

PROFIL HISTOLOGIQUE ET EXPRESSION DE LA PROTEINE HMGA2 DANS UNE SERIE DE MYOMES UTERINS A COTONOU



AZONBAKIN Simon⁽¹⁾, SY MAMA⁽²⁾, DANGBEMEY Patrice⁽³⁾, OUEDRAOGO Alexis⁽⁴⁾, OUEDRAOGO Alfred⁽⁴⁾, AWEH Bruno⁽¹⁾, SEIDOU Fallilatou⁽⁵⁾, BONOU Aimé⁽¹⁾, AD-JAGBA Marius⁽¹⁾, LALEYE Anatole⁽¹⁾

(1): Laboratoire d'Histologie, Biologie de la Reproduction, Cytogénétique et Génétique médicale.

Faculté des Sciences de la Santé- Université d'Abomey-Calavi – Bénin

(2): Laboratoire d'Histologie, Embryologie-Cytogénétique, Faculté de Médecine, Université Cheikh Anta Diop de Dakar – Sénégal

(3) : Service de Gynécologie Obstétrique, Centre Hospitalier et Universitaire de la Mère et de l'Enfant (CHU MEL).

(4) : Service d'Histologie, Embryologie, cytogénétique et Biologie de la Reproduction du CHU de Bogodogo (Burkina Faso).

(5) : Laboratoire d'anatomie Pathologie, Faculté des Sciences de la Santé- Université d'Abomey-Calavi – Bénin

Auteur correspondant : Dr Simon AZONBAKIN, Médecin Biologiste, Maître Assistant. Laboratoire d'Histologie, Biologie de la Reproduction, Cytogénétique et Génétique Médicale, Faculté des Sciences de la Santé- Université d'Abomey-Calavi Tel : 0022997130061, e-mail : azandeg@yahoo.fr

RESUME

Les léiomyomes utérins sont les tumeurs les plus fréquentes du tractus génital féminin qui surviennent chez la femme en âge de procréer. De localisation très variable, c'est une tumeur mésenchymateuse développée aux dépens du muscle lisse et souvent séparée du myomètre normal par une pseudo-capsule liée à la condensation du tissu conjonctif. **L'objectif** de cette étude est d'étudier l'expression de la protéine HMGA2 dans une série de léiomyomes utérins à Cotonou. **Méthodologie** : il s'est agi d'une étude prospective à visée descriptive. Des lames de coupes histologiques réalisées à partir de blocs de paraffine de tissus myomateux ont constitués le matériel d'étude. L'immunomarquage anti-HMGA2 a été réalisé sur 59 lames. **Résultats** : Au total, 21 patientes ont été inclus dans notre étude. Sur les 21 patientes, 02 avaient un fibrome unique et les 19 autres patientes possédaient de multiples léiomyomes. La taille moyenne des myomes était de 4,25 cm avec des extrêmes de 0,3 cm et 15 cm. Sur les 59 léiomyomes, 37 (63%) ont été marqués positivement avec un anticorps anti HMGA2 contre 22 (37%). Plus la taille du léiomyome est importante, plus il exprimait la protéine HMGA2 ($p < 0.04$). **Conclusion** : On retient de notre étude que certains léiomyomes expriment la protéine HMGA2 et que cette expression était liée à la taille des tumeurs.

Mots clés : Léiomyomes utérins, HMGA2 , Immunohistochimie

SUMMARY

Uterine leiomyomas are the most common tumours of the female genital tract that occur in women of childbearing age. With variable location, it's a mesenchymatous tumor developed at the expense of the smooth muscle and often separated from the normal myometrium by a pseudo-capsule linked to the condensation of connective tissue. The **objective** of this study is to study the expression of the HMGA2 protein in a series of uterine leiomyomas in Cotonou. **Methodology**: This was a descriptive prospective study. Blades of histological cuts made from blocks of paraffin of myometrial tissues formed the study material. The anti-HMGA2 immunomarking was performed on 59 blades. **Results**: A total of 21 patients were included in our study. Of the 21 patients, 02 had a single fibroid and the other 19 patients had multiple leiomyomas. The average size of myomas was 4.25 cm with extremes of 0.3 cm and 15 cm. Of the 59 leiomyomas, 37 (63%) were positively marked with an anti-HMGA2 antibody versus 22 (37%). The larger the size of the leiomyoma, the more it expressed the HMGA2 protein ($p < 0.04$). **Conclusion**: Our study holds that some leiomyomas express the HMGA2 protein and this expression was related to tumor size.

