



<http://portaildoc.univ-lyon1.fr>

Creative commons : Attribution - Pas d'Utilisation Commerciale
- Pas de Modification 4.0 France (CC BY-NC-ND 4.0)



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.fr>

ANNÉE 2025 N°70

**Redéfinir les contours du pinéaloctome et de la tumeur du
parenchyme pinéal de différenciation intermédiaire : apport du
statut *KBTD4* et du méthylome.**

THESE D'EXERCICE EN MEDECINE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
Et soutenue publiquement le 24 avril 2025
En vue d'obtenir le titre de Docteur en Médecine

Par
Abel SEKRI,
né le 14/11/1989 à Décines Charpieu

Sous la direction du Dr Vasiljevic Alexandre (MCU-PH)

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON I

Président de l'Université	Frédéric FLEURY
Président du Conseil Académique et de la Commission Recherche	Hamda BEN HADID
Vice-Président du Conseil d'Administration	Didier REVEL
Vice-Présidente de la Commission Formation	Céline BROCHIER
Vice-Président Relations Hospitalo-Universitaires	Jean François MORNEX
Directeur général des services	Pierre ROLLAND

SECTEUR SANTE

Doyen de l'UFR de Médecine Lyon-Est	Gilles RODE
Doyen de l'UFR de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud - Charles Mérieux	Philippe PAPAREL
Doyen de l'Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques (ISPB)	Claude DUSSART
Doyen de l'UFR d'Odontologie	Jean-Christophe MAURIN
Directeur de l'Institut des Sciences & Techniques de Réadaptation (ISTR)	Jacques LUAUTÉ
Présidente du Comité de Coordination des Études Médicales	Carole BURILLON

SECTEUR SCIENCES ET TECHNOLOGIE

Directrice de l'UFR Biosciences	Kathrin GIESELER
Directeur de l'UFR Faculté des Sciences	Bruno ANDRIOLETTI
Directeur de l'UFR Sciences & Techniques des Activités Physiques et Sportives (STAPS)	Guillaume BODET
Directeur de Polytech Lyon	Emmanuel PERRIN
Directeur de l'Institut Universitaire de Technologie Lyon 1 (IUT)	Michel MASSENZIO

30 septembre 2022



Directeur de l'Observatoire de Lyon

Bruno GUIDERDONI

Directeur de l'Institut National Supérieur Pierre CHAREYRON du Professorat & de l'Éducation (INSPÉ)

Directrice du Département-composante Génie Électrique & des Procédés (GEP)

Rosaria FERRIGNO

Directrice du Département-composante Informatique

Saida BOUAZAK
BRONDEL

Directeur du Département-composante Mécanique

Marc BUFFAT

30 septembre 2022

LISTE DES ENSEIGNANTS 2024/2025

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRACTICIENS HOSPITALIERS CLASSE EXCEPTIONNELLE - ECHELON 2		
ADHAM	MUSTAPHA	Chir viscer et digest
CHEVALIER	PHILIPPE	Cardiologie
COLIN	CYRILLE	Epid., éco. santé
COTTIN	VINCENT	Pneumologie ; addictologie
D'AMATO	THIERRY	Psychiat. d'adultes ; addictologie
DENIS	PHILIPPE	Ophthalmologie
DOUEK	CHARLES PHILIPPE	Radiol. imag. médi.
DUMONTET	CHARLES	Hémato ; transfusion
DURIEU GUEDON	ISABELLE	Méd int. ; gériatrie ; addicto
EDERY	CHARLES PATRICK	Génétique
FAUVEL	JEAN-PIERRE	Thérap méd douleur ; addictologie
HONNORAT	JEROME	Neurologie
JOURNEAU	Pierre	Chir. infantile
LINA	BRUNO	Bact-vir ; Hyg.hosp.
MERTENS	PATRICK	Anatomie
MORELON	EMMANUEL	Néphrologie
OBADIA	JEAN-FRANÇOIS	Chir.thor. & cardio.
RIVOIRE	MICHEL	Cancéro ; radiothér.
RODE	GILLES	Méd. phys. réadapt.
SCHOTT PETHELAZ	ANNE-MARIE	Epid., éco. santé
TRUY	ERIC	O.R.L.
TURJMAN	FRANCIS	Radiol. imag. médi.
VANDENESCH	FRANCOIS	Bact-vir ; Hyg.hosp.
ZOULIM	FABIEN	Gastroentér ; hépat ; addict

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRACTICIENS HOSPITALIERS CLASSE EXCEPTIONNELLE - ECHELON 1		
ADER	FLORENCE	Maladie infect. ; mal. trop.
ARGAUD	LAURENT	Méd intens réanim
AUBRUN	FREDERIC	Anesth réa Méd peri opér
BADET	LIONEL	Urologie
BERTHEZENE	YVES	Radiol. imag. médi.
CALENDER	ALAIN	Génétique
CHARBOTEL COING-BOYAT	BARBARA	Méd.& santé au trav.
CHEDOTAL	ALAIN	Biol. cellulaire
DARGAUD	GAMZE YESIM	Hémato ; transfusion
DEVOUASSOUX	MOJGAN	Anat. cytol. path.
DI FILIPPO	SYLVIE	Cardiologie
FELLAHI	JEAN-LUC	Anesth réa Méd peri opér
FROMENT	CAROLINE	Physiologie
GUENOT	MARC	Neurochirurgie
JAVOUHEY	ETIENNE	Pédiatrie
JULLIEN	DENIS	Derm.-vénéréologie
KODJIKIAN	LAURENT	Ophtalmologie
KROLAK-SALMON	PIERRE	Méd int. ; gériatrie ; addicto
LEVRERO	MASSIMO	Gastroentér ; hépat ; addict
MABRUT	JEAN-YVES	Chir viscer et digest
MICHEL	PHILIPPE	Epid., éco. santé
PICOT	STEPHANE	Parasit. mycologie
RAVEROT	GERALD	Endo.diab.mal. Métab ; Gyn méd
RAY-COQUARD	ISABELLE	Cancéro ; radiothér.
ROUVIERE	OLIVIER	Radiol. imag. médi.
ROY	PASCAL	Biostat. inf.méd. TC
SCHAEFFER	LAURENT	Biol. cellulaire
VANHEMS	PHILIPPE	Epid., éco. santé
VUKUSIC	SANDRA	Neurologie

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRACTICIENS HOSPITALIERS - 1ère CLASSE		
BACCHETTA	JUSTINE	Pédiatrie
BESSEREAU	JEAN-LOUIS	Biol. cellulaire
BOUSSEL	LOIC	Radiol. imag. médi.

CHAPURLAT	ROLAND	Rhumatologie
COLLARDEAU FRACHON	SOPHIE	Anat. cytol. path.
COLOMBEL	MARC	Urologie
CONFAVREUX	CYRILLE	Rhumatologie
COTTON	FRANCOIS	Radiol. imag. médi.
COURTOIS	SOPHIE	Méd. phys. réadapt.
DAVID	JEAN-STEPHANE	Anesth réa Méd peri opér
DI ROCCO	FEDERICO	Neurochirurgie
DUBERNARD	GIL	Gyn-obst ; gyn. méd
DUBOURG	LAURENCE	Physiologie
DUCLOS	ANTOINE	Epid., éco. santé
DUMORTIER	JEROME	Gastroentér ; hépat ; addict
FANTON	LAURENT	Méd. lég. & droit santé
FERRY	TRISTAN	Maladie infect. ; mal. trop.
FOURNERET	PIERRE	Pédopsychiatrie ; addictologie
GUIBAUD	LAURENT	Radiol. imag. médi.
HENAIN	ROLAND	Chir.thor. & cardio.
HOT	ARNAUD	Méd int. ; gériatrie ; addicto
HUISSOUD	CYRIL	Gyn-obst ; gyn. méd
JARRAUD	SOPHIE	Bact-vir ; Hyg.hosp.
JUILLARD	LAURENT	Néphrologie
LUKASZEWICZ-NOGRETTE	ANNE-CLAIRE	Anesth réa Méd peri opér
MERLE	PHILIPPE	Gastroentér ; hépat ; addict
MURE	PIERRE-YVES	Chir. infantile
NICOLINO	MARC	Pédiatrie
PERETTI	NOËL	Nutrition
PONCET	GILLES	Chir viscer et digest
POULET	EMMANUEL	Psychiat. d'adultes ; addictologie
RHEIMS	SYLVAIN	Neurologie
RICHARD	JEAN-CHRISTOPHE	Méd intens réanim
RIMMELE	THOMAS	Anesth réa Méd peri opér
ROBERT	MAUD	Chir viscer et digest
ROMAN	SABINE	Physiologie
ROSSETTI	YVES	Physiologie
SAOUD	MOHAMED	Psychiat. d'adultes ; addictologie
THAUNAT	OLIVIER	Néphrologie

VENET	FABIENNE	Immunologie
WATTEL	ERIC	Hémato ; transfusion

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRACTICIENS HOSPITALIERS - 2ème CLASSE		
BOUVET	LIONEL	Anesth réa Méd peri opér
BUTIN	MARINE	Pédiatrie
CHARRIERE	SYBIL	Nutrition
CHENE	GAUTIER	Gyn-obst ; gyn. méd
COUR	MARTIN	Méd intens réanim
CROUZET	SEBASTIEN	Urologie
DELLA SCHIAVA	NELLIE	Chir vasc ; méd vasc
DUCRAY	FRANCOIS	Neurologie
DUPRE	AURELIEN	Cancéro ; radiothér.
DURUISSEAUX	MICHAEL	Pneumologie ; addictologie
EKER	OMER	Radiol. imag. médi.
GILLET	YVES	Pédiatrie
GLEIZAL	ARNAUD	Chir. maxill. & stom
GUEBRE-EGZIABHER	FITSUM	Néphrologie
HAESEBAERT	JULIE	Epid., éco. santé
HAESEBAERT	FREDERIC	Psychiat. d'adultes ; addictologie
HARBAOUI	BRAHIM	Cardiologie
JACQUESSON	TIMOTHEE	Anatomie
JANIER	MARC	Biophys. méd. nucl.
JOUBERT	BASTIEN	Neurologie
LEMOINE	SANDRINE	Physiologie
LESCA	GAETAN	Génétique
LOPEZ	JONATHAN	Bioch. biol. moléc.
MAURY	Jean-Michel	Chir.thor. & cardio.
MECHTOUFF	Laura	Neurologie
MEYRONET	DAVID	Anat. cytol. path.
MILLON	ANTOINE	Chir vasc ; méd vasc
MOHKAM	KAYVAN	Chir viscer et digest
MONNEUSE	OLIVIER	Chir viscer et digest
NATAF	SERGE	Histo. Embryo. Cytogénétique
PIOCHE	MATHIEU	Gastroentér ; hépat ; addict
SAINTIGNY	PIERRE	Cancéro ; radiothér.
SAVELON	Sylvie	Pédopsychiatrie ; addictologie

SI MOHAMED	Salim	Radiol. imag. médi.
THIBAUT	HELENE	Physiologie
VILLANI	AXEL	Derm.-vénéréologie
VOLPE-HAEGELEN	CLAIRE	Anatomie
YORDANOV	Youri	Médecine d'urgence
PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - MÉDECINE GÉNÉRALE - 1ère CLASSE		
LETRILLIART	LAURENT	Médecine générale

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - MÉDECINE GÉNÉRALE - 2ème CLASSE		
CHANELIERE	Marc	Médecine générale

PROFESSEURS ASSOCIÉS - MÉDECINE GÉNÉRALE		
DE LA POIX DE FREMINVILLE	Humbert	Médecine Générale
FARGE	Thierry	Médecine Générale
LAINE	Xavier	Médecine Générale
PIGACHE	Christophe	Médecine Générale
ZORZI	Frédéric	Médecine Générale

PROFESSEURS ASSOCIÉS - AUTRES DISCIPLINES		
GAZARIAN	Aram	Chir orthop
GEOFFRAY	Marie-Maude	Pédopsychiatrie
KHALFALLAH	Sonia	ORL
JUNG	Julien	Neurologie
PERCEAU-CHAMBARD	Elise	Médecine palliative
CHVETZOFF	Gisèle	Médecine palliative
LOMBARD-BOHAS	Catherine	Cancérologie
BAILLY	Olivier	Gastroentérologie
MOREL- JOURNAL	Nicolas	Urologie
MELY	Laurent	Pédiatrie
DAUWALDER	Olivier	Bactériologie - virologie
TOURNEBISE	Hubert	Médecine physique et de réadaptation

MAITRES DE CONFÉRENCE - PRACTICIENS HOSPITALIERS - CLASSE EXCEPTIONNELLE		
BENCHAIB	MEHDI	Biol. & méd. dévelpt. ; gyn méd
BRINGUIER	PIERRE	Histo. Embryo. Cytogénétique
PERSAT	FLORENCE	Parasit. mycologie
PIATON	ERIC	Histo. Embryo. Cytogénétique

SAPPEY-MARINIER	DOMINIQUE	Biophys. méd. nucl.
STREICHENBERGER	NATHALIE	Anat. cytol. path.
VOIGLIO	ERIC	Anatomie
MAITRES DE CONFÉRENCE - PRACTICIENS HOSPITALIERS - HORS CLASSE		
CHALABREYSSE	LARA	Anat. cytol. path.
HERVIEU	VALERIE	Anat. cytol. path.
KOLOPP SARDA	MARIE-NATHALIE	Immunologie
MENOTTI	JEAN	Parasit. mycologie
PLOTTON	INGRID	Biol. & méd. dévelpt. ; gyn méd
RABILLOUD-FERRAND	MURIEL	Biostat. inf.méd. TC
TARDY GUIDOLLET	VERONIQUE	Bioch. biol. moléc.
TRISTAN	ANNE	Bact-vir ; Hyg.hosp.

MAITRES DE CONFÉRENCE - PRACTICIENS HOSPITALIERS - 1ère CLASSE		
BONTEMPS	LAURENCE	Biophys. méd. nucl.
BOUCHIAT SARABI	CORALIE	Bact-vir ; Hyg.hosp.
BOULEZ ROUCHER	FLORENCE	Bioch. biol. moléc.
CASALEGNO	JEAN-SEBASTIEN	Bact-vir ; Hyg.hosp.
CORTET	MARION	Gyn-obst ; gyn. méd
COUTANT	FREDERIC	Immunologie
COUTIER-MARIE	LAURIANNE	Pédiatrie
CURIE	AUORE	Pédiatrie
ESCURET PONCIN	VANESSA	Bact-vir ; Hyg.hosp.
JOSSET	LAURENCE	Bact-vir ; Hyg.hosp.
LACON REYNAUD	QUITTERIE	Méd int. ; gériatrie ; addicto
NGUYEN CHU	HUU KIM	Pharm fond ; pharm clin ; addiction
PINA JOMIR	GERALDINE	Biophys. méd. nucl.
VASILJEVIC	ALEXANDRE	Anat. cytol. path.
VLAEMINCK GUILLEM	VIRGINIE	Bioch. biol. moléc.

MAITRES DE CONFÉRENCE - PRACTICIENS HOSPITALIERS - 2ème CLASSE		
BALANCA	BAPTISTE	Anesth réa Méd peri opér
BARBA	THOMAS	Méd int. ; gériatrie ; addicto
BAUDIN	FLORENT	Pédiatrie
BENECH	NICOLAS	Gastroentér ; hépat ; addict
BEURIAT	Pierre-Aurélien	Neurochirurgie
BITKER	LAURENT	Méd intens réanim

BOCCALINI	SARA	Radiol. imag. médi.
CONRAD	Anne	Maladie infect. ; mal. trop.
DOREY	JEAN-MICHEL	Psychiat. d'adultes ; addictologie
DUPIEUX CHABERT	CELINE	Bact-vir ; Hyg.hosp.
DUPONT	DAMIEN	Parasit. mycologie
FLAUS	Anthime	Biophys. méd. nucl.
GARNIER-CRUSSARD	Antoine	Méd int. ; gériatrie ; addicto
GRINBERG	DANIEL	Chir.thor. & cardio.
KOENIG	ALICE	Immunologie
LASOLLE	Hélène	Endo.diab.mal. Métab ; Gyn méd
LEAUNE	Edouard	Psychiat. d'adultes ; addictologie
LILOT	MARC	Anesth réa Méd peri opér
MAINBOURG JARDEL	SABINE	Thérap méd douleur ; addictologie
PASQUER	ARNAUD	Chir viscer et digest
SIMONET	THOMAS	Biol. cellulaire
VIPREY	MARIE	Epid., éco. santé

MAITRES DE CONFÉRENCE - MÉDECINE GÉNÉRALE - 2ème CLASSE		
LAMORT-BOUCHE	MARION	Médecine générale
MAITRES DE CONFÉRENCE ASSOCIÉS - MÉDECINE GÉNÉRALE		
BREST	Alexandre	Médecine Générale
PERROTIN	Sofia	Médecine Générale
SEVIN née MATHIEU	Carla	Médecine Générale
PROFESSEUR EMERITES		
<i>Les professeurs émérites peuvent participer à des jury de thèses ou d'habilitation. Ils ne peuvent pas être président du jury.</i>		
BEZIAT	Jean-Luc	Chirurgie maxillo-faciale et Stomatologie
BORSON-CHAZOT	Françoise	Endo.diab.mal. métab
CHASSARD	Dominique	
CLARIS	Olivier	Pédiatrie
COCHAT	Pierre	Pédiatrie
DALIGAND	Liliane	Médecine légale et Droit de la santé
DELAHAYE	François	

ETIENNE	Jérôme	Bactériologie-Virologie ; Hygiène hospital.
FLORET	Daniel	Pédiatrie
GHARIB	Claude	Physiologie
GUERIN	Claude	Méd intens réanim
GUERIN	Jean François	Biologie et Médecine développ.et Reprod.
GUEYFFIER	François	Pharm fond ; pharm clin ; addiction
LEHOT	Jean-Jacques	Anesthésiologie
MAUGUIERE	François	Neurologie
MELLIER	Georges	Gynécologie ; obstétrique
MICHALLET	Mauricette	Hématologie ; Transfusion
MOREAU	Alain	Médecine générale
MORNEX	Jean-François	
MOULIN	PHILIPPE	
NEGRIER	Claude	Hématologie ; Transfusion
NEGRIER	Marie-Sylvie	Cancérologie ; radiothérapie
NIGHOGHOSSIAN	Norbert	Neurologie
PONCHON	Thierry	Gastroentér
PUGEAT	Michel	Endocrinologie et maladies métaboliques
SINDOU	Marc	Neurochirurgie
TOURAINÉ	Jean-Louis	Néphrologie
TREPO	Christian	Gastroentérologie ; Hépatologie
TROUILLAS	Jacqueline	Cytologie et Histologie

Le Serment d'Hippocrate

Je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans discrimination.

J'interviendrai pour les protéger si elles sont vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance.

Je donnerai mes soins à l'indigent et je n'exigerai pas un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement la vie ni ne provoquerai délibérément la mort.

Je préserverai l'indépendance nécessaire et je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je perfectionnerai mes connaissances pour assurer au mieux ma mission.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé si j'y manque.

