

Disponible en ligne sur [www.mdn.dz](http://www.mdn.dz), [www.asjp.cerist.dz](http://www.asjp.cerist.dz) et sur [www.atrss.dz](http://www.atrss.dz) /Revue Médicale de l'HMRUO, Volume 9 N°2



Hôpital Militaire Régional Universitaire d'Oran  
Docteur Amir Mohammed BENAÏSSA  
**LA REVUE MÉDICALE DE L'HMRUO**  
B.P 35 AHMED MEDAGHRI ORAN Tél: 041.58.71.79-83  
Fax : 041.58.71.90 Email : [hmruo@mdn.dz](mailto:hmruo@mdn.dz)



## Article original

### Evaluation de l'expression de l'EGFR dans les glioblastomes : données Algériennes

Y. Yousfi <sup>(1)</sup>, AZ. Guessoum <sup>(2)</sup>, R. Boumridja <sup>(2)</sup>, A. Belarbi <sup>(1)</sup>

(1) Service d'Anatomie Pathologique, Département de Médecine, Faculté de Blida

(2) Biotechnologie et Pathologies Moléculaires, Université des Sciences et de la Technologie Houari-Boumédiène



## Résumé

**Introduction** : Les mutations du récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) sont fréquentes dans les glioblastomes (GBMs). L'activation accrue de ce dernier peut se produire par une variété de mécanismes différents, à la fois dépendants et indépendants du ligand. L'EGFR est surexprimé dans la plupart des glioblastomes de novo. La recherche de l'amplification de ce récepteur par immunohistochimie est possible et présente un intérêt diagnostique, pronostique et il semble être une cible thérapeutique prometteuse. L'objectif de ce travail est de déterminer la fréquence de l'amplification de l'EGFR dans notre population

**Matériels et méthode** : 67 échantillons de GBMs confirmés (33 exérèses, 35 biopsies), colligés de façon prospective et rétrospective (entre Janvier 2018-Décembre 2020) dans notre établissement, ont été inclus dans l'étude. L'évaluation du statut de l'EGFR a été réalisée par immunohistochimie (IHC) en adoptant le score de Hirsch. Les tests statistiques du khi2, Fisher, Student, Mann-whitney, Wilcoxon, ANOVA ou de Kruskal-Wallis ont été utilisés pour les comparaisons de 2 ou plusieurs variables.

**Résultats** : l'EGFR était amplifié chez 22 patients (32,4)% avec un ratio de masculinité de 1,4 et une médiane de survie de 64 ans.

**Conclusion** : l'identification de l'amplification de l'EGFR par immunohistochimie présente un intérêt diagnostique, pronostique et prédictif de réponse au traitement. Elle est essentielle pour la prise en charge correcte des patients porteurs de GBMs.

**Mots Clés** : Glioblastome, EGFR, Immunohistochimie

## Summary:

**Introduction** : Mutations in the epidermal growth factor receptor (EGFR) are common in glioblastoma (GBM). Increased activation of EGFR can occur by a variety of different mechanisms, both ligand-dependent and ligand-independent. EGFR is overexpressed in most de novo glioblastomas.

The search for EGFR amplification by immunohistochemistry is possible and is of diagnostic and prognostic interest, and it appears to be a promising therapeutic target. The aim of this work is to determine the frequency of EGFR amplification in our population

**Material and method:** 67 confirmed GBMs samples (33 resections, 35 biopsies), prospectively and retrospectively collected between (January 2018-December 2020) in our institution were included in the study. EGFR status assessment was performed by immunohistochemistry (IHC) adopting the Hirsch score. Chi-square, Fisher, Student, Mann-whitney, Wilcoxon, ANOVA or Kruskal-Wallis statistical tests were used for comparisons of 2 or more variables.

**Results:** EGFR was amplified in 22 patients (32.4%) with a sex ratio of 1.4 and a median survival of 64 years.

**Conclusion:** Identification of EGFR amplification by immunohistochemistry is of diagnostic, prognostic and predictive value for treatment response. It is essential for the correct management of patients with GBMs.