Key words : Uterine leiomyomas , HMGA2 , Immunohistochemistry

INTRODUCTION

Les léiomyomes utérins, communément appelés fibromes utérins, sont les tumeurs les plus fréquentes du tractus génital féminin. Ce sont des tumeurs qui surviennent chez la femme en âge de procréer. De localisation très variable, le léiomyome utérin, est une tumeur mésenchymateuse développée aux dépens du muscle lisse et souvent séparée du myomètre normal

par une pseudo-capsule liée à la condensation du tissu conjonctif. L'origine unicellulaire (monoclonale) de chaque myome est aujourd'hui bien admise. Ils apparaissent aussi rarement isolés et les localisations multiples sont fréquentes. L'évolution de la science avec la cytogénétique a permis d'affiner la recherche étiologique des léiomyomes utérins. Ainsi, dans 40 à 50 % des cas, des anomalies cytogénétiques

ont été retrouvées dans des léiomyomes utérins [1]. Les anomalies impliquant le bras long du chromosome 12 sont les plus fréquentes des anomalies cytogénétiques décrites dans les léiomyomes utérins. Cette anomalie est responsable de la dysrégulation du gène HMGA2 qui code pour une protéine architecturale de l'ADN appartenant à la famille des protéines non histones du groupe de haute mobilité (*high mobility group*) [2]. La protéine du même nom HMGA2 est exprimée dans de nombreux tissus pendant les périodes embryonnaire et fœtale, jusqu'à la 22^{ème} semaine de gestation, alors que, chez l'adulte, elle n'est exprimée que dans le rein et le foie.

Dans les léiomyomes utérins, elle n'est exprimée que dans les cas présentant un réarrangement en 12q15. Cependant, l'expression de HMGA2 s'observe dans les cultures cellulaires *in vitro* en l'absence du réarrangement, suggérant que des composants du milieu de culture (sérum, rouge phénol) ont un rôle stimulant sur la transcription du gène [3]. Bien que la fonction exacte de HMGA2 ne soit pas connue, son expression préférentielle dans les tissus en phase de croissance et dans les néoplasies suggère un rôle dans la régulation de la prolifération cellulaire.

Au Bénin, bon nombre de femmes sont touchées par les léiomyomes. Au-delà des troubles fonctionnels qu'ils provoquent, les léiomyomes utérins sont à l'origine d'infertilité et de fausses couches à répétition. Ils constituent la première raison de chirurgie pelvienne chez les jeunes femmes. L'apparition et l'exacerbation de ces troubles sont surtout liées à l'augmentation de taille du myome. Nous nous proposons d'étudier la biologie des léiomyomes à travers l'expression de la protéine HMGA2 dans une série de léiomyomes.

CADRE, MATERIEL ET METHODE

Cadre et matériel d'étude

Notre étude s'est déroulée au sein de l'Unité de Biologie Humaine de la Faculté des Sciences de la Santé de Cotonou et dans le Laboratoire d'Anatomie Pathologique de ladite Faculté. Les échantillons de myomes inclus dans des blocs de paraffine ont constitué notre matériel d'étude.

Méthode d'étude

Il s'est agi d'une étude prospective à visée descriptive allant de juillet 2017 à mars 2018. Les registres d'examen du Laboratoire d'Anatomie Pathologique ont servi de support pour recenser les prélèvements de myomes utérins. Des

informations sociodémographiques ont été également collectées sur ces registres. Au total 59 tumeurs léiomyomateuses ont été recueillies pour l'étude et aussi un échantillon de trophoblaste a été utilisé pour servir de témoin positif pour la technique immunohistochimique. A partir des blocs de paraffine collectés, il a été réalisé des coupes de 4µm d'épaisseur qui ont été montées sur des lames Plus de Bio SB®. Les lames sont séchées à 58°C toute une nuit. A l'aide d'un kit Bio SB® nous avons effectué au laboratoire de l'Unité de Biologie Humaine un marquage immunohistochimique

Collecte et analyse des données

L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel de statistique XLS. L'étude s'est déroulée en deux étapes :

- la première étape a consisté en une description générale des variables de la population étudiée (âge, taille tumorale en cm, type histologique, intensité et pourcentage d'expression des protéines HMGA2) ;

- la deuxième étape a consisté en une analyse avec recherche des relations, entre l'âge et l'expression de HMGA2, entre la taille des myomes et l'expression de la protéine HMGA2 et entre le profil histologique et l'expression de la protéine HMGA2. Des tests t de comparaison des moyennes ont été utilisés pour évaluer des associations statistiques.