Remerciements

À mon jury de thèse :

À mon président de jury, Monsieur le Pr David Meyronet,

Je vous remercie d'avoir accepté d'être le président de mon jury. Je tiens également à vous remercier pour m'avoir initié au monde de la neuropathologie. Je mesure la chance qui m'a été offerte de bénéficier de votre pédagogie, de votre bienveillance et de votre patience au cours de ce semestre et de ceux qui ont suivis. Je vous suis reconnaissant pour vos conseils avisés concernant mes objectifs professionnels et personnels.

À Monsieur le Pr Emmanuel Jouanneau,

Je vous remercie de m'avoir fait l'honneur de juger ce travail. Veuillez croire, monsieur le Professeur, en l'expression de ma profonde et respectueuse reconnaissance.

À Madame le Pr Delphine Poncet,

Je te remercie d'avoir accepté de figurer parmi les membres de ce jury. Je tiens à t'exprimer ma profonde gratitude pour ta bienveillance et ta disponibilité au cours de mon semestre en biologie moléculaire et de ceux qui ont suivis.

À Monsieur le Dr Alexandru Szathmari,

Je vous remercie de l'intérêt que vous portez à ce sujet et d'avoir accepté de juger ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de ma sincère gratitude.

À Monsieur le Dr Alexandre Vasiljevic,

Je te remercie de m'avoir proposé ce sujet et d'avoir accepté de diriger cette thèse. J'ai bien conscience que l'aboutissement de ce travail n'aurait pas été possible sans ton soutien constant, ta rigueur et ta connaissance pharaonique de la glande pinéale. Je tiens également à t'exprimer ma profonde gratitude pour ce compagnonnage au cours de mon internat qui m'aura permis de m'épanouir dans le monde de la fœtopathologie. J'ai conscience de la chance que j'ai d'avoir pu bénéficier de ton enseignement et de ton implication dans ma formation tout au long de mon internat. Je m'engage à mettre en pratique les compétences et la rigueur que tu m'as enseigné dans la suite de mon parcours.

À mes amis d'enfance :

A toi, Olivier Markewitz, mon frère de cœur, qui nous a quitté beaucoup trop tôt.
Je mesure la chance que j'ai eu de grandir avec toi et de t'avoir à mes côtés dans les moments difficiles. J'aurais tant aimé que tu puisses être des nôtres aujourd'hui, entendre tes moqueries et ton rire. Sans toi les quatre doigts de la main d'un Yakuza paraissent bien vides.

Tu continues à me manquer chaque jour que Dieu fait.

Sic transit gloria mundi.

C'est à toi que je souhaite dédier ce travail.

A toi, Olivier Lavenac, mon frère spirituel, pour nos longues conversations que les océans et 16 000km ne sauraient arrêter. Je suis heureux de pouvoir te compter parmi mes proches.

A toi, Maxime, mon plus vieil ami, parce que faire les 400 coups depuis la maternelle avec toi a été une partie de plaisir que l'âge adulte ne nous aura pas pris. Je chérie notre amitié.

A Areski, Jonathan, Joan, Léo, mes frères de cœur, mes plus beaux souvenirs ont été avec vous. Je regrette que mon (long) parcours m'est rendu moins disponible pour vous, et je vous suis infiniment reconnaissant de votre compréhension et de ne pas m'en avoir fait le reproche.

A Nizar, Gilles, Ramazan, Benjamin, Joseph, Ali, Fouad, Nadir, Sofiane, Toufik, Hakim, Krim, Florian, Mourad, Djibril, Tim. Vous recroisez et pouvoir discuter avec vous comme si on s'était quitté la veille est un privilège à mes yeux. Merci à vous pour ce que nous avons partagé.

À mes amis :

A toi, Paul-Elie, notre rencontre au cours de notre semestre d'hématologie a été une excellente surprise, rempli de gloutonneries et de samouraïerie. Merci pour ta fraternité à toutes épreuves et ta tolérance à mes blagues les plus douteuses. Je suis heureux de partager notre amitié.

A toi, Thomas, ton exil en terres Helvète et mon incapacité à répondre au téléphone n'auront pas raison de notre amitié. Je te remercie pour ce que nos années universitaires nous ont amené à partager.

A toi, Emmanuelle, te revoir après tant d'années à Paris a été un vrai bonheur. Merci pour ta bonne humeur et ton empathie qui font de toi une perle rare Parisienne.

A mes amis sage-femme, Florine, Thomas, Yann, Marie B, Marie « Toon », Sophie, Constance, Andréanne, Valentine et celles que j'oublie, j'ai passé une étape de vie exceptionnelle à vos côtés. Merci d'avoir apporté votre bonne humeur à ces souvenirs.

Au groupe des « saucissons », Antoinette, Aurélie, Anael et Mathieu, pour avoir assisté à mes réorientations professionnelles successives. On arrive finalement (peut-être) à la fin du parcours. Mettez-vous-en plein les mirettes.

A Emilie et Pascaline, pour m'avoir permis d'avoir des temps off en embarquant Laura dans vos aventures.

A ceux que j'ai eu la chance de rencontrer au cours de mon internat,

Au Dr Thibaud Armand, pour ton soutien et tes conseils dans mon parcours universitaire. Merci de tes conseils de lecture et cinématographique. Le semestre de génétique n'aurait pas eu la même saveur sans toi, tes anecdotes douteuses et le tableau d'années en enfer.

Au Dr Massimiliano Rossi, merci de tes encouragements et de ton implication dans ma formation. Merci de m'avoir encouragé à poursuivre mes objectifs.

Au Dr Audrey Putoux, merci pour tes conseils et tes remarques qui m'ont permis de me questionner et de progresser au cours de ce semestre en génétique clinique et par la suite.

Au Pr Damien Sanlaville, pour votre disponibilité et votre gentillesse. Je vous suis reconnaissant des connaissances que vous m'avez transmises et de m'avoir accueilli à deux reprises dans votre spécialité.

Au Dr Nicolas Chatron, pour ta bienveillance et ta rigueur qui m'ont permis de démystifier la cytogénétique.

A toi, Clémence, mon binôme préféré. Ta bonne humeur et tes capacités forment l'admiration. J'estime que si j'ai pu progresser dans notre spécialité c'est en partie grâce à toi et à la dynamique que tu inspirais.

A toi, Ismahane, de m'avoir accueilli avec ton sourire en service de génétique clinique. Nos conversations à base de réels ne cesseront jamais de me faire rire.

A toi, Ihsane, pour avoir fait preuve d'une patience à toutes épreuves durant ce semestre d'hématologie et avoir été si bon public.

A toi, Alexia, pour ta gentillesse, nos discussions et tes conseils. Merci pour ces instants partagés.

A toi, Claire, pour nos pauses café entre « interchu » pleine de bonne humeur. Grâce à toi la toile de Jouy-en-Josas n'a plus de secret pour moi.

Au monde de l'anatomo-pathologie lyonnaise,

Au Dr Frédérique Dijoud, pour votre soutien, vos conseils avisés et pour m'avoir redonné espoir lors des moments de doute sur mon parcours professionnel. J'estime que je vous dois une grande partie de mon épanouissement professionnel.

Au Pr Sophie Collardeau-Frachon, Je vous remercie pour la confiance que vous m'avez accordée et pour votre compagnonnage dans le domaine de la fœtopathologie. Soyez assuré de mon engagement à poursuivre la pratique de cette belle discipline au cours de ma pratique professionnelle.

Au Dr Béatrice Nadaud, pour ta patience et ton implication dans ma formation. Ton aide et tes conseils ont été précieux pour mon apprentissage de la pathologie placentaire.

Au Dr Fabienne Allias-Montmayer, je mesure la chance qui m'a été offerte de bénéficier de votre enseignement et de votre pragmatisme pour l'apprentissage de la pathologie placentaire. Soyez sûre de ma motivation à continuer à approfondir mes connaissances dans ce secteur.

Merci aux Dr Cécile Picard, Dr Valérie Hervieu, Dr Lara Chalabreysse, Dr Nathalie Streichenberger, Dr Mélanie Benoit-Janin, Dr Maud Rabeyrin, Dr Tanguy Fenouil, Dr Marc Barritaault, Dr Pierre-Paul Bringuier, Dr David Laville, Dr Guillaume Pontarollo, Dr Eric Piaton, Dr Romain Perbet, pour votre accueil et votre gentillesse à chacun de mes semestres ainsi que pour votre disponibilité pour l'enseignement. Travailler à vos côtés a été une expérience enrichissante et inspirante.

A Sofiane, Jérôme, Laura, Sabrina, Audrey, Aurélie, Alexis, Fabrice, Stéphane, Rémi, Sophie et à l'ensemble des techniciens, des secrétaires, des OP bio des hospices civils de Lyon, c'est aussi à travers vous que mon épanouissement professionnel fleuri.

Merci aux Dr Myriam Decaussin-Petrucci, Pr Mojgan Devouassoux, Pr Alexandra Traverse-Glehen, Dr Lucie Gaillot-Durand, Dr Frédérique Le Breton, Dr Juliet Tantot, Dr Juliette Fontaine, Dr Nazim Benzerdjeb, Dr Sylvie Isaac, Dr Brigitte Balme, Dr Nadjla Alsadoun, Dr Sophie Neyrand, Dr Marie Donzel et Dr Alexis Trecourt pour votre précieuse contribution à ma formation.

Merci à toute l'équipe de Biopathologie du CLB, Dr Chassagne, Pr Lantuejoul, Dr Treilleux, Dr Meurgey, Dr Gervasoni, Dr De la Fourchardière, Dr Karanian, Dr Renard, Dr Baltres, Dr Champagnac, Dr Franceschi.

Merci à l'ensemble des techniciens du CLB pour leur gentillesse, leur bienveillance et leur accueil.

A mes co-internes pathologistes, Alexis C (pour ses conseils avisés), Bayane (pour sa bonne humeur), Caroline (pour ses topos informatifs), Elise (pour sa gentillesse et son écoute), Gaspard (pour son habilité à disséquer les macros de mes Tupperware), Julien (pour sa crédulité semestrielle), Lucas P (pour son habilité à rendre clair des cours complexes), Manoa (pour son soutien mensuel), Marie C (pour sa rébellité qui forge l'admiration), Marie H (pour sa capacité à trouver du bon en chacun), Maureen (ma co-externe devenue co-interne, merci pour nos moments partagés), Martin (pour son franc parler), Nolwenn (pour m'avoir illustré que « choisir la voie de la souffrance » n'est pas qu'une citation du seigneur des anneaux), Raymonde (pour sa bonne humeur), Romain (pour être bon public à mes blagues les plus foireuses), Sarah (pour sa sympathie), Seddig (pour sa gentillesse), Simon (pour sa coolitude de gendre idéal), Valentin (pour son flegme légendaire lors des séances de corrections de neuropath), Valentine (pour son côté psychotique qui confine à la psychopathologie façon Grippe-Sou le Clown Cabriolant), et Ziyad (Thank you for everything my friend). Merci pour l'atmosphère chaleureuse que vous faites exister. Merci à tous pour tous ces instants partagés.

Et à tous ceux que j'ai pu croiser Camilla, Apolline, Margherite, Mélanie, Idriss, Hélène, Quentin (bio), Souf, Louise, Zinet, Gabriel, Sami, Quentin (néphro), Arnaud.

A l'équipe médical et paramédical de l'hôpital Robert Debré, pour votre accueil malgré mon chauvinisme lyonnais à toutes épreuves. Ce semestre parisien a été une folle expérience professionnelle et personnelle que je ne regrette pas et c'est grâce à vous tous.

A ma belle-famille,

A Sylvie et Pierre-Marie, pour m'avoir offert leur trésor le plus précieux. Merci de supporter mes taquineries et mon côté ours mal léché.

A Mathieu et Amandine, pour ne pas me tenir rigueur de mes blagues douteuses au repas de famille.

A Florine, pour avoir le courage de supporter Alexandre, le second ours mal léché de la famille.

A ma famille,

A mes parents, pour leur soutien inconditionnel dans mes projets professionnels. Votre parcours de vie exemplaire à tous les deux forge mon inspiration.

Maman, ma petite mia, merci de m'avoir inculqué la volonté et la persévérance pour atteindre mes objectifs. Je mesure la chance que j'ai de t'avoir. Essayer de te rendre fier à toujours été mon leitmotiv.

Papa, merci de m'avoir inspiré l'envie de repousser mes limites. Je mesure aujourd'hui l'importance des valeurs que tu m'as transmis. Merci de m'avoir appris à ne pas me complaire dans la facilité.

A mon grand frère, merci d'avoir supporté mes taquineries répétitives de notre enfance qui se perpétue à l'âge adulte. Tu es l'homme le plus courageux que je connaisse et c'est une fierté d'être ton petit frère.

A ma petite mamie défunte, pour l'amour et la foi que tu as insufflé en moi. Ma vocation médicale est en partie ta responsabilité.

A mon oncle défunt, Raphael, merci pour m'avoir offert ses souvenirs d'enfance.

A mes oncles maternelles défunts, Christophe et Bernard.

A ma grand-mère paternelle, mon grand-père paternelle, mes oncles et mes tantes paternelles décédés.

A Bastet, pour avoir été une fidèle compagne féline qui m'a assisté pendant toute la durée de mes études universitaires. A Osiris, pour la fougue de la jeunesse qui lui a permis de rester active malgré son âge avancé.

A toi, Laura, c'est grâce à toi que je suis arrivé à accomplir ce parcours. Ton soutien infaillible, ta bienveillance et ton Amour m'ont permis de ne pas lâcher prise dans les moments difficiles.

Je n'aurais pas pu espérer meilleure compagne de vie.

Merci pour tout ce que tu m'apportes au quotidien.

Liste des abréviations :

ADN : acide désoxyribonucléique

CK18 : cytokératine 18

CNV: Copy number variant

CoREST : corepressor REST

Crx : cone rod homeobox

GFAP : glial fibrillary acidic protein

G : grossissement

hCG : hormone chorionique gonadotrope **humaine**

HPS : hématoxyline phloxine safran

HTIC : hypertension intracrânienne

IRM : imagerie par résonance magnétique

KBTBD4 : Kelch repeat and BTB domain containing protein 4

NFP : neurofilaments

OMS : Organisation mondiale de la santé

PB : pinéaloblastome

PC : pinéalocytome

SNC : système nerveux central

SG : semaines de gestation

TPPDI : tumeur du parenchyme pinéal de différenciation intermédiaire

TPP : tumeur du parenchyme pinéal

Plan

1	CONTEXTE SCIENTIFIQUE	21
1.1	Introduction.....	21
1.1.1	Épidémiologie des tumeurs de la région pinéale	21
1.1.2	Rappel anatomique	21
1.1.3	Histologie et embryologie de la glande pinéale	22
1.1.4	Présentation clinique des tumeurs du parenchyme pinéal	25
1.1.5	Prise en charge chirurgicale	26
1.2	Les tumeurs du parenchyme pinéal : pinéalcytomes, tumeurs du parenchyme pinéal de différenciation intermédiaire et pinéloblastomes.....	27
1.3	Pinéalcytome	28
1.3.1	Histologie.....	28
1.3.2	Profil immunohistochimique	28
1.3.3	Profil moléculaire	28
1.4	Tumeurs du parenchyme pinéal de différenciation intermédiaire	29
1.4.1	Histologie.....	30
1.4.2	Profil immunohistochimique	30
1.4.3	Profil moléculaire	31
1.5	Pinéloblastome	32
1.5.1	Histologie.....	33
1.5.2	Profil immunohistochimique	34
1.5.3	Profil moléculaire	34
1.6	Autres tumeurs de la région pinéale : la tumeur papillaire de la région pinéale.....	35
1.7	Tumeurs du parenchyme pinéal : retour sur l'historique des classifications OMS	35
1.8	Pinéalcytome ou tumeur du parenchyme pinéal de différenciation intermédiaire ? : des limites imprécises à l'origine de confusions diagnostiques	37
1.9	Apport des techniques de biologie moléculaire dans la classification des tumeurs du système nerveux central	38
1.10	Objectifs du travail :.....	39
2	Article en Anglais.....	42
3	Discussion générale	61
4	Conclusions.....	65

1 CONTEXTE SCIENTIFIQUE

1.1 Introduction

1.1.1 Épidémiologie des tumeurs de la région pinéale

Les tumeurs de la région pinéale sont des tumeurs intracrâniennes rares, représentant environ 1% des tumeurs cérébrales chez l'adulte et 3 à 8% chez l'enfant (1,2). Elles touchent principalement les enfants et les adolescents mais peuvent survenir à tout âge. Ces tumeurs comprennent deux groupes principaux : les tumeurs germinales et les tumeurs du parenchyme pinéal. Les tumeurs germinales constituent environ 49% de l'ensemble des tumeurs de la région pinéale (3). Elles touchent principalement les adolescents et les jeunes adultes de sexe masculin avec un pic entre 10 et 20 ans (4). La forme histologique la plus fréquente est le germinome (60% des cas), équivalent du séminome testiculaire. La présence de tumeurs typiquement gonadiques dans la région pinéale est actuellement expliquée par la migration anormale de cellules germinales primordiales hors des ébauches gonadiques vers les régions médianes de l'encéphale. Les tumeurs du parenchyme pinéal partagent une origine cellulaire commune : le pinéaloctyte qui est la cellule constitutive de la glande pinéale. Elles représentent environ 41% des tumeurs de la région pinéale et regroupent les pinéaloctyomes, les tumeurs du parenchyme pinéal à différenciation intermédiaire et les pinéaloblastomes. Les 10% restant comportent un ensemble hétérogène de tumeurs qui incluent notamment les astrocytomes pilocytiques, les tumeurs papillaires de la région pinéale et les méningiomes.

1.1.2 Rappel anatomique

□ Localisation et anatomie générale

La glande pinéale, ou épiphyse, est un organe impair situé sur la ligne médiane dans la région postérieure du troisième ventricule, au-dessus de la plaque quadrigémale, entre les deux thalamus. Elle appartient à l'épithalamus.

Elle a la forme d'un cône ou d'un pignon de pin, mesurant environ 5 à 10 mm de longueur, 5 à 9 mm de largeur, et 1,5 à 4 mm d'épaisseur, pour un poids d'environ 0,15 à 0,20 g (5–7).

□ Rapports anatomiques (5,8)

- **Antérieure** : Elle est reliée au diencéphale via une tige composée de deux lames. La *lame supérieure* qui contient la commissure habénulaire et la *lame inférieure* qui traverse la commissure postérieure et se dirige vers les colliculi supérieurs.

- **Supérieure** : Elle est recouverte par la toile choroïdienne du troisième ventricule, le fornix, et le splénium du corps calleux.
- **Inférieure** : La glande pinéale est en contact avec les colliculi inférieurs et supérieurs (*i.e* la plaque quadrigéminal) et l'aqueduc de Sylvius.
- **Postérieure** : Elle est limitée par la tente du cervelet et le vermis cérébelleux.
- **Latérale** : Elle est encadrée par le pulvinar des thalami et les piliers du fornix.

□ **Vascularisation et drainage**

La glande pinéale est irriguée par l'**artère pinéale**, une branche de l'artère choroïdienne postérieure médiane. Son drainage veineux est assuré par les **veines pinéales**, qui se jettent dans la grande veine de Galien (7).

