donne une information sur le comportement biologique et l'évolution

naturelle d'une maladie. Un facteur prédictif est un marqueur de réponse à une intervention thérapeutique.

De nombreuses altérations moléculaires ont été étudiées pour établir leur éventuel rôle pronostique ou prédictif. Les deux marqueurs les plus importants dans ce contexte sont la codélétion de 1p/19q et l'hyperméthylation du promoteur du gène du MGMT (O⁶-méthylguanine-DNA méthyltransférase).

Le gène MGMT est localisé sur le chromosome 10q26 et code pour une protéine de réparation qui enlève des groupes alkyles de la position O⁶ de la guanine. Cela représente une des positions importantes pour l'alkylation de l'ADN. Une alkylation thérapeutique dans cette localisation induit une cytotoxicité et l'apoptose. Une concentration élevée de cette protéine de réparation inhibe l'action thérapeutique des agents alkylants et contribue ainsi à l'échec d'une telle thérapie. Dans environ 40% des glioblastomes (et la majorité des oligodendrogliomes), on trouve une inactivation épigénétique du MGMT par hyperméthylation du promoteur avec un effet de diminution de l'activité réparatrice. Une large étude prospective randomisée de phase III chez des patients adultes avec un diagnostic de glioblastome a démontré une meilleure survie pour les patients avec méthylation du promoteur du MGMT. Parmi les patients recevant un traitement combiné de radiothérapie et de témozolamide contre une tumeur contenant un promoteur MGMT méthylé, la survie moyenne observée est de 21,7 mois comparée à 12,7 mois pour les patients sans méthylation du promoteur MGMT.^{6,21} La méthylation du promoteur du MGMT peut être recherchée par des méthodes de PCR spécifiques pour la méthylation (MSP) et d'autres méthodes. Une standardisation des méthodes n'ayant pas encore trouvé de consensus dans la communauté scientifique, ce test n'est recommandé que dans le contexte de protocoles thérapeutiques avec une méthodologie centralisée. Jusqu'à présent, c'est l'étude de la méthylation du promoteur, plutôt que celles de son expression au niveau de l'ARN ou de la protéine qui est le mieux corrélée avec la réponse à la chimiothérapie.^{22,23}

Les oligodendrogliomes anaplasiques avec une perte 1p ou perte combinée 1p/19q montrent une réponse favorable à la chimiothérapie. La moitié de ces tumeurs répondent avec une rémission radiologique complète et les patients ont une survie moyenne de plus de dix ans, comparée à une survie moyenne de deux ans des patients sans perte 1p/19q.²⁴ En prenant en compte le rôle pronostique important du statut 1p/19q chez les patients avec des gliomes anaplasiques traités par radio- et/ou chimiothérapie, les études prospectives actuelles stratifient les patients selon leur statut 1p/19q. Ce test moléculaire va bientôt devenir un complément obligatoire du diagnostic histologique. Le rôle pronostique de la délétion 1p/19q chez les patients avec oligodendrogliomes de bas grade est moins clair et sujet à des publications contradictoires.^{25,26}

CONCLUSION

Même si la classification moléculaire des gliomes est prématurée, des avancées significatives ont été faites ces dernières années pour intégrer les altérations génétiques



dans les procédures complémentaires de diagnostic et dans l'établissement de biomarqueurs prédictifs et pronostiques. Le futur avec la technologie des puces ADN va permettre de mieux comprendre la complexité des gliomes et de développer des thérapies ciblées. ■

Implications pratiques

- > L'histologie et le grade selon la classification OMS représentent encore à ce jour l'indicateur le plus fiable pour le comportement biologique et le pronostic clinique des gliomes
- > De nombreuses altérations moléculaires permettant une meilleure compréhension des mécanismes d'initiation et de progression des gliomes ont été mises en évidence lors des deux dernières décennies
- > La perte chromosomique 1p/19q représente un facteur pronostique pour les tumeurs oligodendrogiales malignes
- > La méthylation du promoteur du MGMT représente un facteur prédictif à la réponse au traitement combiné de radio-/chimiothérapie pour les glioblastomes