Considérations éthiques

L'anonymat des informations recueillies sur les patientes est respecté. Un code a été attribué à chaque patiente retenue dans notre échantillon

RESULTATS

Résultats épidémiologiques

Notre étude a porté sur 21 femmes dont l'âge varie entre 23 ans et 60 ans avec une moyenne de 34 ans et une médiane de 33 ans. La tranche d'âge de 25-30 ans est la plus représentée suivie de celles de 30 à 35 ans et 35 à 40 ans. Sur les 21 patientes, seules deux ont présenté un léiomyome unique. Les 19 cas restants portent de multiples léiomyomes. La figure 1 illustre la répartition des patientes selon l'âge.

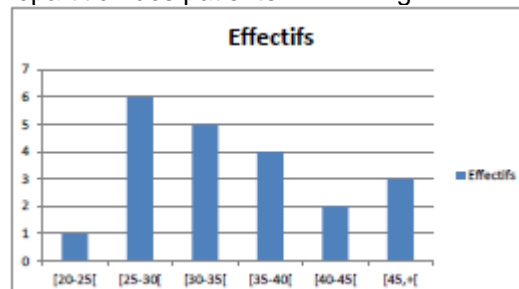


Figure 1 : répartition des patientes selon l'âge

Situation des léiomyomes par rapport aux tuniques utérines

Les 59 léiomyomes obtenus à partir des 21 patientes sont répartis dans les 3 tuniques utérines. 75% des léiomyomes sont intra muraux, 15% sous-séreux et 10% sous-muqueux (voir figure 2). La taille des myomes varie entre 0.3 cm et 15cm. La taille moyenne est de 4,25 cm et la médiane est de 3,8 cm.

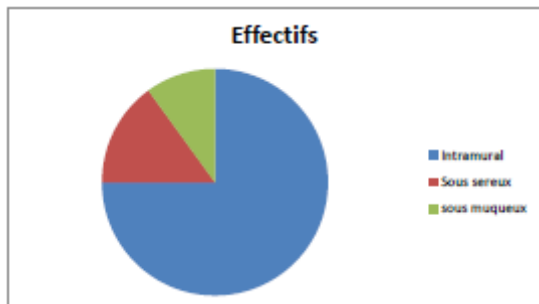


Figure 2 : répartition des léiomyomes selon la localisation dans la paroi utérine.

Résultats histologiques

Tous les 59 léiomyomes recensés sont de type histologique ordinaire.

Etudes immunohistochimiques

Nombre de tissus marqués et non marqués

Sur les 21 sujets de l'étude, 05 patientes ont des myomes ne présentant pas une expression de la protéine. Parmi les 21 patientes, les myomes de 16 patientes exprimaient la protéine HMGA2. Parmi les 16 sujets, 11 avaient des myomes exprimant tous la protéine HMGA2 et les 5 autres avaient des myomes dont au moins un exprimait la protéine HMGA2. L'aspect histologique du myome avant et après marquage est illustré sur les figures 3, 4 et 5.