**Keywords:** Glioblastoma, EGFR, Immunohistochemistry

©2022. HMRUO.MDN|Tous Droits Réservés

## Introduction

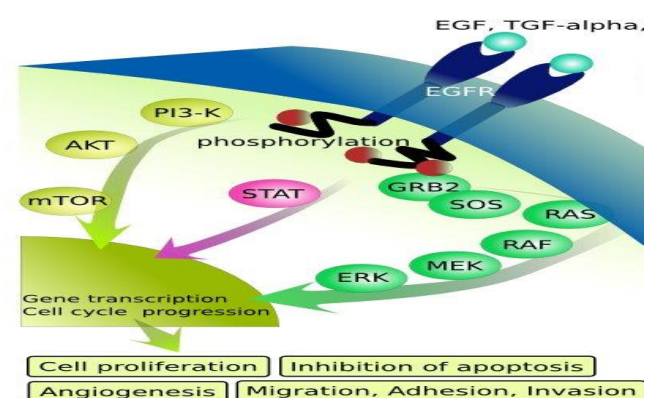
Le glioblastome (GBM) est la tumeur cérébrale maligne la plus fréquente de l'adulte avec une incidence qui varie de 2,0 à 3,3 [1]. En raison de sa croissance infiltrante une résection radicale est pratiquement impossible et la plus part des récidi se produisent à proximité du site d'origine. L'introduction de la radio chimiothérapie classique n'était pas d'un grand bénéfice puisque la médiane de survie reste médiocre d'environ (01 année) [2]. Ce mauvais pronostic souligne la nécessité de trouver de nouvelles approches thérapeutiques efficaces.

Contrairement aux cellules normales dont la croissance est régulée par des voies de stimulation organisées, la croissance des cellules cancéreuses est régulée par des voies multiples. Le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) joue un rôle central dans le développement et la tumorigénèse de nombreux cancers notamment les GBMs. Ce récepteur est une protéine à activité tyrosine kinase transmembranaire située sur la bande chromosomique 7p12 et codé par le proto-oncogène c-erbB1 (chromosome 7) [3]. C'est un membre de la famille des récepteurs ErbB qui se compose de 4 tyrosines kinases apparentées : EGFR (ErbB-1), HER2/neu (ErbB-2), Her 3 (ErbB-3) et Her 4 (ErbB-4) [3,4].

L'EGFR peut être activé par le facteur de croissance épidermique (EGF), le facteur de croissance transformant  $\alpha$  (TGF $\alpha$ ) ou plusieurs autres ligands.

Les récepteurs ErbB joue un rôle très important dans la croissance, la différenciation, et le contrôle du métabolisme cellulaire [3].

L'EGFR est un puissant oncogène, il est modifié de différentes façons dans les différents grades des astrocytomes notamment les GBMs IDH wild type (amplification 40% -surexpression 60%) [3]. Les altérations de l'EGFR favorisent l'invasion la prolifération et la résistance à la radiothérapie et la chimiothérapie standards. La recherche de l'amplification de ce récepteur présente un intérêt diagnostique (5<sup>ème</sup> révision OMS), pronostique et il semble être une cible thérapeutique prometteuse [5].



**Figure 1:** Voies de signalisation de l'EGFR ('Aksoy 2018)

Par conséquent, nous avons réalisé cette analyse rétro et prospective pour évaluer le statut de l'EGFR dans la population algérienne à travers une série de patients porteurs de GBM IDH wild type.

## Matériels et méthode

Il s'agit d'une étude descriptive analytique rétro et prospective ayant portée sur une série de 67 échantillons (33 exérèses, 35 biopsies) de GBM confirmé histologiquement et colligés dans le service d'Anatomo-Pathologie du CHU Douera sur une période de 02 années (Janvier 2018-Décembre 2020).

La classification histologique a été basée sur les critères établis par l'Organisation Mondiale de la Santé (version 2016). Le caractère IDH wild type du glioblastome basé sur panel d'anticorps (GFAP, Olig2, IDH<sub>(R132)</sub>, ATRX, P53, Ki67) était le critère d'inclusion majeure. Tous les patients dont le matériel n'était pas exploitable et dont le dossier était incomplet ont été exclus de l'étude. Pour chaque patient, une fiche clinique a été réalisée, recensant les données épidémiologiques, cliniques et paracliniques.

### Immunohistochimie

Les blocs de tissus fixés au formol et incorporés en paraffine ont été coupés en série en sections de 4 µm d'épaisseur. Le processus d'immunohistochimie a été réalisé à l'aide d'un autostainer Ventana (Benchmark ; Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, USA). La solution de démasquage antigénique (Ventana) a été versée automatiquement sur les sections et chauffées à 100°C pendant 60 minutes. L'incubation s'est faite avec un anticorps primaire EGFR (anticorps monoclonal de souris, RTU Ventana clone 3C6), les sections de tissu ont été incubées pendant 32 minutes à 36°C. La révélation a été réalisée avec le système DAB (kit de détection iView DAB ; Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, USA), puis les sections ont été légèrement contre-colorées avec de l'hématoxyline.