Bibliographie

- 1 ** Ohgaki H, Kleihues P. Epidemiology and etiology of gliomas. *Acta Neuropathol (Berl)* 2005;109:93-108.
- 2 WHO Classification of tumours of the central nervous system, 3rd Edition. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Eds. Lyon: IARC Press, 2007.
- 3 Smith JS, Chang EF, Lamborn KR, et al. Role of extent of resection in the long-term outcome of low-grade hemispheric gliomas. *J Clin Oncol* 2008;26:1338-45.
- 4 Van den Bent MJ. Anaplastic oligodendroglioma and oligoastrocytoma. *Neurol Clin* 2007;25:1089-109.
- 5 Sathornsumetee S, Rich JN, Reardon DA. Diagnosis and treatment of high-grade astrocytoma. *Neurol Clin* 2007;25:1111-39.
- 6 ** Hegi ME, Dierens AC, Gorlia T, et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolamide in glioblastoma. *New Engl J Med* 2005;352:997-1003.
- 7 Ohgaki H. Genetic pathways to glioblastomas. *Neuropathology* 2005;25:1-7.
- 8 Maher EA, Brennan C, Wen PY, et al. Marked genomic differences characterize primary and secondary glioblastoma subtypes and identify two distinct molecular and clinical secondary glioblastoma entities. *Cancer Res* 2006;66:11502-13.
- 9 Nishizaki T, Ozaki S, Harada K, et al. Investigation of genetic alterations associated with the grade of astrocytic tumor by comparative genomic hybridization. *Genes Chromosomes Cancer* 1998;21:340-6.
- 10 ** Parsons D, Jones S, Zhang X, et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science* 2008;321:1807-12.
- 11 Watanabe K, Peraud A, Gratas C, et al. p53 and PTEN gene mutations in gemistocytic astrocytoma. *Acta Neuropathol (Berl)* 1998;95:559-64.
- 12 * Blass J, Meyer J, Mueller W, et al. Analysis of the IDH1 codon 132 mutation in brain tumors. *Acta Neuropathol (Berl)* 2008;116:597-602.
- 13 Hermanson M, Funa K, Hartman M, et al. Platelet-derived growth factor and its receptors in human glioma tissue: Expression of messenger RNA and protein suggests the presence of autocrine and paracrine loops. *Cancer Res* 1992;52:3213-9.
- 14 * Reifenberger G, Collins VP. Pathology and molecular genetics of astrocytic gliomas. *J Mol Med* 2004;82:656-70.
- 15 Ichimura K, Schmidt E, Goike HM, et al. Human glioblastomas with no alterations of the CDKN2A (p16INK4A, MTS1) and CDK4 genes have frequent mutations of the retinoblastoma gene. *Oncogene* 1996;13:1065-72.
- 16 * Ohgaki H, Kleihues P. Genetic pathways to primary and secondary glioblastomas. *Am J Pathol* 2007;170:1445-53.
- 17 * Riemenschneider MJ, Betensky RA, Pasadag SM, et al. AKT activation in human glioblastomas enhances proliferation via TSC2 and S6 kinase signaling. *Cancer Res* 2006;66:5618-23.
- 18 Griffin CA, Burger P, Morsberger L, et al. Identification of del(1;19)(q10;p10) in five oligodendrogliomas suggests mechanism of concurrent 1p and 19q loss. *J Neuropathol Exp Neurol* 2006;65:988-94.
- 19 Jenkins RB, Blair H, Ballman KV, et al. A t(1;19)(q10;p10) mediates the combined deletions of 1p and 19q and predicts a better prognosis with oligodendroglioma. *Cancer Res* 2006;66:9852-61.
- 20 Fallon KB, Palmer CA, Roth KA, et al. Prognostic value of 1p, 19q, 9p, 10q and EGFR-FISH analyses in recurrent oligodendrogliomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 2004;63:314-22.
- 21 ** Stupp R, Hegi ME, Mason WP, et al. On behalf of the EORTC brain tumour and radiation oncology groups and the National cancer institute of Canada clinical trial groups. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolamide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol* 2009;10:459-66.
- 22 * Paus C, Murat A, Stupp R, et al. Role of MGMT and clinical application in brain tumors. *Bull Cancer* 2007;94:769-73.
- 23 Preusser M, Janzer RC, Felsberg J, et al. Anti-O6-Methylguanin-Methyltransferase (MGMT) immunohistochemistry in glioblastoma multiforme: Observer variability and lack of association with patient survival impede its use as clinical biomarker. *Brain Pathology* 2008;18:520-32.
- 24 Smith JS, Perry A, Borell TJ, et al. Alterations of chromosome arms 1p and 19q as predictors of survival in oligodendrogliomas, astrocytomas and oligoastrocytomas. *J Clin Oncol* 2000;18:636-45.
- 25 Levin N, Lavon I, Zelikovitch B, et al. Progressive low-grade oligodendrogliomas: Response to temozolamide and correlation between genetic profile and MGMT protein expression. *Cancer* 2006;106:1759-65.
- 26 Weller M, Berger H, Hartmann C, et al. Combined 1p/19q loss in oligodendroglial tumors: Predictive or prognostic biomarker? *Clin Cancer Res* 2007;13:6933-7.

* à lire

** à lire absolument