□ **Rôles et fonction endocrinienne**

La glande pinéale sécrète la mélatonine, une hormone clé dans la régulation des rythmes circadiens (cycle veille-sommeil). Cette hormone est sécrétée principalement en réponse à l'obscurité, ce qui confère à la glande pinéale un rôle central dans la synchronisation des rythmes biologiques. La synthèse de la mélatonine implique différentes étapes enzymatiques débutant par le tryptophane et passant par la sérotonine. Avec l'âge, la glande subit une calcification (*corpora arenacea*) débutant après la puberté et réduisant la production de mélatonine (9). Elle joue un rôle dans l'inhibition de la maturation sexuelle pendant l'enfance en limitant la stimulation hypothalamique des gonades.

La glande est également impliquée dans des processus de rêve et produirait de la diméthyltryptamine, une substance potentiellement liée aux expériences oniriques et aux états de conscience altérés. (10)

1.1.3 Histologie et embryologie de la glande pinéale

Les premières étapes du développement de la glande pinéale présentent une forte conservation d'une espèce à une autre. Cette observation permet de constater l'existence de nombreuses variétés d'organes pinéaux dans le règne animal. Parmi ceux-ci, certains comprennent de véritables rétines dotées de cellules photoréceptrices, comme c'est le cas chez le poisson zèbre ou les reptiles. Les ressemblances au niveau de l'organisation structurale, ainsi que l'activité des gènes impliqués dans la phototransduction et la synthèse

de la mélatonine, laissent entrevoir une origine commune des pinéaloctes et des cellules photoréceptrices de la rétine à partir d'un photorécepteur ancestral (11).

Sur le plan embryologique, la glande pinéale se développe à partir de la 7^{ème} semaine de gestation (SG) au dépend du tissu neuroectodermique, sous la forme d'une invagination postérieure de la portion caudale du diencéphale au-dessus du troisième ventricule (12). Entre la 8^{ème} et 10^{ème} SG, les cellules neuroépithéliales immatures vont alors proliférer et entamer un processus de différenciation sous la dépendance de différents facteurs de transcription. Parmi eux, CRX (Cone Rod Homebox protein) joue un rôle important dans la différenciation photoréceptrice. Ce facteur de transcription est exprimé non seulement dans les pinéaloctes (Fig.1C) mais également dans la rétine où il participe à son développement (13). L'expression de CRX dans les lignées pinéale et rétinienne souligne une nouvelle fois le lien étroit existant entre la glande pinéale (*alias* le « troisième œil ») et la rétine. A partir de 16 SG, la glande pinéale est macroscopiquement visible et son organisation lobulaire commence à devenir identifiable microscopiquement. Elle présente un aspect biphasique avec une population de petites cellules basophiles immatures alternant avec des cellules plus volumineuses au cytoplasme clarifié.

Histologiquement, la glande pinéale mature est entourée par une fine capsule qui dérive de la pie-mère. Cette capsule émet des travées qui contiennent des vaisseaux et qui délimitent le parenchyme pinéal lui conférant son architecture lobulaire (Fig.1A) (14). Ces lobules ont un fond fibrillaire et sont constitués en grande majorité de pinéaloctes (95 %) associés à une minorité de cellules interstitielles de type astrocytaire ou microgliale (14). Les pinéaloctes se caractérisent par un noyau arrondi, accompagné d'un nucléole bien visible. Le cytoplasme de ces cellules est rond, légèrement basophile ou clarifié, et présente des prolongements cellulaires qui participent à la formation du fond fibrillaire. Certains prolongements s'étendent jusqu'aux vaisseaux, présentant une terminaison renflée caractéristique en « club de golf » bien visualisable en immunohistochimie à l'aide de l'anticorps anti-neurofilaments (NFP pour Neurofilament proteins) (Fig.1D).

Enfin, l'observation de formations kystiques et de concrétions calcaires nommées *corpora arenacea* est classiquement possible après l'âge de 20 ans (Fig.1B) (15).

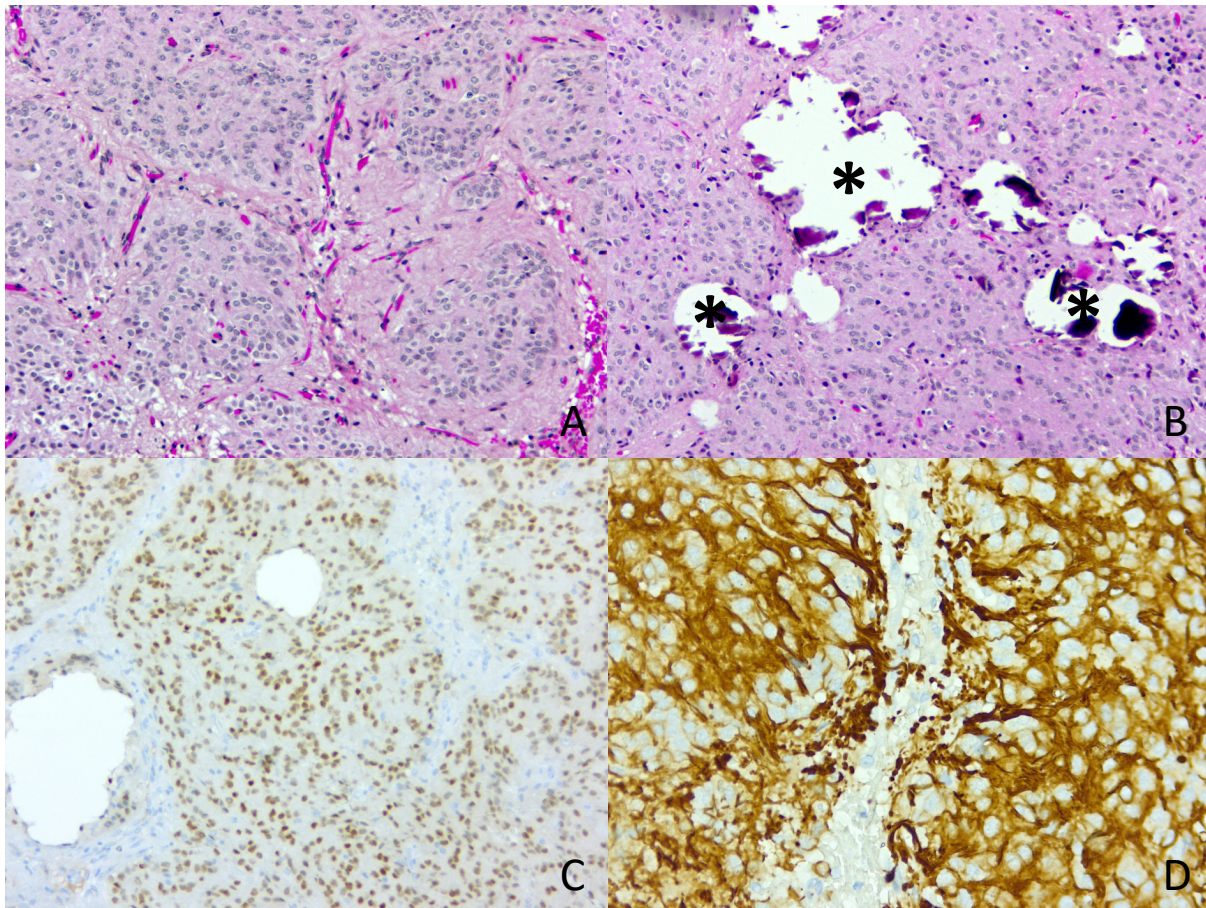


Figure 1. Histologie de la glande pinéale normale

A- Glande pinéale normale : architecture lobulée et fond fibrillaire éosinophile, Hématoxyline, Eosine, Safran (HPS), grossissement (G) x100 ; B- Calcifications psammomateuses (astérisques) (« *corpora arenacea* »), HPS, G x100 ; C- Immunohistochimie à l'aide de l'anticorps anti-CRX montrant un marquage nucléaire de l'ensemble des pinéalocytes, G x100 ; D- Anticorps anti-neurofilaments, marquage fibrillaire et cytoplasmique intense, G x200.

Ces kystes et calcifications ne sont pas pathologiques et sont le résultat d'un processus de sénescence de la glande.

Le kyste pinéal (ou pseudokyste glial de la glande pinéale) correspond à une lésion non néoplasique identifié chez 2% des enfants et jeunes adultes par IRM. Il s'agit souvent d'un incidentalome. Il peut rarement être symptomatique et causer des hydrocéphalies nécessitant un traitement neurochirurgical. La plupart des kystes sont supposés être des lésions de nature dégénérative, certains provenant d'événements hémorragiques. La paroi du kyste pinéal est généralement composée de 3 couches distinctes : une couche interne d'astroglie piloïde GFAP-positive, une couche intermédiaire de parenchyme pinéal NFP-positive et une couche externe de leptoméninge épaissie et fibreuse (16,17).

1.1.4 Présentation clinique des tumeurs du parenchyme pinéal

Les tumeurs pinéales sont souvent de diagnostic tardif en raison de la localisation profonde de la glande pinéale et de symptômes non-spécifiques. Les signes cliniques apparaissent progressivement sur une intervalle libre allant de quelques mois à plusieurs années. Les signes cliniques dépendent des structures envahies ou comprimées et associent généralement des atteintes neuroendocriniennes et/ou neurophtalmiques (18).

Chez l'enfant, les tumeurs de la région pinéale peuvent être associées à un développement pubertaire anormale (19). Ce tableau peut être celui d'une puberté précoce dans le cadre d'une tumeur germinale sécrétant des hCG ou d'un retard pubertaire dans le cas d'une atteinte bifocale pinéale et hypophysaire avec tableau d'insuffisance hypothalamo-hypophysaire (18).

Il n'existe pas de symptômes spécifiques liés à une surproduction ou une insuffisance de mélatonine dans les tumeurs pinéales (18). Des niveaux très bas ou absents de mélatonine chez certains patients ont parfois été rapportés, sans conséquence cliniquement bien définie (20). A l'inverse, des altérations du sommeil de type narcoleptique, associées à des taux sériques normaux d'hypocrétine et de mélatonine, ont été observées dans le cadre du traitement d'une tumeur de la région pinéale (21).

La présentation clinique classique comporte généralement une hypertension intracrânienne (HTIC) par obstruction de l'aqueduc de Sylvius entraînant une hydrocéphalie triventriculaire. Cette dernière est présente dans approximativement 90% des cas (22). Cette atteinte se traduit cliniquement par des céphalées matinales, une somnolence, des nausées et des troubles du comportement. Chez le nourrisson, une macrocrânie avec bombement des fontanelles peut être observée. L'apoplexie pinéale hémorragique est une complication rare des lésions pinéales et peut se traduire par la survenue de céphalées aiguës. Le tableau clinique va d'une évolution asymptomatique à une détérioration rapide avec décès (23).

Les signes neurologiques liés à la compression du tronc cérébral, en particulier des pédoncules cérébraux, sont fréquents. L'examen neuro-ophtalmologique est clé pour un diagnostic précis. Des troubles oculomoteurs de type syndrome de Parinaud caractérisé par une paralysie de la verticalité du regard, des pupilles pseudo-Argyll Robertson (conservation de l'accommodation avec aréactivité aux stimuli lumineux) sont rapportés et en lien avec la compression de la lame quadrijumelle et de la commissure postérieure (18). Une

symptomatologie non spécifique incluant ataxie et asthénie est également possible. Le diagnostic repose principalement sur l'imagerie par résonance magnétique (IRM) (24).

1.1.5 Prise en charge chirurgicale

□ Prise en charge aigue de l'HTIC

Comme nous l'avons vu, le tableau d'HTIC est fréquent au diagnostic et sa prise en charge doit être discutée rapidement soit par ventriculocisternostomie, soit par dérivation ventriculaire interne. La première est souvent préférée car, outre le traitement de l'hydrocéphalie, elle permet de réaliser une biopsie lorsque la tumeur bombe dans la partie postérieure du troisième ventricule. Elle évite ainsi le risque de dissémination néoplasique péritonéale que présente la seconde (25,26). Néanmoins, 15% des patients traités initialement par ventriculocisternostomie nécessiteront au cours du suivi une dérivation ventriculaire interne en raison d'un dysfonctionnement de celle-ci (22).

□ Matériel anatomopathologique

La quantité et la représentativité du matériel est essentiel pour le neuropathologiste afin de permettre un diagnostic fiable. La localisation profonde de la glande pinéale et sa difficulté d'accès rendent parfois difficile le diagnostic histopathologique d'une lésion pinéale.

La biopsie per-ventriculocisternostomie représente le prélèvement le moins important en quantité de matériel. Le pathologiste doit alors assurer une prise en charge optimale du prélèvement (répartition en plusieurs blocs si possible, réalisation de lames blanches en vue d'études ancillaires ...) (26).

La biopsie stéréotaxique sous neuronavigation permet un diagnostic histologique dans 90% des cas mais présente le risque à l'instar de la biopsie per ventriculocisternostomie, de non-représentativité (24). Il existe également un risque de morbidité en raison de la complexité de la vascularisation veineuse de cette voie d'abord (27).

L'exérèse chirurgicale demeure le *gold standard* pour le diagnostic histologique d'une tumeur de la région pinéale. Si la mortalité chirurgicale est inférieure à 3 %, la morbidité peut atteindre 20 %, en particulier lorsque des atteintes neuroptalmiques étaient présentes en pré-opératoire (25). Le choix de l'abord chirurgical est déterminé en fonction de l'extension de la tumeur et de l'expérience du neurochirurgien.

1.2 Les tumeurs du parenchyme pinéal : pinéalcytomes, tumeurs du parenchyme pinéal de différenciation intermédiaire et pinéloblastomes

Les tumeurs du parenchyme pinéal (TPPs) sont définies par une origine commune à partir de la cellule constitutive de la glande pinéale : le pinéalcyte. Cette origine commune se manifeste par l'expression d'un facteur de transcription, CRX, par l'ensemble de cette famille (13). Les TPPs comprennent les pinéalcytomes (PCs) (grade 1 de l'OMS), les tumeurs du parenchyme pinéal de différenciation intermédiaire (TPPDIs) (grade 2-3) et les pinéloblastomes (PBs) (grade 4) (tableau 1). Les TPPs expriment toutes la synaptophysine de manière diffuse. Le degré de différenciation neuronale peut être apprécié par l'immunomarquage anti-NFP. Ce dernier est typiquement fort dans les PCs, modéré dans les tumeurs intermédiaires et faible voire absent dans les PBs (28).

TPPs (CRX-positive)	PC	TPPDI	PB			
Sous-groupe moléculaire			PB-miRNA1	PB-miRNA2	PB-RB1	PB-MYC/FOXR2
Age (médiane en années)	55.5	33	6.5			
			8.5	11.8	2.1	1.4
Immunoexpression des neurofilaments	Expression forte	Expression cytoplasmique modérée	Faible ou absente			
Index prolifération Ki67	<1%	5,2 à 11,2 %	Supérieur à 30%			
Biologie moléculaire	Aucun profil moléculaire spécifique	Insertion sans décalage du cadre de lecture dans le gène <i>KBTD4</i> (80%)	<i>DICER1</i> : 26% <i>DROSHA</i> : 25% <i>DGCR8</i> : 8%	<i>DICER1</i> : 52% <i>DROSHA</i> : 29% Perte du 14q +++	Perte de fonction de <i>RB1</i> (81%) Gains du 1q et 6p Perte du 16	Surexpression de <i>FOXR2</i> ; Amplification de <i>MYC</i> (6%)
Survie globale à 5 ans	91%	85,1%	70,3%	100%	29,8%	23,8%

Tableau 1. Tumeurs du parenchyme pinéal : caractéristiques cliniques, histologiques et moléculaires

1.3 Pinéalocytome

Les PCs correspondent à des tumeurs bien différenciées développées aux dépens du parenchyme pinéal (tableau 1). Ils touchent préférentiellement l'adulte avec un âge médian de 55 ans (29). Il s'agit de tumeurs de bon pronostic, grade 1 de l'OMS, avec un taux de survie à 5 ans de 91% (30). La qualité de l'exérèse chirurgicale représente le facteur pronostique majeur puisqu'il s'agit de tumeurs pouvant récidiver localement (31,32).

1.3.1 Histologie

Les PCs se présentent sous la forme de cellules tumorales de taille moyenne, similaires à des pinéaloctes. Les cellules évoluent dans un fond fibrillaire (neuropile) abondant et se regroupent autour de larges espaces fibrillaires aux contours irréguliers dénommés « pseudorosettes pinéaloctes » (Fig.2A) (28). Certains PCs présentent des territoires vaguement lobulés qu'il faut distinguer de la glande pinéale normale. Sur le plan cytologique, les noyaux sont ronds ou ovalaires et pourvus d'un petit nucléole et d'une fine chromatine. Le cytoplasme est modérément abondant et éosinophile, piriforme.

Certains PCs peuvent comporter une population de cellules au pléomorphisme marqué (pinéaloctes pléomorphes) (33). Ces cellules pléomorphiques peuvent prendre divers aspects : cellule au noyau volumineux, dystrophique et hyperchromatique, cellule multinucléée et/ou cellule ganglionnaire (Fig. 2B).

1.3.2 Profil immunohistochimique

Sur le plan immunohistochimique, les PCs expriment fortement la synaptophysine, les NFP et CRX (Fig. 2C). Selon l'OMS 2021, l'indice de prolifération Ki67 est faible (<1%) (Fig. 2D) (34,35).

1.3.3 Profil moléculaire

Contrairement au TPPDI et au PB, aucune altération génétique n'est actuellement connue pour les PCs. Le profil de méthylation des PCs les rend particulièrement difficile à interpréter puisque ces derniers apparaissent très proche de celui du parenchyme de la glande pinéale normale (29,36).