Le marquage de l'anticorps anti EGFR a été évalué avec le score de Hirsch (indice h) qui correspond à un score semi quantitatif obtenu en multipliant un score d'intensité de marquage (1 : absent ou quelques traces, 2 : faible, 3 : modéré et 4 : fort) par le pourcentage des cellules marquées. Le score obtenu détermine 02 groupes (score <200 pas d'amplification- score > 200 amplification)

### Méthodologie

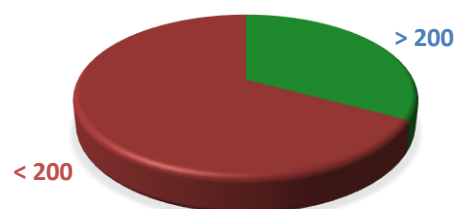
L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel SPSS 23. L'analyse descriptive a été effectuée (moyenne ± écart-types et/ou médianes, pour les variables quantitatives et pourcentages pour les variables qualitatives). Les tests statistiques du khi2, Fisher, Student, Mann-whitney, Wilcoxon, ANOVA ou de Kruskal-Wallis ont été utilisés pour les comparaisons de 2 ou plusieurs variables.

## Résultats

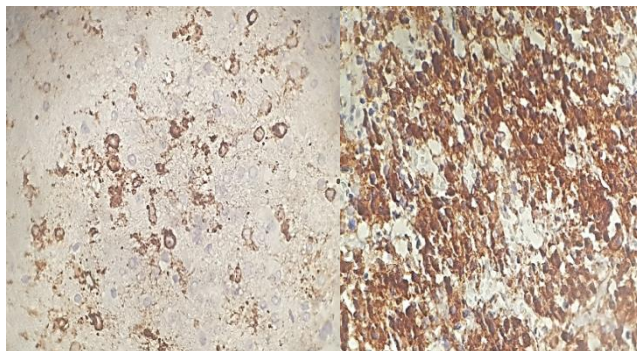
### Caractéristique de la population

**Tableau 1:** caractéristiques de la population

		EGFR		P
		+ n (%)	- n (%)	
<b>Age</b>	< 55ans	1 (1,49)	4 (5,9)	0,46
	> 55ans	21 (31,3)	41 (61,2)	
<b>Sexe</b>	Masculin	17 (25,4)	22 (32,9)	0,46
	Féminin	5 (7,46)	23 (34,32)	
<b>Type prélèvement</b>	Résection	10 (15)	22 (32,8)	0,49
	Biopsie stéréotaxique	12 (18)	23 (34,3)	
<b>Localisation</b>	Hémisphérique droit	5 (7,6)	23 (34,32)	
	Hémisphérique gauche	7 (10,44)	16(23,8)	
	Frontale	1 (1,6)	12 (18%)	
	pariétale	3 (4,5)	9 (13,5)	
	Temporal occipitale	3 (4,5)	3 (4,5)	
<b>Taille tumorale</b>	< 05 cm	4 (6)	19 (28,3)	0,22
	>05 cm	8 (12%)	18 (26,8)	
<b>Type Résection</b>	Résection totale	10 (14,92)	22 (32,8)	0,49
	biopsie	12 (18)	23 (34,3)	
<b>Histologie</b>	Astrocytaire non gémistocytaire	14 (20,89)	30 (44,7)	
	Astrocytaire gémistocytaire	3 (4,5)	11 (16,4)	
	Négative	22 (32,83)	45 (67,1)	
<b>IDH1 (R132H)</b>	Positive	0	0	
	Négative	22 (32,83)	45 (67,1)	
<b>Infiltrat lymphocytaire</b>	Présent	3 (4,5)	5 (7,4)	0,52
	Absent	19 (28,35)	40 (59,7)	
<b>Mutation P53</b>	Oui	4 (6)	20 (29,8)	<b>0,04</b>
	Non	16 (23,8)	23 (34,3)	



**Figure 2:** Fréquence de l'amplification de l'EGFR



**Figure 3** (EGFR IHC X40) : marquage membranaire avec renforcement cytoplasmique, A, score hirsch<200, Bscore Hirsch>200

### Données cliniques

51.47% (35/ 67 cas) des patients qui ont bénéficié d'une biopsie stéréotaxique et 47 % (32/67 cas) ont subi une exérèse totale.

Prédominance masculine avec un taux de **57.35% (39/ 67 cas)** et un ratio de masculinité de **1.4%**. La médiane d'âge était de **64 ans** avec des extrêmes de 47 ans et 81 ans.