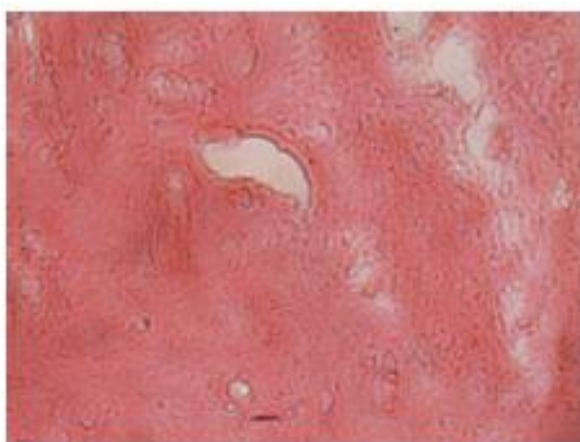


Figure 3 : Marquage négatif

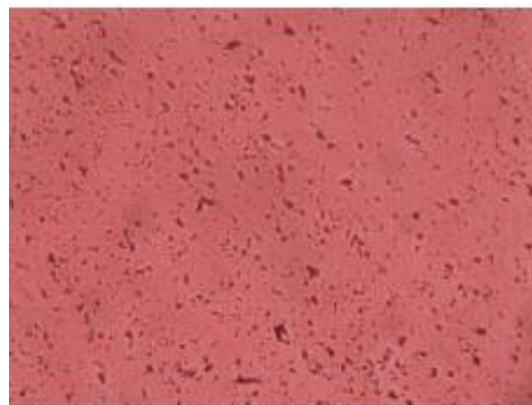


Figure 4 : Marquage positif

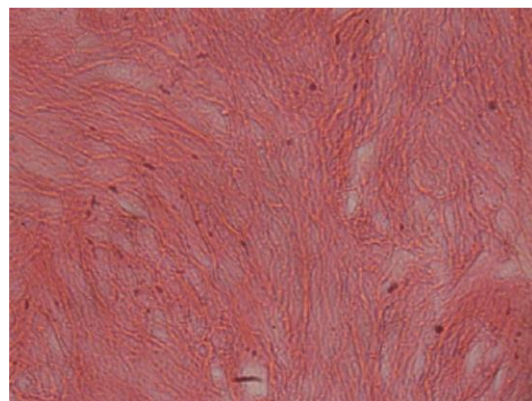


Figure 5 : Image de marquage en mosaïque (x 40)

Au total 37/ 59 tumeurs ont été marquées soit un pourcentage de 63%. Parmi les 37 tumeurs marquées, 16 l'étaient en mosaïque et 21 de façon complète.

L'âge moyen des femmes portant des myomes avec expression de HMGA2 était de 33 ans tandis que les femmes dont les myomes n'en exprimaient pas étaient de 39 ans ($p=0,26$) ; la différence n'était pas statistiquement significative. La taille moyenne des léiomyomes avec la protéine HMGA2 était de 5.8 cm et celle des myomes n'exprimant pas la protéine HMGA2, de 1,57 cm. ($p= 0,04$; $< 0,05$), la différence était statistiquement significative.

Tous les myomes étaient de type histologique ordinaire regroupant des myomes exprimant la protéine HMGA2 et les myomes qui ne l'expriment pas.

DISCUSSION

Epidémiologie et profil histologique

Le léiomyome utérin est la tumeur de l'appareil reproducteur féminin la plus répandue. Cependant, la majorité des cas reste asymptomatique. Plusieurs études ont démontré une incidence accrue chez les femmes afro-américaines et chez les femmes africaines. La présence de fibrome est résolument très importante à partir

de 40 ans, et il est d'apparition plus précoce chez les femmes noires [4].

Dans notre étude, la tranche d'âge la plus représentée est celle de 25 à 30 ans dans notre échantillon. La tranche de 25 à 30 ans qui est plus représentée peut s'expliquer par le désir de maternité important à cet âge et également par la symptomatologie importante des léiomyomes et sa répercussion négative sur la conception.

Le classement des léiomyomes se fait d'après leur emplacement dans la cavité utérine. Le type le plus commun est le léiomyome intramural, localisé dans le muscle lisse utérin responsable d'une augmentation irrégulière de la taille utérine. En grossissant, il peut évoluer vers la surface utérine pour devenir un myome sous-séreux et peut aussi entraîner un infarctus s'il devenait pédiculé. Dans notre étude, la majorité (75%) des léiomyomes sont interstitiels, les léiomyomes de type sous-séreux et sous-muqueux représente respectivement 15% et 10%.

La taille moyenne des myomes de notre étude est 4,25 cm (0,3cm-15cm). Okogbo F O et al en 2011[5] ont observé une moyenne de 5.3 cm. Ces observations similaires pourraient s'expliquer par la découverte tardive des léiomyomes.

Le léiomyome est une tumeur bénigne composée de cellules musculaires lisses avec une quantité variable de stroma fibreux. La plupart des léiomyomes ont une cellularité plus élevée que le myomètre normal. En dehors du type ordinaire, les autres types histologiques possèdent en plus des caractéristiques habituelles, une atypie cellulaire, soit une densité cellulaire importante, soit une composition particulière du stroma. La totalité de nos 59 tumeurs collectées sont de types ordinaires. Au regard de ces résultats, on pourrait dire que les léiomyomes ordinaires sont les plus fréquents.