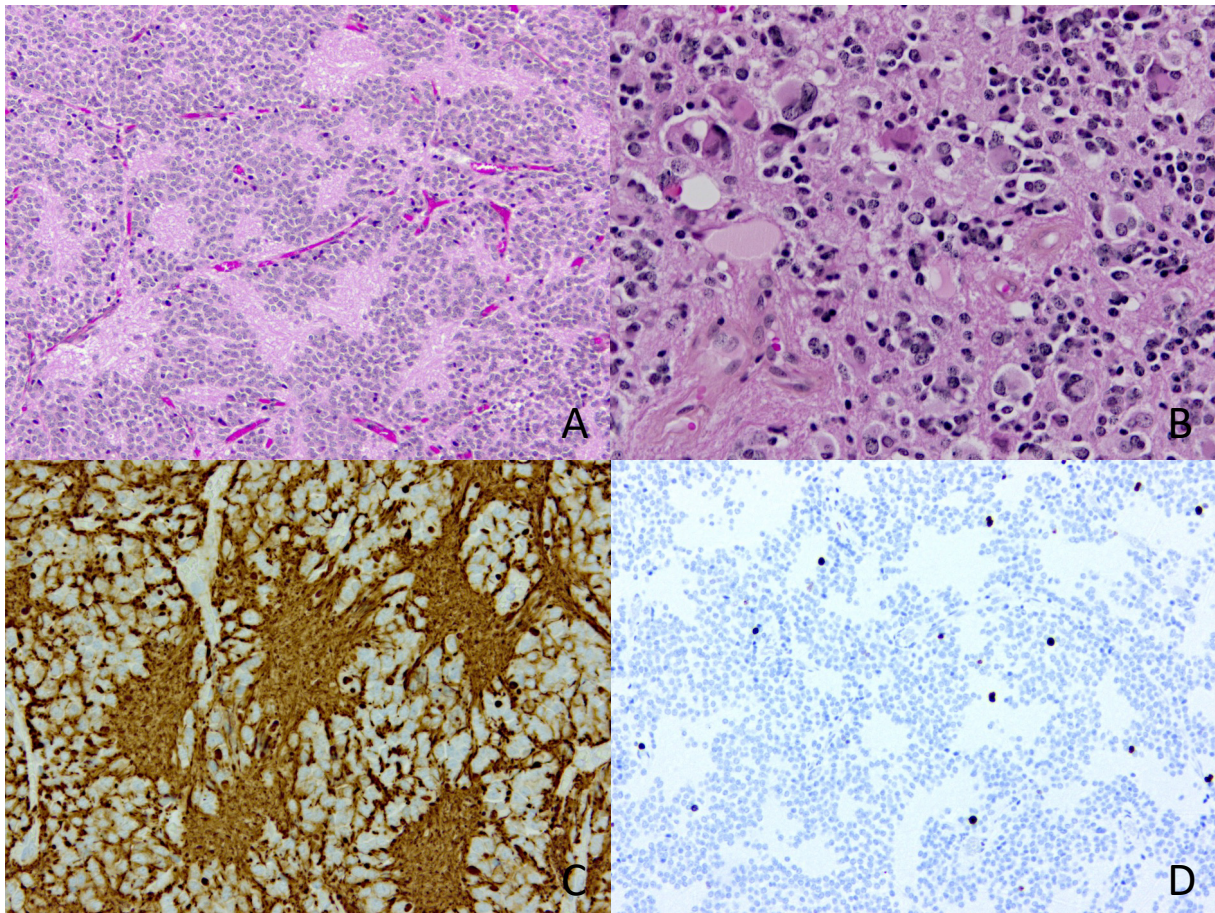


Figure 2. Histologie d'un pinéaloctome (PC)

A- Dans leur description classique, les PCs présentent de larges pseudorosettes fibrillaires, HPS, G x100 ; B- Des cellules pléomorphes peuvent être observées dans les PCs pléomorphes, HPS, G x200 ; C- L'expression des neurofilaments est forte, cytoplasmique et fibrillaire, avec une expression fibrillaire plus marquée dans les pseudorosettes, G x200 ; D- L'indice de prolifération Ki67 est faible, G x100.

1.4 Tumeurs du parenchyme pinéal de différenciation intermédiaire

Les TPPDIs affectent principalement les jeunes adultes, avec une médiane d'âge de 33 ans (37,38). Le grading définitif de ces tumeurs n'est pas tranché dans la classification OMS 2021 (grade 2 ou 3)(35). La plupart des TPPDI se comportent comme des tumeurs de grade 2 comme le montre la bonne survie globale à 5 ans qui atteint 85,1% (39). Cependant, certaines TPPDIs évoluent plus agressivement comme des tumeurs de grade 3, avec récurrences locales et dissémination à distance, notamment vers la moelle épinière.

1.4.1 Histologie

Les TPPDI sont composées de plages diffuses de cellules monomorphes avec des noyaux arrondis et réguliers, présentant une chromatine fine et granuleuse ("poivre et sel") (Fig. 3A) (28,37). Elles évoluent au sein d'un fond fibrillaire peu abondant et mal visible. De rares pseudorosettes fibrillaires de petite taille, de type Homer Wright, peuvent être observées. Une architecture plus lobulée est possible. Parmi les TPPDI, certains auteurs décrivent des TPPDI de type transitionnel, présentant des plages de PC associées à des plages diffuses de TPPDI, ainsi que des TPPDI avec cellules pléomorphes (28,33,40). Ces variants apparaissent dans les classifications OMS 2007 et 2016 mais ne sont plus mentionnées spécifiquement dans la classification OMS 2021 (41).

1.4.2 Profil immunohistochimique

Comme toutes les tumeurs du parenchyme pinéal, les TPPDI expriment le facteur de transcription CRX (Fig.3B). L'expression de la synaptophysine est diffuse, tandis que l'expression des NFP est variable, le plus souvent modérée (Fig.3C). Avec le compte mitotique, cette variabilité dans l'expression des neurofilaments a été proposée par Jouvét et collègues comme outil pour distinguer des TPPDI de bas grade (mitoses < 6 et expression modérée des NFP) et des TPPDI de haut grade (mitoses ≥ 6 et expression faible ou absente des NFP ; mitoses ≥ 6 et expression modérée des NFP) (28). L'indice de prolifération Ki67 est modéré (5,2 à 11,2%) (34).

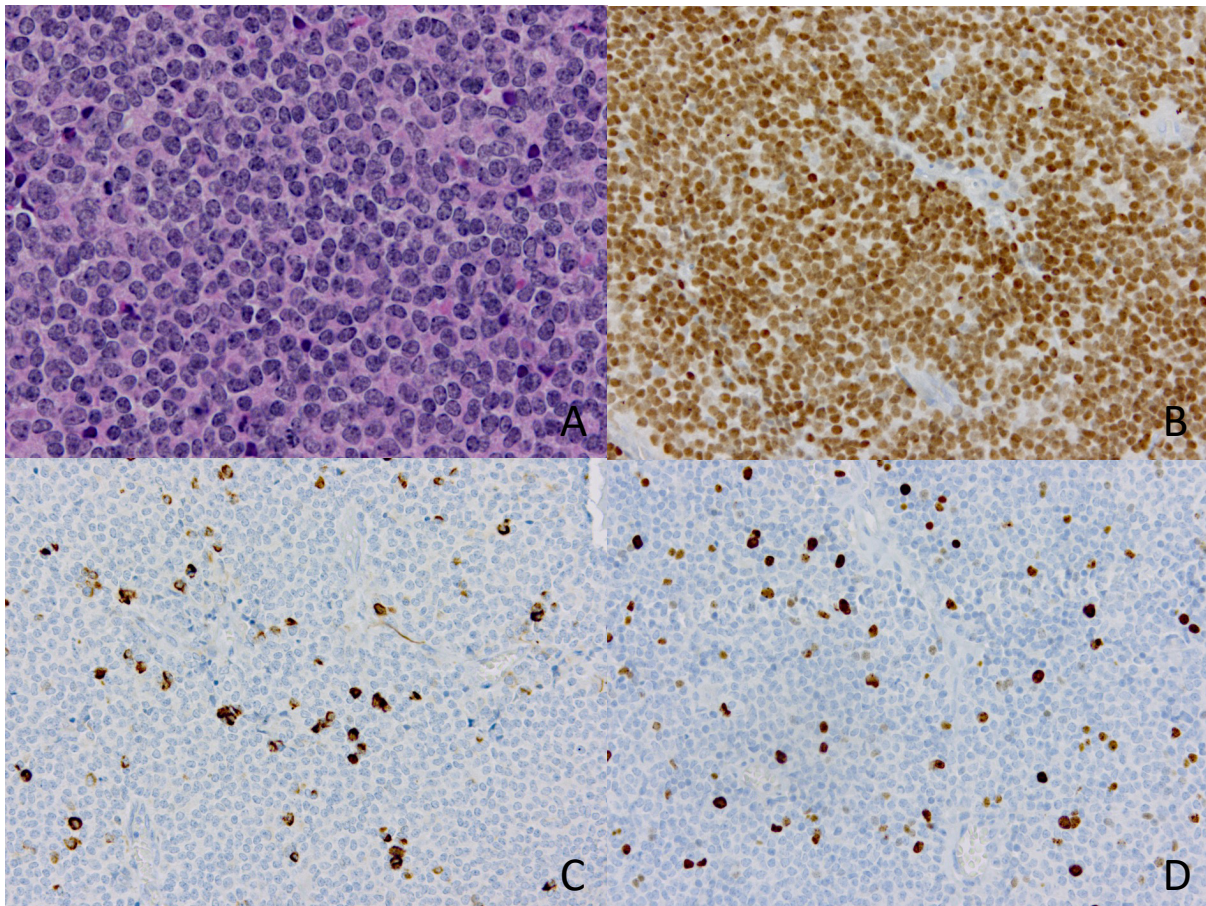


Figure 3. Histologie d'une tumeur du parenchyme pinéal de différenciation intermédiaire (TPPDI)

A- La TPPDI présente une architecture diffuse composée de nappes de cellules rondes monomorphes, HPS, G x 400 ; B- Comme toutes les TPPs, les TPPDIs expriment le facteur de transcription CRX, G x 200 ; C- L'immunoexpression des NFP est cytoplasmique, limitée à quelques cellules, G x 200 ; D- L'indice de prolifération Ki67 est typiquement modéré, autour de 10%, G x 200.

1.4.3 Profil moléculaire

Les TPPDIs sont souvent associées à une mutation dans le gène *KBTD4* (*Kelch repeat and BTB domain containing protein 4*), qui code pour une protéine impliquée dans l'ubiquitination des protéines (Figure 4) (42). Cette mutation est généralement une insertion de 6 ou 9 nucléotides en position 313 (p.R313delinsPRR/p.R313_314MinsPRR). Elle est identifiée dans environ 80% des TPPDI (43). Ce gène est rarement impliqué dans certains sous-types de médulloblastome des groupes 3 et 4, suggérant une relation moléculaire entre ces deux types de tumeurs (44). La mutation en position 313 modifie l'affinité de l'ubiquitine ligase E3 pour ses substrats. Elle devient capable de reconnaître un néo-substrat, le complexe CoREST (corepressor REST), et peut ainsi induire sa dégradation. Le complexe CoREST est un

hétérotrimère formé d'une molécule d'échafaudage RCOR1 et de deux enzymes agissant sur la conformation de l'ADN par modification des histones : HDAC1 (histone deacetylase 1) et LSD1 (Lysine-specific histone demethylase). La dégradation du complexe CoREST (et donc de HDAC1 et LSD) entraîne par conséquent une augmentation de la méthylation sur la lysine K4 et une augmentation de l'acétylation sur la lysine K9 de l'histone H3. La modification de ces marques épigénétiques active la transcription des cibles de CoREST favorisant le caractère souche des cellules tumorales (45,46). Les altérations moléculaires de la biogenèse des microARNs, identifiées dans les PBs, ne sont pas présentes dans les TPPDIs (42). Des mutations dans le gène ATRX, responsable d'un phénotype ALT (Alternative Lengthening of Telomeres), ont été très rarement rapportés dans les TPPDIs (47). La valeur clinique de cette altération n'est pas connue.

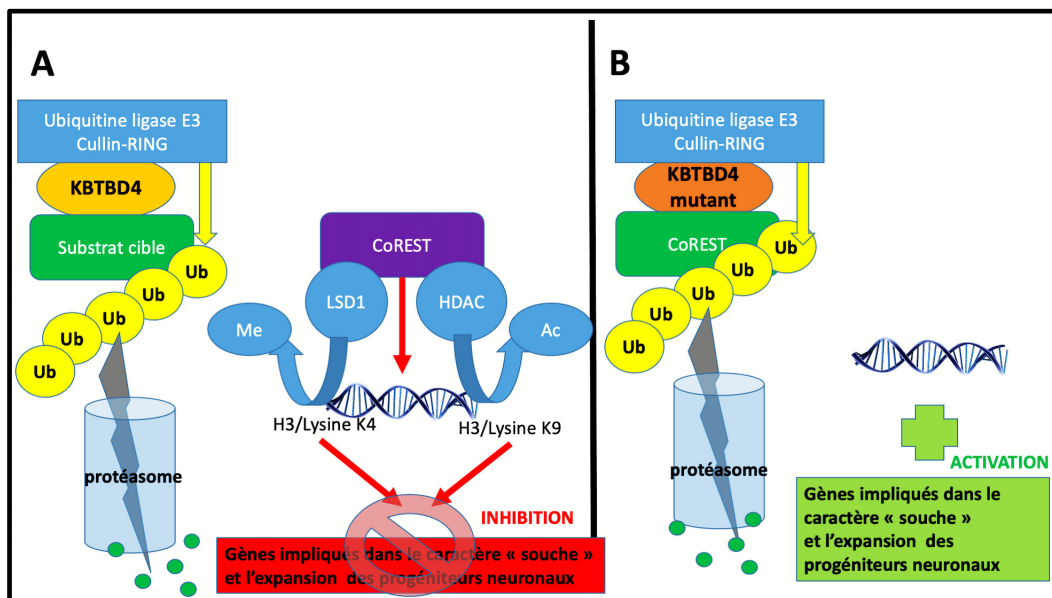


Figure 4. Illustration et rôle de *KBTBD4* : situation A : état physiologique ; situation B : *KBTBD4* mutant avec activation

1.5 Pinéloblastome

Le PB est une tumeur embryonnaire qui se développe à partir de la glande pinéale. Elle affecte principalement les enfants avec une médiane d'âge de 6,5 ans (48). Cette tumeur est agressive et est classée grade 4 selon la classification OMS 2021. Elle est associée au pronostic le plus défavorable au sein des TPPs.

1.5.1 Histologie

Sur le plan histologique, le PB est composé de cellules néoplasiques peu différenciées, sous la forme de « *petites cellules rondes et bleues* » qui ressemblent à celles d'un médulloblastome (28,37). Les noyaux sont atypiques, arrondis, ovoïdes ou plus anguleux, avec une chromatine dense. Le rapport nucléo-cytoplasmique est élevé et les mitoses sont fréquentes (Fig. 5A et 5B). Au niveau architectural, les cellules évoluent généralement en plages diffuses. Focalement des rosettes d'Homer Wright peuvent être observées (Fig. 5A). Dans d'exceptionnels cas, des structures suggestives de différenciation rétinienne (car également présentes dans les rétinoblastomes) peuvent être identifiées : les rosettes de Flexner-Wintersteiner et les fleurettes (37).

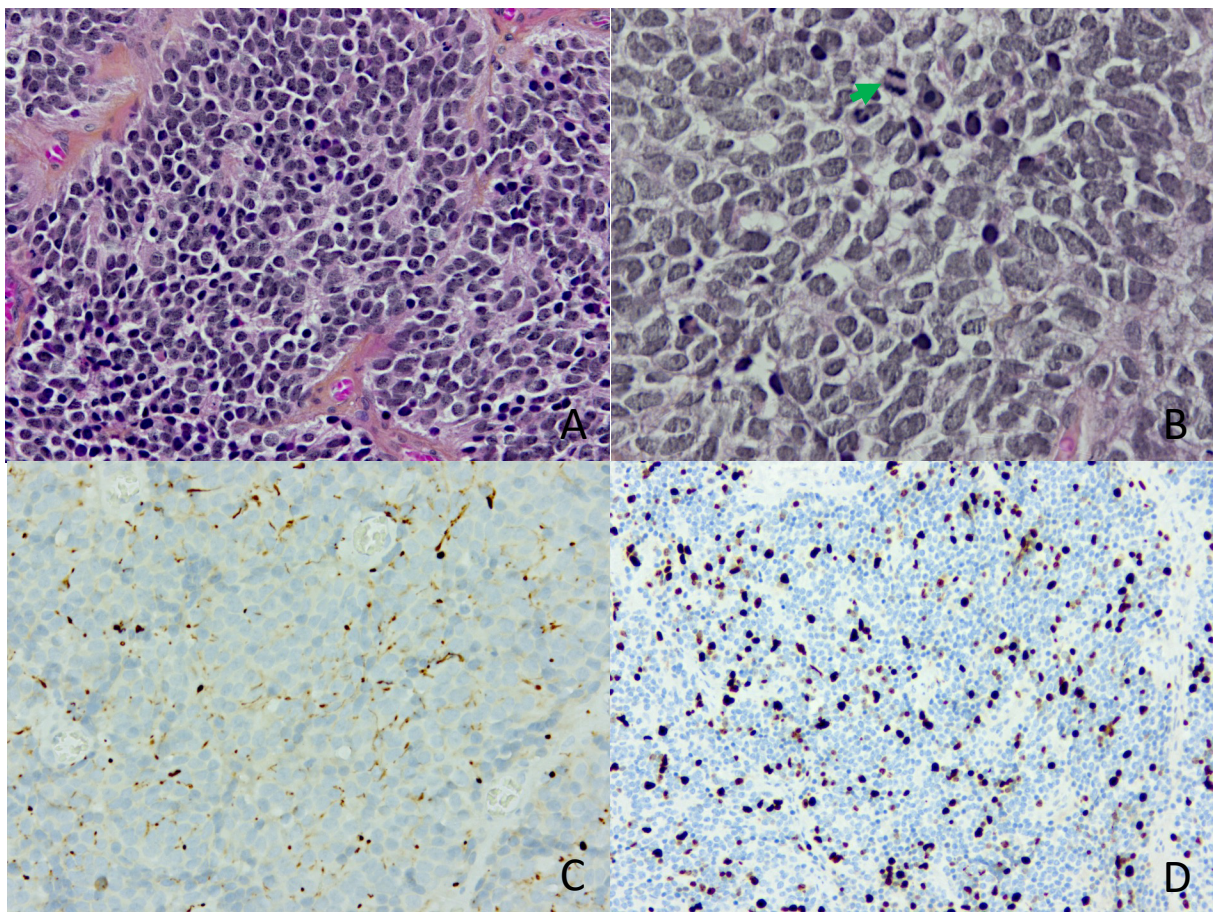


Figure 5. Histologie d'un pinéaloblastome (PB)

A- Pinéaloblastome avec rosettes d'Homer Wright, HPS, G x200 ; B- Prolifération cellulaire dense aux atypies cytonucléaires marquées et présentant de figures de mitoses (flèche verte) G x 400 ; C - Anticorps anti-NFP : absence de marquage ou très faible, G x200. D – Anticorps anti-ki67 mettant en évidence un indice de prolifération élevé (>30%), G X100.

1.5.2 Profil immunohistochimique

Sur le plan immunohistochimique, les PBs expriment de manière généralement diffuse le facteur de transcription CRX (49). La synaptophysine est diffusément positive. L'expression des NFP est faible voir absente (Fig. 5C) (28,37). L'indice de prolifération Ki67 est élevé avec un taux moyen aux alentours de 30 à 40% (34,37).

1.5.3 Profil moléculaire

En biologie moléculaire, quatre sous-groupes de PBs peuvent être distingués (Tableau 1)(29,38,48) :

- **PB-miRNA1 et PB-miRNA2** : Ces deux groupes affectent des enfants et adolescents, avec respectivement une médiane d'âge de 8,5 et 11,6 ans. Les groupes PB-miRNA se caractérisent tous les deux, par l'inactivation de gènes clés dans la biogenèse des microRNA (miRNA) (incluant *DICER1*, *DROSHA* et *DGCR8*). Les miRNA correspondent à des molécules d'ARN non codants qui exercent une action répressive sur l'expression des gènes par dégradation des ARN messagers (ARNm) ou inhibition de la traduction protéique. Leur biogenèse implique plusieurs étapes enzymatiques, dont une intranucléaire assurée par DROSHA et une intracytoplasmique assurée par DICER1. Sur le plan cytogénétique, on identifie le plus souvent des gains de matériel génétique au niveau des chromosomes 7, 12 et 17 pour les PB-miRNA1 et des pertes du bras long du chromosome 14 (14q) pour les PB-miRNA2 (37). Le pronostic est intermédiaire pour le groupe PB-miRNA1, avec une survie à 5 ans de 67,5%. Il est favorable pour le groupe PB-miRNA2 avec une survie à 5 ans de 100%.
- **PB-RB1** : Ce groupe affecte les jeunes enfants (médiane d'âge de 2,1 ans) et est associé à des mutations du gène *RB1* (13q14.2). *RB1* est le gène suppresseur de tumeur « prototypique » dont l'inactivation biallélique après un premier « hit » germinale et un second « hit » somatique, est responsable du rétinoblastome congénital bilatéral. Les variants identifiés dans les PBs sont comparables à ceux pouvant être retrouvés dans les rétinoblastomes ce qui souligne là encore le lien phylogénétique entre glande pinéale et rétine. Des tumeurs embryonnaires de la région pinéale peuvent s'observer dans 5% des patients atteints de rétinoblastome congénital bilatéral, réalisant ainsi un tableau de rétinoblastome trilatéral (50). Sur le plan cytogénétique, ces PBs se caractérisent par des gains en 1q et 6p et des pertes du chromosome 16, déséquilibres chromosomiques typiquement identifiés dans les

rétinoblastomes. L'inactivation biallélique de RB1 peut être mise en évidence par immunohistochimie. Le pronostic est péjoratif, avec une survie à 5 ans de 26,8% (37).