La symptomatologie clinique a été dominée par trois symptômes : le déficit neurologique 22% (15 sur 67 cas), les crises convulsives 15% (10 /67 cas) et les céphalées 18 % (12/ 67 cas).

### Données radiologiques

La localisation hémisphérique gauche a été prédominante 41,7% (28 /67 cas), la répartition en fonction du lobe atteint et par ordre décroissant : lobe frontal 19,4% (13/67 cas), le lobe pariétal 17,9% (12/67 cas), lobe temporal 7,46% (5/67 cas) et enfin le lobe occipital à 1,49% (1/67 cas). Le GBM a été unifocal dans 82, 08 % des cas (55/67 cas), multifocal dans 16.42% des cas (11/67 cas).

### Données histologiques

L'histo-morphologie a été dominée par le phénotype astrocytaire non gémistocytique 64.71% de cas (44/67 cas). La nécrose palissadique a été retrouvée dans 53% des cas (36/67 cas)

### Données immuno-histochimiques

L'immuno-positivité de la GFAP a été retrouvée dans 91.18% dans cas (62/67 cas), l'Olig2 était positif dans 88.24% des cas (60/68 cas).

L'ATRX n'était pas perdu chez 100% des patients (67/67 cas). La P53 était <math>< 10\%</math> dans 59,7% des cas (40/67 cas). La médiane de la fraction de prolifération a été de 30%.

L'amplification de l'EGFR a été retrouvée dans **33 % (22 patients)**.

## Discussion

Notre objectif était d'évaluer la surexpression du statut de l'EGFR par immunohistochimie dans le GBM IDH wild type et intégrer ce biomarqueur dans le diagnostic des gliomes de haut grade de l'adulte pour permettre une meilleure prise en charge thérapeutique de ce type de cancer.

L'EGFR est un proto-oncogène et une protéine anti-apoptotique qui stimule la prolifération cellulaire (Wee et Wang, 2017). L'altération la plus courante de l'EGFR est l'amplification. Elle a été retrouvée jusqu'à 40 % des GBM de novo, elle est exceptionnelle dans les formes secondaires. Cette amplification identifiée comme un marqueur d'intérêt pronostique dans la version OMS 2016 des tumeurs du système nerveux central, est devenu un biomarqueur diagnostique des GBMs dans la nouvelle révision (OMS 2021) [6]. L'amplification de ce gène a été rapportée dans 26,15% dans la population marocaine (Senhaji et al, 2017), 24% dans la population tunisienne. Elle est estimée à (44%) en Italie, (53%) en Espagne et au Portugal (Trabelsi et al, 2017 ; Franceschi et al, 2015 ; Benito et al, 2010 ; Viana-pereira et al, 2008) [7,8]. Dans notre population elle est retrouvée dans **33%** des GBMs IDH wild type. Cette fréquence est intermédiaire entre les données des pays maghrébins limitrophes et sud-européennes.

Dans notre série, les GBMs EGFR amplifié concernent essentiellement les patients de sexe masculin (ratio de masculinité1.3), de plus de 55 ans avec une médiane d'âge de 64 ans, une localisation unifocale temporo-pariétale hémisphérique gauche et un phénotype astrocytaire non gémistocytique, sans infiltrat lymphocytaire périvasculaire. Le ratio de masculinité rapporté dans la littérature est au-dessus du notre et varie de 1,5 à 1,8 mais ceci est probablement lié à la taille échantionnelle [1].

Le profil IHC se caractérise par une immuno-positivité des anticorps GFAP, Olig2, une conservation de l'ATRX et un marquage nucléaire faible à modéré de la P53. La fraction de prolifération est élevée dépassant les 30%.

Actuellement la terminologie « GBM » se limite aux astrocytome diffus de grade 4 IDH wild type de l'adulte [6]. Il est situé au niveau de la substance blanche sous-corticale et la substance grise profonde des hémisphères cérébraux. Dans une série de 987 glioblastomes de l'hôpital universitaire de Zurich, les sites les plus fréquemment touchés étaient le lobe temporal (31% des cas), le lobe pariétal (24%), le lobe frontal (23%), et le lobe occipital (16 % des cas) ceci concorde avec les données de notre série [5]. La symptomatologie est rapide mais manque de spécificité, elle associe : des déficits neurologiques focaux, crises convulsives, des signes d'HIC et des céphalées [9].

Le diagnostic histologique du glioblastome est basé sur l'identification de l'organisation tissulaire plutôt que sur des types de cellules spécifiques associant des cellules gliales anaplasiques, une activité mitotique élevée et une prolifération vasculaire avec ou sans nécrose. La composante gémistocytique caractérise les GBMs secondaires [5]. Dans notre série les GBMs EGFR amplifié associe rarement une composante gémistocytique > à 20% (4,4%-03 cas).