Expression de la protéine HMGA2

Une compréhension du développement et de la pathogenèse des léiomyomes est le but de beaucoup de recherches cytogénétiques et génétiques. Les travaux de cytogénétiques sur les léiomyomes ont montré qu'une anomalie chromosomique est à la base de 25% à 40% des léiomyomes [1]. Environ 20% des léiomyomes présentent une translocation t(12,14) [7]. Suite à cette translocation le gène perturbé sur le

chromosome 12 est le gène *HMGA2* et son homologue souvent concerné sur le chromosome 14 est le gène *RAD51L1*. Comme beaucoup d'autres études, la nôtre retrouve des léiomyomes exprimant la protéine HMGA2 avec une translocation t(12,14). Sur 59 léiomyomes 37 expriment la protéine HMGA2 soit 63%. Aux Etats-Unis, Jennelle C. Hodge et al [8] ont publié des valeurs inférieures à la nôtre soit 10% sur un échantillon de 348 myomes.

Parmi nos 37 cas qui ont exprimé la protéine, le niveau ou le degré d'expression n'était pas le même. Il y a eu 21 myomes qui ont exprimé de façon complète la protéine et 16 myomes pour lesquels l'expression était partielle.

Sur les 21 femmes de notre étude, il y'avait 5 qui portaient des myomes qui n'exprimait pas la protéine HMGA2. La comparaison de l'âge moyen des sujets dont les léiomyomes n'expriment pas la protéine HMGA2 à l'âge moyen de ceux exprimant la protéine HMGA2 ne permet pas de d'affirmer qu'il existe un lien statistiquement significatif entre ces deux variables.

Au regard de la taille moyenne des myomes, il est statistiquement possible d'affirmer que la protéine HMGA2 s'exprime plutôt dans les léiomyomes de grandes tailles $p < 0,04$. L'étude de Ligon aux Etats Unis corrobore notre résultat [9].

Notre étude a montré qu'il n'y pas une relation entre le profil histologique des léiomyomes et l'expression de la protéine HMGA2. Ceci est également rapporté dans la littérature [7,8,9].

CONCLUSION

Le léiomyome utérin constitue la première cause d'intervention chirurgicale sur l'utérus en dehors des grossesses. Néanmoins, le léiomyome utérin reste encore une tumeur peu étudiée d'un point de vue biologique dans notre pays. L'expression de la protéine HMGA2 n'a pas un rapport avec l'âge des sujets, ni avec le profil histologique du myome mais avec la taille tumorale. L'existence des léiomyomes exprimant la protéine HMGA2 nous suscite l'intérêt d'une étude ultérieure au cours de laquelle il sera utilisé en plus de l'immunohistochimie, la RT-qPCR afin d'évaluer le degré d'expression de la protéine.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Nilbert M, Heim S. Uterine leiomyoma cytogenetics. *Genes Chromosomes Cancer* 1990; 2: 3-13.
2. Ashar HR, Schoenberg Fejzo M, Tkachenko A, Zhou X, Fletcher JA, et al. Disruption of the architectural factor HMGI-C : DNA-binding AT hook motifs fused in lipomas to distinct transcriptional regulatory domains. *Cell* 1995; 82 : 57-65.

3. Gattas GJ, Quade BJ, Nowak RA, Morton CC. HMGIC expression in human adult and fetal tissues and in uterine leiomyomata. *Genes Chromosomes Cancer* 1999; 254: 316-22.
4. Okogbo F O, Ezechi OC, Loto OM, Ezeobi PM. Uterine Leiomyomata in South Western Nigeria: a clinical study of presentations and management outcome. *African Health Sciences* 2011; 11(2): 271 – 278
5. Mourelhouba C, Abbassia D. Profil épidémiologique des fibromes dans la région de Sidi Bel abbes, Algérie. *Pan African Journal*. 2013. 15 :7
6. Romero R, Kuivaniemi H, and Tromp G. Functional genomics and proteomics in term and preterm parturition. *J Clin Endocrinol Metab*.2002 ; 87, 2431-2434.
7. Meloni AM, Surti U, Contento AM, Davre J, Sandberg AA. Uterine leiomyomas: Cytogenetic and histologic profile. *Obstet. Gynecol.*, 1992 ; 80 : 209-216.
8. Jennelle C, Tae-Min K, Dreyfuss J, Somasundaram Priya, Christacos N , Rousselle M, Bradley J. et al. Expression profiling of uterine leiomyomata cytogenetic subgroups reveals distinct signatures in matched myometrium: transcriptional profiling of the t(12;14) and evidence in support of predisposing genetic heterogeneity. *Human Molecular Genetics*, 2012, Vol. 21, No. 10 2312–2329
9. Ligon AH, Morton CC. Genetics of uterine leiomyomata. *Gene Chromosomes Cancer*, 2000 ; 28 : 235-245