- **PB-MYC/FOXR2** : Ce dernier groupe ne présente pas de *substratum* moléculaire clairement établi. Il se caractérise par une surexpression de *FOXR2* à l'échelle de l'ARNm. Quelques cas se caractérisent par une amplification ou un gain de *MYC*. Les patients sont très jeunes (médiane d'âge de 1,3 ans). Sur le plan cytogénétique, l'étude des déséquilibres chromosomiques met en évidence des gains du bras long du chromosome 8 incluant le gène *MYC* et des pertes en 8p et 16q. Le pronostic est sombre, avec une survie à 5 ans de 20,5% (37).

1.6 Autres tumeurs de la région pinéale : la tumeur papillaire de la région pinéale

La tumeur papillaire de la région pinéale est une entité décrite pour la première fois par Jouvett et collègues en 2003 (51). Elle affecte les jeunes adultes avec une médiane à 29 ans (52). Elle dériverait des épendymocytes de l'organe sous-commissural, organe circumventriculaire situé dans la partie postérieure du troisième ventricule et à l'entrée de l'aqueduc de Sylvius (53). Il s'agit d'un épendymome spécifique à cette région avec une architecture papillaire et épithélioïde qui exprime la cytokératine 18 (CK18). La nature épendymaire est soulignée par l'expression de FOXJ1 et l'absence d'expression de CRX et des NFP (49). Le profil moléculaire de cette lésion est caractérisé par un profil de méthylation distinct, une perte du chromosome 10 et dans certains cas une mutation de *PTEN* (54,55).

1.7 Tumeurs du parenchyme pinéal : retour sur l'historique des classifications OMS

La première édition de la classification OMS des tumeurs du système nerveux central (SNC) est parue en 1979 (Figure 6)(41,56). Dans cette édition, seuls 2 types histopathologiques sont reconnus au sein des tumeurs pinéales : le PC (grade II) et le PB (grade IV). En 1993, le nouveau groupe des « tumeurs mixtes pinéaloctome/pinéoloblastome » est introduit dans la classification OMS puis confirmé dans celle de 1997. Sous cette dénomination, deux types de lésions sont englobées : les tumeurs mixtes *per se* et les tumeurs intermédiaires. Les tumeurs mixtes comprennent des zones distinctes de PC associées à des zones distinctes de PB. Les tumeurs intermédiaires se caractérisent par une cytologie transitionnelle (intermédiaire)

entre un PC et un PB. En 2000, le groupe « tumeurs mixtes pinéaloctome/pinéaloblastome » est supprimé et remplacé par le groupe des TPPDI. Ce changement permet une clarification de la position des tumeurs intermédiaires au sein des TPPs et traduit le grand scepticisme quant à l'existence de véritables tumeurs mixtes. Ces tumeurs semblent en effet plutôt correspondre à des PBs infiltrant un parenchyme pinéal normal pris à tort pour des PCs. En 2007 et 2016, la définition morphologique des TPPDI évolue et incorpore, en plus des cas « typiques », des cas dits « transitionnels » c'est-à-dire des tumeurs avec zones diffuses de type TPPDI associées à des secteurs de PC. La possibilité d'observer des cellules pléomorphes au sein des TPPDI est aussi ajoutée. Ces modifications sont directement inspirées des travaux du Dr Anne JOUVET sur la classification et le grading des TPPs (28,33). En 2021, les variants « pléomorphes » et « transitionnels » des TPPDI ne sont plus mentionnés explicitement dans la section des TPPDI. Leur statut n'est donc pas clairement défini dans la dernière mouture de la classification OMS. Pour la première fois, des données moléculaires sont introduites dans le diagnostic des TPPs. L'altération moléculaire de *KBTBD4* est retenue comme un critère « désirable » pour le diagnostic de TPPDI. Les PBs sont scindés en 4 groupes moléculaires : PB-miRNA1, PB-miRNA2, PB-RB1, PB-MYC/FOXR2.

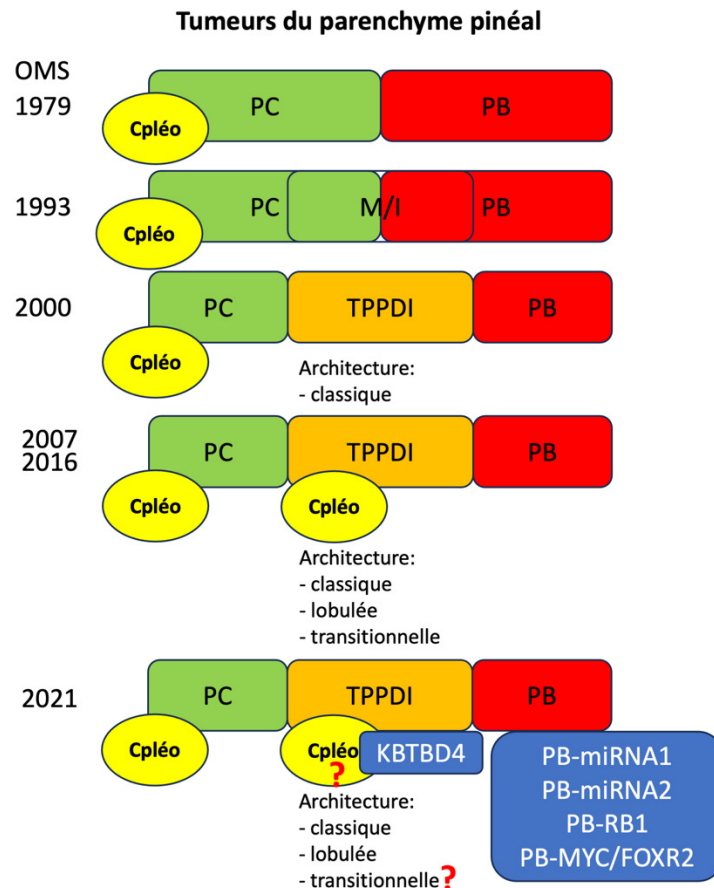


Figure 6. Évolution des tumeurs du parenchyme pinéal en fonction des classifications OMS des tumeurs du système nerveux central

1.8 Pinéalocytome ou tumeur du parenchyme pinéal de différenciation intermédiaire ? : des limites imprécises à l'origine de confusions diagnostiques

L'évolution historique de la classification des TPPs se caractérise donc par des définitions morphologiques changeantes, notamment pour les TPPDIs. Ceci a probablement contribué aux difficultés rencontrées dans l'évaluation pronostique de ces tumeurs et aux incertitudes concernant leur grading.

Les problèmes de diagnostic des TPPs basés sur les définitions actuelles de l'OMS 2021 sont parfaitement illustrés par une étude récente de l'équipe d'Heidelberg (40). Cette étude décrit un groupe inhabituel de TPPDIs caractérisé par une absence d'altération *KBTBD4*, un profil de

méthylation de PC, un index de prolifération médian de 6,1% et une perte fréquente du chromosome 13q. Morphologiquement, ces TPPDI présentent des aspects variables : architecture diffuse « typique », architecture transitionnelle avec secteurs de PC et variants pléomorphes. Appeler une tumeur TPPDI alors que le profil de méthylation est celui d'un PC peut sembler contre-intuitif. Néanmoins, les résultats de cette étude ne vont pas contre la définition de la TPPDI telle qu'elle est présentée dans l'OMS :

- la présence de l'altération *KBTD4* est désirable *mais pas obligatoire*
- les formes transitionnelles et pléomorphes ont été décrites dans les classifications OMS 2007 et 2016. Elles ne sont pas mentionnées textuellement dans la classification OMS 2021 : *leur validité n'est donc pas remise explicitement en question*
- l'index de prolifération médian est de 6,1% ce qui est incompatible avec le diagnostic de PC (index de prolifération < 1%)

Il faut tout de même noter que l'OMS recommande un profil de méthylation concordant pour confirmer le diagnostic de TPPDI dans les cas inhabituels de diagnostic difficile. Cet élément n'a pas été pris en compte dans cette étude.

Même si cette étude est sujette à discussion, elle est représentative du flou qui entoure encore le diagnostic des TPPs et plus particulièrement de la TPPDI et du PC. Il apparaît donc nécessaire de ré-évaluer les définitions actuelles de l'OMS de ces types tumoraux afin de permettre une meilleure reproductibilité du diagnostic. Dans ce cadre, l'analyse moléculaire peut jouer un rôle-clé pour faire le tri dans des tumeurs pinéales dont la morphologie est comparable.

1.9 Apport des techniques de biologie moléculaire dans la classification des tumeurs du système nerveux central

Traditionnellement, le diagnostic anatomo-pathologique des tumeurs du SNC était basé sur l'analyse morphologique en coloration standard associée au phénotypage immunohistochimique. Depuis 2016, la classification OMS des tumeurs du SNC a incorporé les données moléculaires (notamment issues du NGS (Next-Generation Sequencing) et du méthylome) au diagnostic anatomo-pathologique classique pour aboutir à un diagnostic intégré histo-moléculaire (57). Cette méthode « multiomics » augmente significativement la précision du diagnostic et améliore ainsi la prise en charge des patients (58).

Parmi les techniques moléculaires, l'étude du méthylome occupe une place privilégiée en neuropathologie tumorale. La méthylation correspond à un système de régulation génique épigénétique. Ce système est essentiellement sous la dépendance de DNA méthyltransférases qui vont lier un groupe méthyle sur le carbone d'une base cytosine en position 5'. Cette méthylation se produit principalement sur les résidus de cytosine dans des dinucléotides CpG, souvent regroupés dans des régions appelées « îlots CpG ». Le méthylome désigne l'ensemble des modifications chimiques du génome par méthylation de l'ADN (59). L'efficacité du méthylome pour identifier des entités différentes au sein de tumeurs de même aspect morphologique a été démontrée dans de nombreuses études. Ainsi, l'étude du méthylome de tumeurs diagnostiquées comme « PNET » (Primitive NeuroEctodermal Tumors) du SNC a montré que ce groupe constituait une classe « fourre-tout » se composant d'une vingtaine de types tumoraux (60). De même, sous l'étiquette histologique de « l'astroblastome » peut se cacher des entités tumorales variées (61).

1.10 Objectifs du travail :

Les TPPs apparaissent comme des entités rares pouvant représenter un challenge diagnostique pour le neuropathologiste. Nous l'avons vu, le diagnostic histopathologique OMS du PC et de la TPPDI reste fondamentalement basé sur l'analyse morphologique et l'immunohistochimie. Il n'y a pas d'altération moléculaire spécifique du PC autre qu'un profil de méthylation concordant. Quant à la mutation de *KBTD4*, elle ne constitue qu'un critère « désirable », donc non-obligatoire, pour le diagnostic de TPPDI. Depuis leur apparition dans la classification OMS, les TPPDIs n'ont jamais eu de grade défini (2 ou 3). Cet état de fait peut s'expliquer par un comportement biologique variable mais également par l'inclusion dans le groupe des TPPDIs d'autres types tumoraux avec un diagnostic erroné de TPDDI. Ainsi, l'inclusion de PCs dans le groupe des TPPDIs va mécaniquement améliorer le pronostic réel des TPDDIs. De même, l'inclusion de PBs dans le groupe des TPPDIs va mécaniquement aggraver le pronostic réel des TPPDIs. Ces problèmes diagnostiques impliquent que les définitions OMS des TPPs, en l'occurrence du PC et de la TPPDI, ne sont pas optimales. Or, la reproductibilité diagnostique est indispensable pour que les résultats des études cliniques soient interprétables. La capacité des analyses moléculaires à mieux caractériser les types

tumoraux au sein de néoplasmes de morphologie identique ou proche a été montré dans plusieurs études (*cf supra* exemples des « PNETs » et des « astroblastomes »).

Compte tenu de ces éléments, l'objectif de notre travail a été de redéfinir le PC et la TPPDI à travers le filtre moléculaire. Il s'agit d'une méthode de rétro-phénotypage : classer des tumeurs sur des éléments de nature uniquement moléculaires, sans *a priori* morphologique, et ensuite analyser les caractéristiques histopathologiques des groupes ainsi constitués. Ré-évaluer ces définitions a pour but d'améliorer la reproductibilité diagnostique de ces entités pour la prochaine classification OMS et ainsi de permettre une lecture plus fiable des différentes études cliniques portant sur les PCs et les TPPDIs.

Pour se faire, notre travail a consisté à confronter définition morphologique et définition moléculaire dans une cohorte de PCs (tableau 2) et de TPPDIs (tableau 3).

Selon l'OMS 2021, le PC est une tumeur bien différenciée du parenchyme pinéal composé de cellules uniformes formant de larges (pseudo)rosettes pinéaloctaires et/ou de cellules pléomorphes avec différenciation ganglionnaire. Les mitoses sont rares ou absentes. L'expression des NFP est forte. L'index de prolifération Ki67 moyen est inférieur à 1%. Son profil de méthylation est proche de la glande pinéale normale mais reste distinct.

Selon l'OMS 2021, la TPPDI est composée de plages diffuse ou larges lobules de cellules rondes monomorphes qui apparaissent mieux différenciées que celles du PB. L'activité mitotique est faible à modérée. L'expression des neurofilaments est variable. Les formes transitionnelles des TPPDIs (plages diffuses avec zones évocatrices de PC) et les TPPDIs avec cellules pléomorphes ont été détaillées dans les classifications OMS 2007 et 2016. Leur statut au sein de la classification OMS 2021 n'est pas clairement défini. La présence de l'altération moléculaire de *KBTD4* est un critère désirable du diagnostic, rapportée dans 80% des cas.

Pinéaloctome « morphologique »	Pinéaloctome « moléculaire »
- pseudorosettes pinéaloctaires - cellules pléomorphes - Expression forte des NFP - Ki67<1%	Classe de méthylation du « pinéaloctome » avec un score supérieur à 0,9

Tableau 2. Définitions morphologique et moléculaire du pinéaloctome

TPPDI « morphologique »	TPPDI « moléculaire »
- diffuse/lobulée - transitionnelle/avec cellules pléomorphes (?) - expression des NFP variable - Ki67 variable entre 5,2 et 11,2%	Altération moléculaire de <i>KBTD4</i> (80% des cas, critère <i>désirable</i> selon l'OMS)

Tableau 3. Définitions morphologique et moléculaire de la tumeur du parenchyme pinéal de différenciation intermédiaire

Le filtre moléculaire appliqué comprend 2 étapes (Figure 7) :

- 1) **Statut *KBTD4***. Nous faisons l'hypothèse que l'altération de *KBTD4* définit la TPPDI et doit donc est présente dans 100% de ces tumeurs.
- 2) **Profil de méthylation**. L'analyse du méthylome des tumeurs *KBTD4*-sauvages permet d'identifier le groupe de pinéaloctomes « moléculaires ».

L'analyse des données épidémiologiques, histologiques, immunohistochimiques et cytogénétiques des groupes ainsi définis (TPPDI « moléculaire » *KBTD4*-mutée versus PC « moléculaire » *KBTD4*-sauvage avec profil de méthylation concordant) permettra de redéfinir l'entité « PC » et « TPPDI » et d'évaluer la cohérence de ce filtre moléculaire.

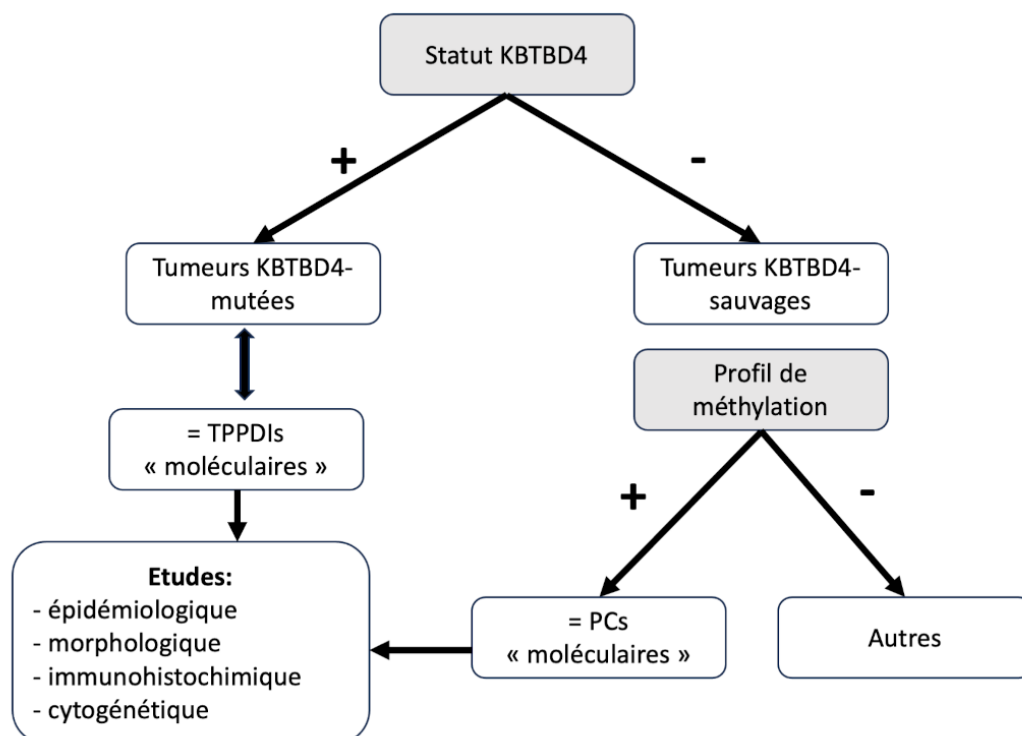


Figure 7. Schéma de l'étude : nature du filtre moléculaire

2 Article en Anglais

ABSTRACT:

Pineocytoma (PC) and pineal parenchymal tumor of intermediate differentiation (PPTID) are pineal parenchymal tumors (PPTs) with favorable and intermediate prognosis, respectively. Their morphology may be overlapping which makes them difficult to distinguish. The recent demonstration of *KBTD4* mutation as a specific molecular alteration of PPTID is an unprecedented opportunity to refine the World Health Organization (WHO) definitions of PC and PPTID and improve their distinction. No specific genetic driver has been found in PC. However, PCs have a distinct, yet closed, methylation profile from normal pineal gland. Through the molecular filter of *KBTD4* status and PC methylation profile, we aimed to revisit the histopathology of PPTID and PC.