La réaction lymphocytaire au niveau des glioblastome est variable mais surtout rare, c'est le cas de notre série elle n'a été notée que dans (4,5% des cas) et la place d'une immunothérapie reste à discuter. Le manchon périvasculaire caractérise les GBMs avec composante gémistocytique. Elle est composée de lymphocytes T CD8+ de façon prédominante [5].

L'expression de la GFAP dans notre série était de 91,2%, effectivement les GBMs expriment souvent la GFAP avec des degrés de réactivité variable. Celle-ci est intense dans les formes avec composante gémistocytique, absente dans les formes avec une inflexion sarcomateuse dont la fréquence de l'amplification de l'EGFR est faible (5%).

Dans les GBMs, la mutation P53 est estimée entre (20 et 40 %), elle caractérise essentiellement les GBMs IDH mutés [10]. L'association entre l'immuno-positivité de l'anticorps P53 et le statut de la mutation TP53 est controversée en neuro-oncologie. Dans les GBMs elle est considérée comme modérément sensible et hautement spécifique avec un cutoff de 10 % de cellules positives et un marquage d'intensité élevée [11]. Dans notre série, la fréquence Des GBMs dont la P53 est considérée positive est de 35,5 % (24 cas) dont 06 % seulement sont EGFR amplifiés ce qui concorde avec les données publiées.

## Conclusion

Une classification histo-moléculaire pertinente est nécessaire pour un diagnostic optimal des glioblastomes. L'identification de marqueurs moléculaires notamment l'amplification de l'EGFR est devenue essentielle pour affiner la stratification des gliomes, rationaliser leur prise en charge et améliorer la prédiction de la réponse au traitement. Elle permettra d'établir des groupes moléculaires avec un algorithme thérapeutique spécifique pour notre population.

## Bibliographie

- [1] Ostrom QT, Patil N, Cioffi G, Waite K, Kruchko C, Barnholtz-Sloan JS. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2013–2017. *Neuro-Oncology*. 30 oct 2020;22(Supplement\_1): iv1-96.
- [2] Brat DJ, Ryken TC, Kalkanis SN, Olson JJ. The role of neuropathology in the management of progressive glioblastoma: A systematic review and evidence-based clinical practice guideline. *J Neurooncol*. juill 2014;118(3) : 461-78.
- [3] Saadeh FS, Mahfouz R, Assi HI. EGFR as a clinical marker in glioblastomas and other gliomas. *Int J Biol Markers*. janv 2018;33(1) : 22-32.
- [4] Guillaudeau A, Durand K, Pommepuy I, Robert S, Chaunavel A, Lacorre S, et al. Determination of EGFR Status in Gliomas: Usefulness of Immunohistochemistry and Fluorescent In Situ Hybridization. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. mai 2009 ; 17(3):220-6.
- [5] Weltgesundheitsorganisation. WHO classification of tumours of the central nervous system. Revised 4th edition. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, éditeurs. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2016. 408 p. (World Health O
- [6] Brat DJ, Aldape K, Colman H, Figarella-Branger D, Fuller GN, Giannini C, et al. cIMPACT-NOW update 5: recommended grading criteria and terminologies for IDH-mutant astrocytomas. *Acta Neuropathol*. mars 2020;139(3) : 603-8.
- [7] Idrissi HHE, Boujmia OKA, Nadifi S, Dehbi H. Genetics of Glioblastoma in Moroccan population: Review of literature. *IBRO Reports*. déc 2018 ; 5:133-6.
- [8] Senhaji N, Louati S, Chbani L, El Fatemi H, Hammas N, Mikou K, et al. *EGFR* Amplification and *IDH* Mutations in Glioblastoma Patients of the Northeast of Morocco. *BioMed Research International*. 2017;2017:1-7.
- [9] Molinaro AM, Phillips JJ. EGFR amplification status for clinical trial inclusion: where do we draw the line? *Neuro-Oncology*. 9 oct 2019;21(10):1215-6.
- [10] Bielle F, Figarella-Branger D, Mokhtari K. Gliomes diffus de l'adulte. 2016 ; 5.
- [11] Takami H, Yoshida A, Fukushima S, Arita H, Matsushita Y, Nakamura T, et al. Revisiting *TP 53* Mutations and Immunohistochemistry-A Comparative Study in 157 Diffuse Gliomas: *TP53* Mutations and Immunohistochemistry in Gliomas. *Brain Pathology*. mai 2015 ; 25(3):256-65.