We analyzed 58 patients with PPTID or PC histological diagnoses. "Molecular" PPTID was defined as a *KBTD4*-mutated tumor. "Molecular PC" was defined as a *KBTD4*-wild type tumor with a PC methylation profile. *KBTD4* mutation was present in 31 cases (median age: 36 years). Among them, ninety-seven percent of cases presented with a typical PPTID morphology: diffuse architecture, nuclear monomorphism, cytoplasmic neurofilament (NFP) expression in scattered cells, and a mean proliferation index of 11.75%. Among 27 *KBTD4*-wt cases, 22 were adults (median age: 56 years), including 20 "molecular" PCs. Compared with "molecular" PPTIDs, "molecular" PCs showed significant fibrillary background with small to medium pseudorosettes, stronger NFP immunoreexpression, and a mean proliferation index of 3.77%. Sixty percent of them exhibited chromosome 13q loss, yet without loss of RB1 nuclear expression in immunohistochemistry. Most cases of the pediatric/young adult group (n=5, median age: 18 years) were not classified with a diagnostic score on methylation analysis. They displayed atypical morphology (nodular and proliferating/epithelioid) and complex chromosomal imbalances including chromosome 3 loss.

The results of our study show the need to modify the current WHO diagnostic criteria for PC and PPTID. The *KBTD4* mutation appears as an effective filter for separating PPTIDs from PCs. This supports the promotion of this molecular alteration from a "desirable" to an "essential" diagnostic criterion in the future WHO classification. In contrast to the current WHO definition of PC, large pseudorosettes are a rare finding in this tumor and its proliferation index is higher than 1%. Loss of 13q is a common chromosomal imbalance that should be acknowledged. We also identified in the pediatric/young adult population a subgroup of *KBTD4*-wild type pineal parenchymal tumors that appears related to PCs, yet showing distinct morphology, different chromosomal imbalances, and a higher proliferation index than adult PCs.

KEYWORDS: pineal parenchymal tumor of intermediate differentiation, pineocytoma, *KBTD4*, methylation profile

Abbreviations:

CK18: Cytokeratin 18

CNS: Central nervous system

CNV: Copy number variant

CRX : Cone rod homeobox

DNA: Deoxyribonucleic acid

FFPE: Formalin-Fixed Paraffin-Embedded

HE: Hematoxylin eosin

KBTBD4: Kelch repeat and BTB domain containing protein 4

Mt: Mutated

NFP: Neurofilament protein

NGS: Next-generation sequencing

OM: Original magnification

PB: Pineoblastoma

PC: Pineocytoma

PPT: Pineal parenchymal tumor

PPTID: Pineal parenchymal tumor of intermediate differentiation

Wt: Wild type

WHO: World Health Organization

Revisiting the definition of pineocytoma and pineal parenchymal tumor of intermediate differentiation: contribution of the *KBTD4* status and methylation profile.

INTRODUCTION:

Pineal parenchymal tumors (PPTs) are rare central nervous system (CNS) neoplasms thought to originate from the pinealocyte, the main cellular component of the pineal gland. According to the World Health Organization (WHO) 2021 classification, they include 3 different tumor types: pineocytoma (PC), pineal parenchymal tumor of intermediate differentiation (PPTID) and pineoblastoma (PB), grade 1, grade 2-3 and grade 4 respectively (1–3). Their diagnosis is currently still based on morphology by hematoxylin and eosin (HE) and immunohistochemistry. Recent advances in the understanding of their molecular alterations through methylation analysis and next-generation sequencing (NGS) provide an unprecedented opportunity to refine their classification (4,5). Small in-frame insertions of 6 to 9 nucleotides in the *KBTD4* gene have been demonstrated in up to 80% of PPTIDs (6). It is considered as specific of this tumor type and was selected as a “desirable” criterion for the diagnosis of PPTID in the 2021 WHO classification (2). However, the recent description of a group of PPTIDs without *KBTD4* alteration has challenged this definition (7). This group of PPTIDs was characterized by a methylation profile of PC, a frequent 13q loss and a better prognosis compared with *KBTD4*-mutated (mt) PPTIDs. These contradictory findings highlight the current blurred boundaries between PC and PPTID and the need to revisit the diagnostic criteria of these tumors. A clear definition of each type of PPTs, including PC and PPTID, is needed so that clinicians can accurately assess the behavior and prognosis of these tumors and improve the management of their patients. In this study, we propose to analyze the clinical, histological, immunohistochemical and molecular characteristics of PCs and PPTIDs, through the molecular filter of *KBTD4*-status and methylation profile.

Material and Method:

Patient Population

The study population encompassed french patients who had undergone surgical procedures between 2013 and 2024 for PCs and PPTIDs. Two databases were screened to identify cases: the INCa-approved national RENOCIP-LOC database and the local Diamic database.

Histological material (slides and blocks) from each local pathology center was requested and collected in the Lyon Center of Pathology and Neuropathology. Epidemiologic data including sex and age were collected for each patient. Patients for which histological material was unavailable for review and molecular testing were excluded.

Histological and immunohistochemical analysis

Each case with available histological material was reviewed by 2 pathologists, one of whom is an expert in PPTs (AV and AS). For each case, the morphology on HE or HPS (Hematoxylin, Phloxine, Saffron), the mitotic count, the neurofilament protein (NFP) immunoexpression, and the Ki67 proliferation index were assessed. The morphologic analysis evaluated the extent of the fibrillary background in the tumor (score 0: absent or minimal fibrillary background/diffuse architecture; score 1: prominent fibrillary background with small or medium-sized pseudorosettes, score 2: obvious, large, and irregular fibrillary pseudorosettes) and the presence of pleomorphic cells (score 0: absence or exceptional; score 1: obvious at low magnification). The NFP immunoexpression was assessed as follows: score 0: negative; score 1: cytoplasmic positivity in a few cells; score 2: strong and diffuse positivity (clone 2F11, dilution 1:100). Mitoses were counted on 10 high-power fields (3 mm²). The Ki67 proliferation index was determined in the highest proliferative area by manual counting of at least 1000 cells (clone Mib1, dilution 1:50). RB1 immunostaining was performed for a subset of the total cohort (n=11, clone 13A10, dilution 1:50). Only a total loss of RB1 immunoexpression in the neoplastic cells with retained expression in endothelial cells was considered significant.

Molecular filter: *KBTD4*-status and methylation profiling

“Molecular” PPTID was defined as a *KBTD4*-mt tumor. Molecular testing for *KBTD4* small in-frame insertions was performed using either Sanger sequencing or NGS. For Sanger sequencing, the fragment (c.909-1025, p.303-342, NM-018095) was analyzed for the insertion of 6 bases c.937_INS_cacggc (p.Pro311_Arg312dup, NM-018095) or more (alteration described by Lee et al)(8).

For NGS, total nucleic acid extraction was performed on the Maxwell® RSC with the RNA formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) kit (AS1440). An Ampliseq library was prepared using the Ion Chef system, then sequenced using the Ion S5 sequencer. Bioinformatics analysis was performed using Ion torrent V5.16, with a detection limit of mutations with an allelic frequency > 5%.

KBTD4-wild type (wt) cases were further investigated with methylome analysis. DNA and RNA were extracted from FFPE tumors sample. Genome-wide DNA methylation profiling was performed using the EPICv2 array. DNA methylation analysis was performed using Classifier 12.8 from <https://app.epignostix.com>. This classifier is trained on a well-annotated reference set consisting of 7,495 samples covering 184 sub-classes of tumors of the central nervous system. Random forest algorithm provides confidence level for each class, allowing reproducible classification. Classifier algorithm compares each case to thousands of cases in a reference cohort. It outputs a classification score reflecting the similarity to a particular tumor class. Each class yields a confidence score ranging from 0 to 1. To identify a tumor type, the methylation subclass score must be greater than a threshold of 0.9.

“Molecular” PC was defined as a *KBTD4*-wt tumor with a PC matching methylation profile (score > 0.9).

Patients were excluded if methylome analysis and/or *KBTD4* testing were not available.

CNV profile

The total methylation signal (sum of unmethylated and methylated signals) reflects the underlying CNV. Conumee detects CNVs by normalizing experimental samples to reference samples using multiple linear regression, calculating log2-ratios of probe intensities, binning probes, and segmenting the genome (<https://bioconductor.org/packages/conumee.html>). For chromosome 13q, only complete loss was considered significant.

Statistical analyses

Statistical analyses were performed using Microsoft Excel. A Student’s t-test was applied to compare the data and assess significant differences between defined groups ($p < 0.05$).

RESULTS:

Eighty-one patients with a histopathological diagnosis of PC or PPTID were identified in the databases (Figure 1). Twenty-three patients were excluded because of lack of available histological material. A total of 58 patients were available for *KBTD4* testing (Figure 2).

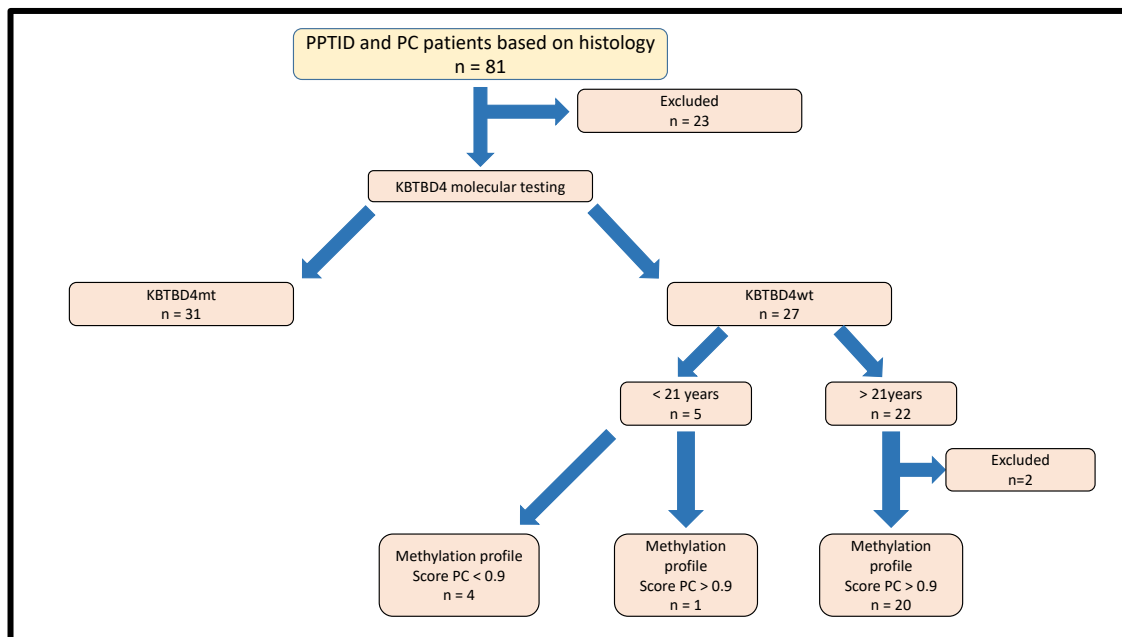


Figure 1. Flowchart for molecular testing of PPTID and PC patients

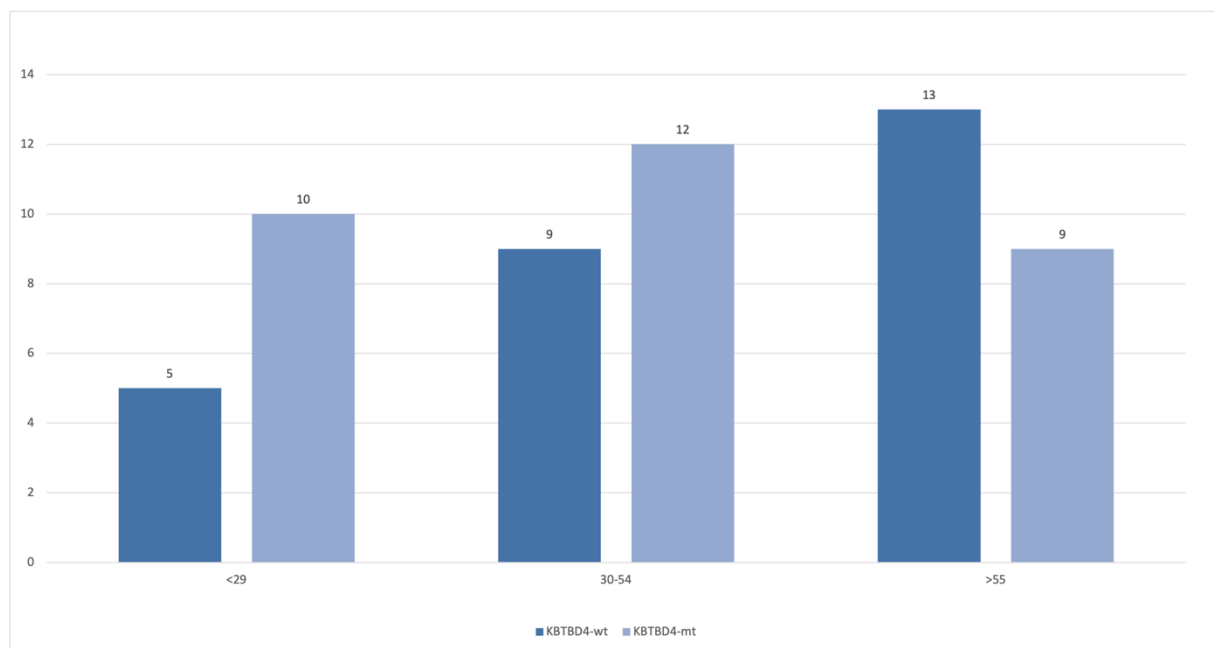


Figure 2. Age distribution at diagnosis of patients according to *KBTBD4* status

□ *KBTBD4*-mt population

Thirty-one patients were mutated in the *KBTBD4* gene (“molecular” PPTID). The median age of these patients was 36 years, ranging from 13 to 82 years (table 1). All cases had an initial histopathological diagnosis of PPTID. Ninety-seven percent of cases exhibited a diffuse architecture with minimal fibrillary background (score 0). In only one case, large pseudorosettes reminiscent of PC were identified. All cells were monomorphic with a round

nucleus and a “salt and pepper” chromatin (Fig.3A). No pleomorphic cell was identified (score 0: 100%). NFP immunoexpression was restricted to the cytoplasm of a few scattered neoplastic cells (score 1: 100%) (Fig.3C). The Ki-67 proliferation index averaged 11.75 (IC95: 10.07 - 13.43) and the median mitotic count was 2 (Fig.3E).

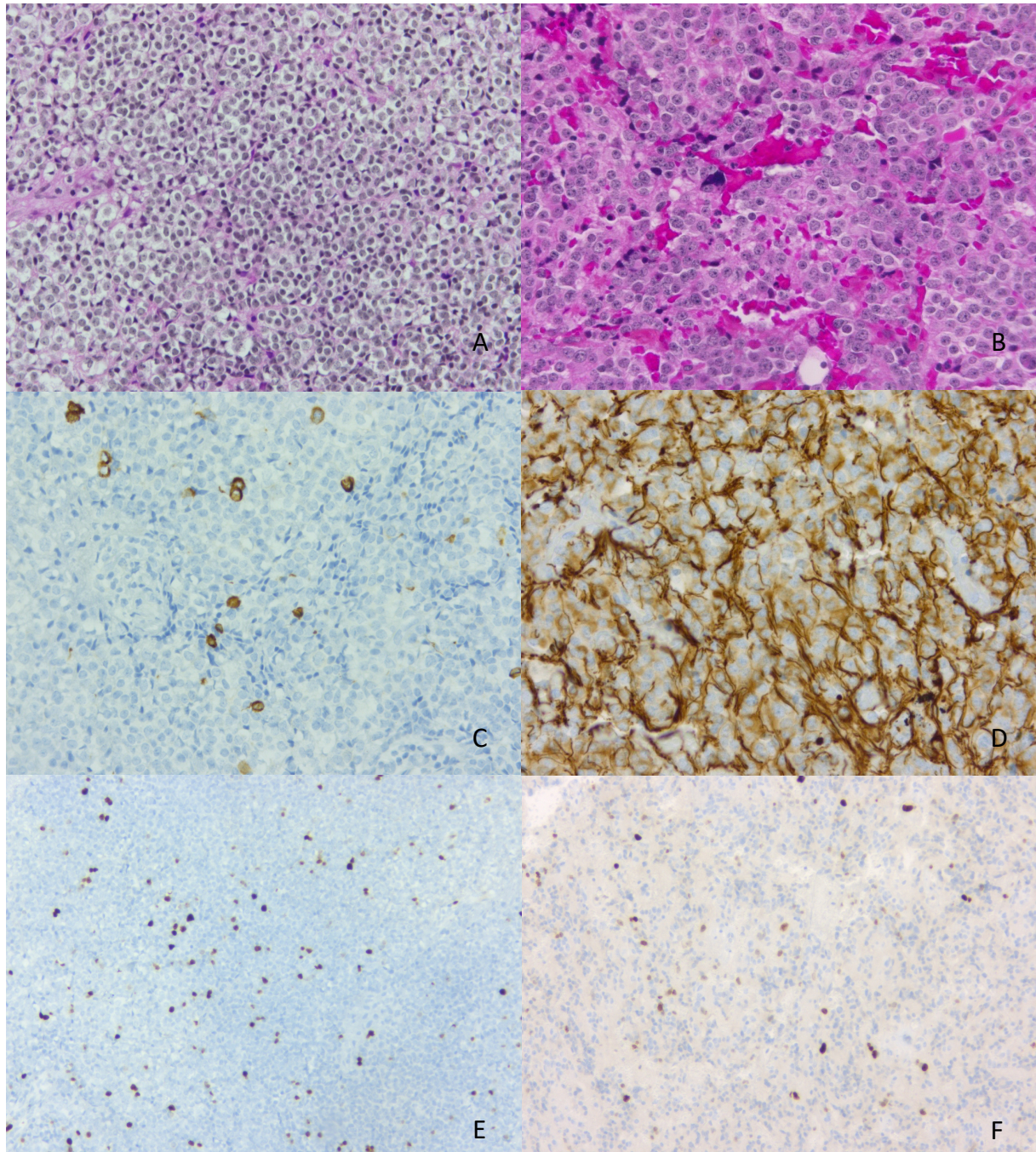


Figure 3. Comparison of 2 histologically diagnosed diffuse PPTIDs: *KBTBD4*-mt versus *KBTBD4*-wt
A & B- The two tumors presented as diffuse sheets of monomorphic cells without an obvious fibrillary background, HPS, OM x200; C & D- NFP expression is restricted to a few cells with cytoplasmic positivity in the *KBTBD4*-mt case (C), whereas it is strong and diffuse in the *KBTBD4*-wt case with a PC methylation profile (D) OM

x 200; E & F- The *KBTD4*-mt case showed a ki67 proliferation index of 8,3% (E) higher than in the *KBTD4*-wt case (F) (here at 5%), OM x 100.

	<i>KBTD4</i> -mt group Molecular “PPTID” (n=31)	<i>KBTD4</i> -wt adult group Molecular “PC” (n=20)	<i>p value</i>
Female (n)	16	12	-
Age (median)	36	56	0.0062
Ki67% (average, IC95)	11,75 (10,07-13,43)	3,77 (2,62-4,91)	0.0023
Mitotic count (median)	2	0	<0.0001
<i>KBTD4</i> variant (n)	31	0	-
Deletion 13 (n)	-	14	-
Pleomorphic cells, % (n)	- Score 1 : 0% (0) - Score 0 : 100% (0)	- Score 1 : 60% (12) - Score 0 : 40% (8)	-
NFP expression, % (n)	- Score 2 : 0% (0) - Score 1 : 100% (31)	- Score 2 : 85% (17) - Score 1 : 15% (3)	-
Fibrillar background architecture, % (n)	- Score 2: 3% (1) - Score 1: 0% (0) - Score 0 : 97% (30)	- Score 2: 25% (5) - Score 1: 60% (12) - Score 0: 15% (3)	-

Table 1. Characteristics of *KBTD4*-mt patients (“molecular” PPTIDs) and *KBTD4*-wt adult patients with a methylation profile of PC (“molecular PC”).

□ *KBTD4*-wt population

Twenty-seven cases demonstrated no alteration of the *KBTD4* gene. The *KBTD4*-wt population was further divided in 2 groups according to the age of the patients (< or > 21 years old).

The adult population included 22 cases, with a median age of 56 years ranging from 34 to 74 years. Histologically, 20 cases were initially diagnosed as PC and two as PPTID. Methylation profiling was non-contributory in two PC cases due to technical issues. The remaining 20 patients exhibited a methylation profile matching the PC methylation class (“molecular” PC) (table 1). Among these 20 cases, large pineocytomatous pseudorosettes (score 2) were only

found in 5 cases (25%) (Fig.4A). A more irregular fibrillar background with small to medium-sized pseudorosettes pattern (score 1) was observed in 12 cases (60%) (Fig.4B) and a diffuse architecture (score 0) in 3 cases (15%) (Fig.3B). The presence of pleomorphic cells (score 1) was observed in 12 cases (60%) (Fig.4B). The mean proliferation index was 3.77% [IC95: 2,62-4,91] (Fig.3F and 4D). Mitoses were rare with a mean mitotic count at 0,61. A strong NFP immunopositivity (score 2) was found in 17 cases (85%) (Fig.3D and 4C).

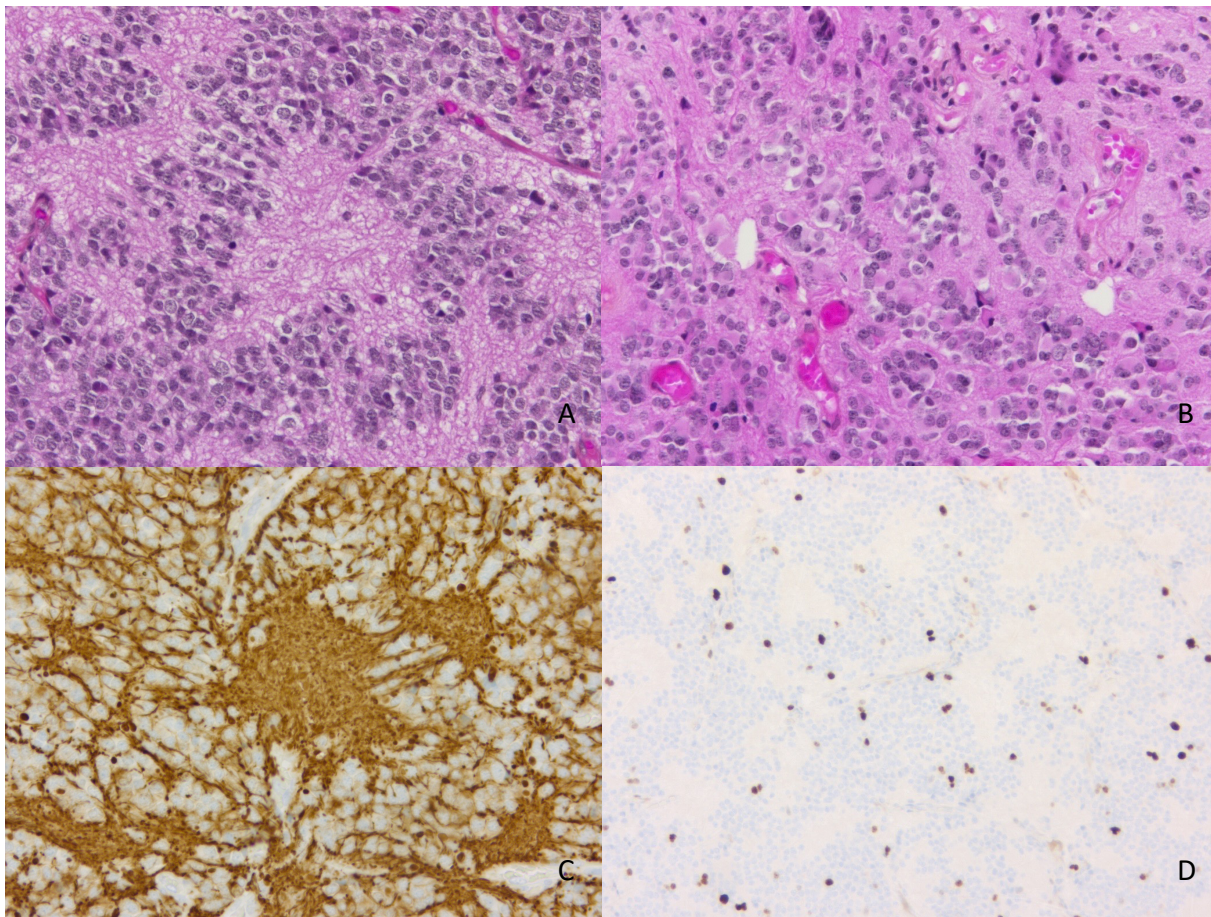


Figure 4. Histology of “molecular” PC

A- Large pineocytomatous pseudorosettes, HPS, OM x 200; B- Pleomorphic cells are present in more than half of the cases in this group, HPS, OM x 200; C- NFP expression is strong, fibrillary, and cytoplasmic, OM x200; D- In this case, ki67 proliferation index is estimated at 4.4%, OM x200.

The group of pediatric/young adult cases included 5 cases with a median age of 18 years (ranging from 5 to 19). Among the pediatric/young adult group, only one case showed a diagnostic score superior to 0.9 for the PC methylation class. This case had a fibrillary background with small and medium-sized pseudorosettes, pleomorphic cells and strong immunoexpression of NFP. In contrast, 4 cases did not achieve a diagnostic score in methylation analysis. However, all cases clustered in the “pineal parenchymal and retinal

tumors” family. They were characterized by an unusual morphology. Three cases showed proliferating nodules with large pseudorosettes (Fig.5E-G). These nodules were embedded in a type 1 fibrillary background with some pleomorphic cells (score 1) (Fig.5E). NFP immunoexpression was strong (score 2) (Fig.5F). The mitotic and proliferative activity was almost restricted to these nodules. Mitotic count ranged from 2 to 14 mitoses and Ki67 index from 5.3 to 18.2% (Fig.5G). One case had an epithelioid cytology with large cells exhibiting round and abundant eosinophilic cytoplasm and eccentric large nucleus (Fig.5A). These cells expressed cytokeratin 18, an epithelial marker (Fig.5B) and were NFP-negative (score 0) (Fig.5C). A few mitoses were found. The ki67 proliferation index was low (2.5%) (Fig.5D).

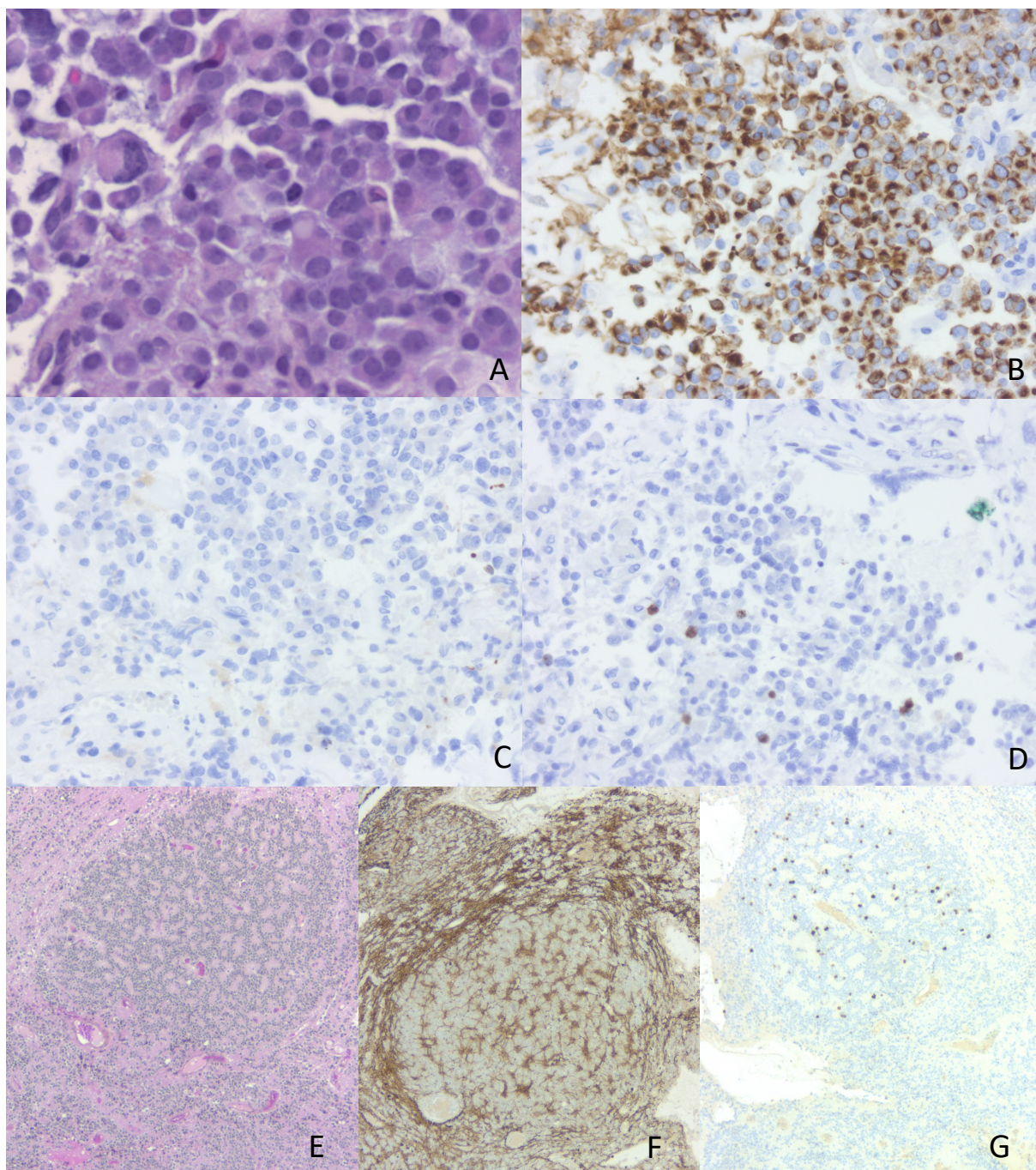


Figure 5. Pediatric/young adult *KBTBD4*-wt cases with no diagnostic score on methylation profile
A- One of the cases showed epithelioid cytology with marked pleomorphism, HES, OM x 400; B- The cells expressed cyokeratin 18, OM x 200; C- No expression of NFP was observed, OM x 200; D- The Ki67 proliferation index was 2,5%, OM x 200; E- The architecture of three other cases was nodular, HES, OM x 5; F- Strong expression of NFP is observed in the fibrillary background, OM x 5; G- The Ki67 proliferation index is higher in the nodules, OM x 5.

□ Copy number variations (CNVs)

Regarding CNVs of the 25 patients available for analysis, 20 patients exhibited chromosomal copy number alterations, either gains or losses (Figure 6). A deletion of chromosome 13q was observed in 15 out of 25 patients, with an isolated loss of chromosome 13q found in 4 of these 15 patients. One patient did not present any loss of genetic material but instead showed gains in chromosomes 5, 7, 14, and 21. Four patients exhibited no chromosomal gains or losses.

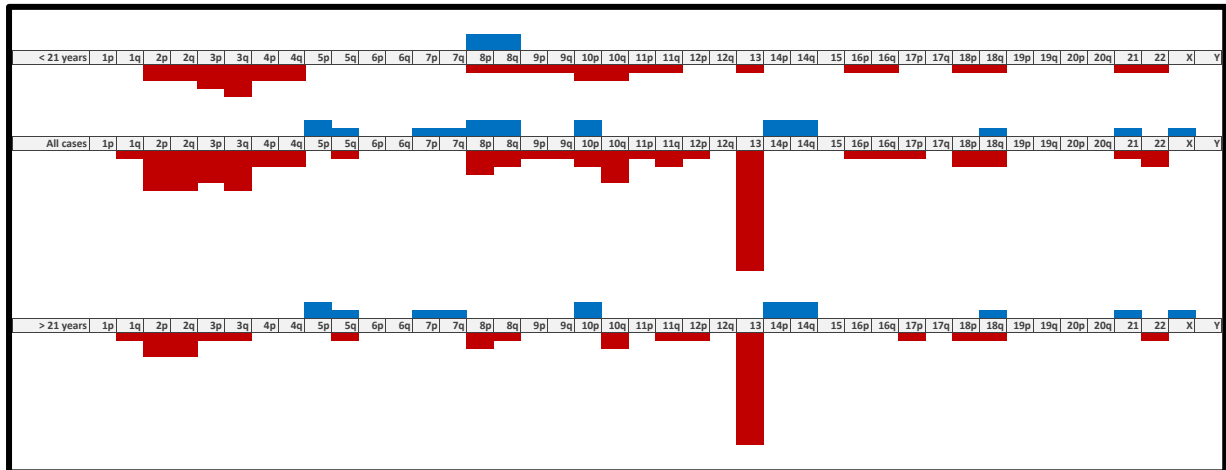


Figure 6. Representation of the CNVs in 25 patients.

The first histogram represents patients < 21 years, the second the total CNVs obtained and the third the CNVs obtained for adult patients with a pineocytoma score >0.9 (n= 20).

□ RB1 immunoexpression in *KBTBD4*-wt population and loss of 13q

Of the 20 cases in the adult *KBTBD4*-wt (“molecular” PC) group, 10 (50%) were tested for RB1 immunoexpression. Nine cases had maintained RB1 nuclear expression (7 diffuse, 2 focal). Of these, 6 (66.6%) had loss of chromosome 13q. One case was non-contributory.

□ Comparison between *KBTBD4*-mt cases (“molecular” PPTIDs) and *KBTBD4*-wt adult cases with a PC methylation profile (“molecular” PCs) (table 1)

The median age was significantly lower in the *KBTBD4*-mt population than in the *KBTBD4*-wt adult population. Regarding the fibrillary background, nearly all *KBTBD4*-mt cases had a diffuse architecture (score 0: 97%) while it was found in only 15% of the adult *KBTBD4*-wt cases. None of the adult *KBTBD4*-mt cases showed pleomorphic cells, whereas these were present in 60% of the *KBTBD4*-wt adult cases. All *KBTBD4*-mt cases showed NFP expression in

the cytoplasm of scattered cells (score 1) compared with 15% of adult *KBTD4*-wt cases. In these cases, the majority had a strong NFP immunoexpression (score 2: 85%).

The proliferation index was also significantly different, being higher in the *KBTD4*-mt population.

- Comparison between pediatric/young adult *KBTD4*-wt cases without diagnostic score on methylome analysis and *KBTD4*-wt adult cases with a PC methylation profile (“molecular” PCs) (table 2)

The mean Ki67 proliferation index was higher in the pediatric/young adult cases than in the adult group: 10,5% (IC95%: 4,29% -16,7%) versus 3,77 % (IC95%: 2,62%-4,91%) (p= 0,0029). Mitoses was also more frequent with a median mitotic count of 4 (p<0.0001). Chromosome imbalances were more complex than in the adult group. In contrast to the adult group, loss of 13q was not observed. All four patients exhibited a complete or partial loss of chromosome 3.

	<i>KBTD4</i> -wt adult group (“molecular” PC) (n=20)	<i>KBTD4</i> -wt pediatric/young adult group without methylation class (n=4)	<i>p</i> value
Female (n)	12	3	-
Age (median)	56	16	0.00049
Ki67% (average, IC95)	3,77 (2,62-4,91)	10,5 (4,29% -16,7%)	0.00029
Mitotic count (median)	0	4	<0.0001
<i>KBTD4</i> variant (n)	0	0	-
Deletion 13 (n)	14	0	-
Deletion 3 (n)	1	4	-

Table 2. Characteristics of pediatric/young adult *KBTD4*-wt cases without diagnostic score on methylome analysis and *KBTD4*-wt adult cases with a PC methylation profile (“molecular” PCs)

DISCUSSION:

In the past, the histopathological diagnosis of PPTs only relied on morphology and immunohistochemistry (1,3). The WHO definition of PPTID has undergone significant evolution over the last few decades (9,10). This was a source of confusion, notably with PC, as illustrated by the recent report of Rahmanzade et al (7). In this study, we proposed to revisit the definition of PC and PPTID based on molecular data. Our results support the need of significant changes in the current definitions of PC and PPTID for the future WHO classification.

□ *Revisiting the definition of pineocytoma based on molecular data*

In this study, we define “molecular” PCs as *KBTBD4*-wt tumors with a matching methylation profile. The histological analysis of this group showed that the typical pineocytomatous pseudorosettes, which are part of the WHO definition, were not the most frequently observed pattern (only 25% of cases) (2). Also, a diffuse architecture, reminiscent of PPTID, was found in 15% of cases. This may explain why two cases of “molecular” PCs with diffuse architecture were initially diagnosed as PPTID. Therefore, the absence of a well-developed fibrillary background should not rule out the diagnosis of PC as defined by molecular data. It should be noted that the absence of pseudorosettes may be more frequent in biopsies where a limited amount of representative tumoral tissue is available. Our results indicate that the Ki-67 proliferation index in “molecular” PCs is higher (mean: 3.77%) than the established value in the current WHO classification (less than 1%) (2). This may explain why some authors have favored the diagnosis of PPTID over PC because of a higher Ki67 proliferation index than expected (7). Anti-NFP immunohistochemistry proved to be discriminating, with strong expression in “molecular” PCs, while focal and limited to a few scattered cells in “molecular” PPTIDs. Interestingly, pleomorphic cells were only found in “molecular” PCs and not in “molecular” PPTIDs. The presence of pleomorphic cells is thus a strong indicator of the diagnosis of PC. The description of pleomorphic PPTIDs by some authors is not molecularly consistent (2,11). The inclusion of these pleomorphic tumors as variants of PPTID in the 2007 and 2016 WHO classifications explain why Rahmanzade and colleagues diagnosed some tumors with pleomorphic cells as PPTIDs (7). In line with this, the two “molecular” PCs morphologically diagnosed as PPTID contained pleomorphic cells despite their diffuse architecture. In the 2021 WHO classification, the status of pleomorphic variants of PPTID is

not explicitly discussed. The absence of pleomorphic cells in PPTID should thus be clearly acknowledged in the next WHO classification.

The loss of chromosome 13q appears to be a recurrent alteration in the adult “molecular” PC group. In this study, we could not assess the CNV profile of the *KBTBD4*-mt “molecular” PPTID group. We cannot thus draw firm conclusions regarding the specificity of 13q loss for the diagnosis of PC, compared with PPTID. However, in one study, the frequency of 13q loss in *KBTBD4*-mt PPTIDs was very low, reaching only 13% (7).

RB1 immunohistochemistry is a useful tool in the diagnosis of PB to identify the PB-RB1 subtype (9). In this molecular subgroup, the biallelic inactivation of *RB1* located at 13q14.2 may be demonstrated by the loss of nuclear RB1 immunoexpression in the neoplastic cells. In our cohort, the RB1 immunostaining was heterogeneous, without obvious loss. No correlation with 13q loss was found. Even if the frequent 13q loss in PC may suggest a role of the *RB1* pathway in the pathogenesis of this tumor, the rare molecular studies that explored PCs did not find any relevant mutations in this gene (12).

□ *Revisiting the definition of PPTID based on molecular data*

Until now, *KBTBD4* mutations have been described in up to 80% of PPTIDs and are absent in PC and PB (6,8). These results led us to define “molecular” PPPTIDs as *KBTBD4*-mt tumors in our study. The morphology of PPTID, as defined by the presence of the *KBTBD4* alteration, was strikingly homogeneous. The vast majority of “molecular” PPTIDs shows a diffuse architecture with minimal fibrillary background and scattered NFP-positive cells. The NFP immunostaining pattern is very peculiar with cytoplasmic positivity in a few neoplastic cells dispersed in a negative background. This distribution is not observed in “molecular” PCs. Only one case of “molecular” PPTID exhibited large pseudorosettes similar to what is seen in PC. The diffuse architecture should thus favor the diagnosis of PPTID. The *KBTBD4* mutation appears crucial in the definition of PPTID. No *KBTBD4*-wt tumors showed a methylation profile of PPTID. These results favor the promotion of the *KBTBD4*-positive status as an “essential” criterion for the diagnosis of PPTID in the next WHO classification. In the recent study by Yamashita and colleagues, *KBTBD4* mutations were found in up to 80% of histologically diagnosed PPTID cases (6). These results may suggest that some PPTIDs are *KBTBD4*-wt. This would be in line with the current WHO definition where the *KBTBD4* mutation is only “desirable” for the diagnosis of PPTID. However, the methylation profile of the *KBTBD4*-wt

cases in this study were not assessed to ensure that these did not correspond to other tumoral entities. In this article, a low-grade “*KBTD4*-wt PPTID” is depicted in Figure 1A. This tumor featured a well-developed fibrillary background and pleomorphic cells which are far more consistent with PC than PPTID. This underlines that the “*KBTD4*-wt PPTIDs” of this cohort may probably correspond to PCs rather than PPTIDs. We also cannot rule out technical issues leading to false negatives.

□ *KBTD4*-wt pineocytic tumors in children and young adults

PC is typically a tumor affecting the adult of more than 50 years (13). The diagnosis of PC in children and young adults is rare and should always be made after careful histopathological, molecular and radiological review. The main differential diagnosis is pineal glial pseudocyst that may mimic a PC because of the architectural distortion of the normal pineal parenchyma (14,15). Except for one case, our study has identified a group of pediatric/young adult pineal parenchymal tumors which seems related to, but different from the adult “molecular” PC group. Three cases showed a morphology consistent with classical PC (pineocytomatous pseudorosettes and pleomorphic cells) but differed by the presence of proliferating nodules. Their proliferation index was higher than in “molecular” PCs and similar to *KBTD4*-mt PPTIDs. One case showed an epithelioid cytology with cytokeratin 18 positivity and NFP negativity. The expression of cytokeratin 18 is a typical feature of papillary tumors of the pineal region but is reported negative in PCs (16). This pediatric case is a low-grade tumor of the pineal lineage (CRX positivity) that is characterized by unusual epithelial features. The methylation score was 0.79 for PC. Despite this non-diagnostic score, all the data point towards a peculiar type of PC. The CNV profile of the pediatric/young adult cases was notably different, more complex with loss of chromosome 3.

In conclusion, the definitions of PC and PPTID require significant changes in the next WHO classification. PC should be defined as a *KBTD4*-wt pineal parenchymal tumor showing a variable fibrillary background (from minimal to large pseudorosettes) and strong NFP immunopositivity. Pleomorphic cells may be found in some cases. The Ki67 proliferation index is low but variable with a mean of 3.8%.

PPTID should be defined as a *KBTD4*-mt pineal parenchymal tumor that is mostly characterized by a diffuse architecture and scattered NFP-positive cells. Large pseudorosettes are usually not seen. The presence of pleomorphic cells is not consistent with PPTID.

Finally, we describe a group of unrecognized pineocytic tumors in the children/young adult population. Three cases seemed related to PC but differed by the presence of proliferating nodules, higher Ki67 proliferation index and complex CNVs including chromosome 3 loss. One case showed an epithelioid cytology with CK18 positivity reminiscent of papillary tumor of the pineal region. The clinical relevance of these new definitions needs now to be evaluated.

Bibliography:

1. Jouvét A, Saint-Pierre G, Fauchon F, Privat K, Bouffet E, Ruchoux M, et al. Pineal Parenchymal Tumors: A Correlation of Histological Features with Prognosis in 66 Cases. *Brain Pathol*. 2006 Apr 5;10(1):49–60.
2. Louis DN, Perry A, Wesseling P, Brat DJ, Cree IA, Figarella-Branger D, et al. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro-Oncol*. 2021 Jun 29;23(8):1231–51.
3. Vasiljevic A. Histopathology and molecular pathology of pediatric pineal parenchymal tumors. *Childs Nerv Syst ChNS Off J Int Soc Pediatr Neurosurg*. 2023 Sep;39(9):2273–84.
4. Liu APY, Li BK, Pfaff E, Gudenäs B, Vasiljevic A, Orr BA, et al. Clinical and molecular heterogeneity of pineal parenchymal tumors: a consensus study. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2021 May;141(5):771–85.
5. Karimzadeh M, Ernst C, Kundaje A, Hoffman MM. Umap and Bismap: quantifying genome and methylome mappability. *Nucleic Acids Res*. 2018 Nov 16;46(20):e120.
6. Yamashita S, Takeshima H, Hata N, Uchida H, Shinojima N, Yokogami K, et al. Clinicopathologic analysis of pineal parenchymal tumors of intermediate differentiation: a multi-institutional cohort study by the Kyushu Neuro-Oncology Study Group. *J Neurooncol*. 2023 Apr 1;162(2):425–33.
7. Rahmanzade R, Pfaff E, Banan R, Sievers P, Suwala AK, Hinz F, et al. Genetical and epigenetical profiling identifies two subgroups of pineal parenchymal tumors of intermediate differentiation (PPTID) with distinct molecular, histological and clinical characteristics. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2023 Dec;146(6):853–6.
8. Lee JC, Mazar T, Lao R, Wan E, Diallo AB, Hill NS, et al. Recurrent KBTBD4 small in-frame insertions and absence of DROSHA deletion or DICER1 mutation differentiate pineal parenchymal tumor of intermediate differentiation (PPTID) from pineoblastoma. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2019 May 1;137(5):851–4.
9. Scheithauer BW. Development of the WHO classification of tumors of the central nervous system: a historical perspective. *Brain Pathol Zurich Switz*. 2009 Oct;19(4):551–64.
10. Vasiljevic A. Pineal parenchymal tumors of intermediate differentiation: in need of a stringent definition to avoid confusion. Scientific commentary on “Genetical and epigenetical profiling identifies two subgroups of pineal parenchymal tumors of intermediate differentiation (PPTID) with distinct molecular, histological and clinical characteristics.” *Acta Neuropathol (Berl)*. 2024 Feb 10;147(1):34.
11. Fèvre-Montange M, Szathmari A, Champier J, Mokhtari K, Chrétien F, Coulon A, et al. Pineocytoma and pineal parenchymal tumors of intermediate differentiation presenting cytologic pleomorphism: a multicenter study. *Brain Pathol Zurich Switz*. 2008 Jul;18(3):354–9.

12. Pfaff E, Aichmüller C, Sill M, Stichel D, Snuderl M, Karajannis MA, et al. Molecular subgrouping of primary pineal parenchymal tumors reveals distinct subtypes correlated with clinical parameters and genetic alterations. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2020 Feb 1;139(2):243–57.
13. Fauchon F, Jouvét A, Paquis P, Saint-Pierre G, Mottolese C, Ben Hassel M, et al. Parenchymal pineal tumors: a clinicopathological study of 76 cases. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2000 Mar 1;46(4):959–68.
14. Mena H, Armonda RA, Ribas JL, Ondra SL, Rushing EJ. Nonneoplastic pineal cysts: A clinicopathologic study of twenty-one cases. *Ann Diagn Pathol*. 1997 Oct 1;1(1):11–8.
15. Klein P, Rubinstein LJ. Benign symptomatic glial cysts of the pineal gland: a report of seven cases and review of the literature. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1989 Aug;52(8):991–5.
16. Jouvét A, Fauchon F, Liberski P, Saint-Pierre G, Didier-Bazes M, Heitzmann A, et al. Papillary tumor of the pineal region. *Am J Surg Pathol*. 2003 Apr;27(4):505–12.

3 Discussion générale

Le diagnostic des TPPs repose historiquement sur l'analyse morphologique et l'immunohistochimie (28,37). La définition OMS des TPPDI a considérablement évolué au cours des dernières décennies (41,56). Cette évolution a entraîné une confusion diagnostique, notamment avec le PC, comme l'illustre l'étude récente de Rahmanzade et collègues (40). Avec ce travail de rétro-phénotypage, nous proposons de réviser la définition du PC et de la TPPDI à la lumière des données moléculaires. Nos résultats soulignent la nécessité de changements importants dans les définitions actuelles du PC et de la TPPDI en vue de la prochaine classification OMS des tumeurs du SNC.

□ Révision de la définition du PC à la lumière des données moléculaires

Dans cette étude, nous avons défini les PCs « moléculaires » comme des tumeurs *KBTD4*-sauvages avec un profil de méthylation de PC. L'analyse histologique montre que les pseudorosettes pinealocytaires typiques, tels que décrits dans la définition OMS, ne sont pas l'architecture la plus fréquente (25 % des cas)(35). De plus, une architecture diffuse, évocatrice d'une TPPDI, est retrouvée dans 15 % des cas. Cela pourrait expliquer pourquoi deux cas de PC « moléculaire » possédant une architecture diffuse ont été initialement diagnostiqués comme TPPDI. Par conséquent, l'absence de fond fibrillaire bien développé ne devrait pas conduire à exclure le diagnostic de PC tel que nous le définissons moléculairement. Il convient également de noter que sur des prélèvements biopsiques l'absence de grandes pseudorosettes pinealocytaires pourrait être plus fréquente compte tenu de la faible surface tumorale à analyser. Nos résultats montrent également que la moyenne de l'index de prolifération Ki-67 dans les PCs « moléculaires » est de 3,77 %, supérieur à la valeur actuellement retenue dans la classification OMS (<1 %) (35). Cette donnée peut également expliquer pourquoi certains auteurs ont pu privilégier le diagnostic de TPPDI par rapport à celui de PC en raison d'un indice de prolifération Ki67 supérieur à 1% (40).

L'immunohistochimie anti-NFP s'avère être un immunomarquage discriminant et se caractérise par une forte expression dans les PCs « moléculaires », tandis qu'elle apparaît focale et limitée à quelques cellules éparses dans les TPPDI « moléculaires ».

La présence de cellules pléomorphes n'a été retrouvée que dans les PCs « moléculaires », et constitue donc également un élément d'orientation fort en faveur du diagnostic de PC. La

présence de variantes pléomorphes de TPPDI dans les classifications OMS 2007 et 2016 peut expliquer la raison pour laquelle l'équipe de Rahmanzade a diagnostiqué certains cas comme des TPPDIs malgré la présence de cellules pléomorphes (40). En accord avec cet élément, les deux cas de PC « moléculaire » initialement diagnostiqués dans notre cohorte comme TPPDI présentaient des cellules pléomorphes malgré une architecture diffuse. Dans la classification OMS 2021, ce point n'est pas abordé explicitement (35). L'absence de cellules pléomorphes dans les TPPDIs devra faire l'objet d'une clarification dans la prochaine classification OMS.

La perte du chromosome 13q est une altération récurrente dans le groupe adulte des PCs « moléculaires ». Dans cette étude, nous n'avons pas pu analyser le profil CNV des TPPDIs *KBTBD4*-mutées. Nous ne pouvons donc pas conclure sur la spécificité de la perte du 13q pour le diagnostic de PC par rapport à celui de TPPDI. Toutefois, dans une étude récente, la perte 13q apparaît peu fréquente dans les TPPDI *KBTBD4*-mutées (13 %) (40).

L'immunohistochimie RB1 est utile au diagnostic des PBs pour identifier le sous-type PB-RB1 (48). Dans ce sous-groupe moléculaire, l'inactivation biallélique de RB1 peut être démontrée par la perte de l'immunopositivité nucléaire de RB1 dans les cellules tumorales. Dans notre cohorte, l'immunoexpression de RB1 était hétérogène, sans perte évidente. Aucune corrélation avec la perte du 13q n'a été observée. Bien que la perte fréquente du 13q dans les PCs puisse suggérer un rôle de RB1 dans leur pathogenèse, les rares études moléculaires réalisées n'ont pas permis d'identifier de mutations pertinentes de ce gène dans les PCs (29).

□ Révision de la définition du PPTID à la lumière des données moléculaires

Actuellement, la présence de mutations de *KBTBD4* est rapportée jusqu'à 80 % des cas de TPPDIs alors qu'elle est absente dans les PCs et les PBs (43). Cette donnée nous a amené à définir les TPPDIs « moléculaires » dans notre étude comme des tumeurs *KBTBD4*-mutées. La morphologie au sein de ce groupe est remarquablement homogène : architecture diffuse, fond fibrillaire minime et une expression des NFP limitée à un marquage cytoplasmique de cellules éparses. Cette distribution de l'immunomarquage des NFP n'est jamais observée dans les PCs « moléculaires ». Une seule TPPDI « moléculaire » présentait de grandes pseudorosettes pinéalo-cytaires compatibles avec un PC. L'architecture diffuse doit donc orienter en premier lieu vers le diagnostic de TPPDI. La mutation *KBTBD4* semble essentielle au diagnostic de TPPDI : aucun cas *KBTBD4*-sauvage n'a montré de profil de méthylation de TPPDI. Pour cette raison, nous suggérons d'adopter le statut *KBTBD4*-muté comme un critère

« essentiel » au diagnostic de TPPDI dans la prochaine classification OMS. Dans leur étude, Yamashita et collègues ont observé que les mutations de *KBTD4* étaient présentes dans 80% des cas de TPPDIs diagnostiqués histologiquement (43). Ces résultats pourraient suggérer que certaines TPPDIs sont *KBTD4*-sauvages, ce qui serait conforme avec la définition actuelle de l'OMS, selon laquelle la mutation *KBTD4* n'est qu'un critère « souhaitable » pour le diagnostic de TPPDI. Cependant, le profil de méthylation des cas *KBTD4*-sauvages de cette étude n'a pas été établi pour s'assurer qu'ils ne correspondent pas une autre entité tumorale. Dans leur étude, une « TPPDI *KBTD4*-sauvage » de bas grade est illustré dans la figure 1A. Cette tumeur présentait un fond fibrillaire développé et des cellules pléomorphes, ce qui semble bien plus en accord avec le diagnostic de PC que de celui d'une TPPDI. Cette donnée pourrait indiquer que les « TPPDIs *KBTD4*-sauvages » de cette étude correspondent à des PCs. Nous ne pouvons pas non plus exclure que des problèmes techniques aient pu conduire à des faux négatifs pour le statut *KBTD4*.

- **Tumeurs pinéaloxytaires *KBTD4*-sauvages chez l'enfant et l'adulte jeune**

Le PC est une tumeur typiquement rencontrée chez l'adulte de plus de 50 ans (62). Son diagnostic chez l'enfant et l'adulte jeune est rare et ne doit être posé qu'après intégration des données histologiques, moléculaires et radiologiques. Le diagnostic différentiel principal est le kyste pinéal, qui peut mimer un PC en raison de la distorsion architecturale du parenchyme pinéal normal (15–17). À l'exception d'un cas, notre étude a identifié dans cette population un groupe de tumeurs du parenchyme pinéal qui semblent apparentées au PC mais qui restent néanmoins distinctes des PCs « moléculaires » de l'adulte. Trois cas montraient une morphologie typique de PC (pseudorosettes pinéaloxytaires et cellules pléomorphes) mais se caractérisaient en plus par la présence de nodules proliférants avec index Ki67 élevé, proche de celui des TPPDIs *KBTD4*-mutées. Un cas présentait une cytologie épithélioïde avec positivité de la CK18 et une négativité NFP. L'expression de CK18 est typique des tumeurs papillaires de la région pinéale mais est absente des PCs (51). Ce cas pédiatrique correspondait à une tumeur de bas grade d'origine pinéale, comme l'atteste sa positivité pour l'immunomarquage CRX, et présentait une cytologie épithélioïde inhabituelle. Son score de méthylation était de 0,79 pour le groupe « PC ». Malgré ce score non-diagnostique, l'ensemble de ces données suggère qu'il s'agit ici d'une forme particulière de PC. Le profil

CNV des cas pédiatriques/jeunes adultes est également distinct de celui des PCs « moléculaires », plus complexe, avec perte du chromosome 3 sans perte du 13q.

En conclusion, les définitions du PC et de la TPPDI doivent être profondément modifiées dans la prochaine classification OMS. Notre étude permet de proposer les définitions suivantes.

Le PC est une tumeur *KBTBD4*-sauvage du parenchyme pinéal, avec fond fibrillaire variable, forte positivité des NFP et éventuelles cellules pléomorphes. L'index de prolifération Ki67 est faible mais variable avec une moyenne de 3,77 %.

La TPPDI est une tumeur du parenchyme pinéal *KBTBD4*-mutée, présentant dans la très grande majorité des cas une architecture diffuse et des cellules NFP-positives dispersées, sans grande pseudorosette pinéaloctaire ni pléomorphisme. Son index de prolifération Ki67 est modéré, avec une moyenne de 11,75%.

Enfin, nous décrivons un nouveau groupe de tumeurs pinéaloctaires dans la population pédiatrique/adultes jeunes, apparentées aux PCs mais s'en distinguant par la présence de nodules proliférants, par un indice de prolifération Ki67 plus élevé et par un profil chromosomique complexe incluant la perte du chromosome 3. Nous avons également identifié un cas très inhabituel de tumeur pinéaloctaire épithélioïde avec expression de la CK18. L'impact clinique de ces nouvelles définitions et le pronostic de ce nouveau groupe de tumeurs reste à évaluer.

Résumé :

Pinéaloctome « morphologique »	Pinéaloctome « moléculaire »
- pseudorosettes pinéaloctaires - Expression forte des NFP - cellules pléomorphes - Ki67 variable, moyenne à 3,77%	Classe de méthylation du « pinéaloctome » avec un score supérieur à 0,9 Fréquente perte du 13q

TPPDI « morphologique »	TPPDI « moléculaire »
- diffuse - Absence de cellule pléomorphe - expression cytoplasmique des NFP dans des cellules éparées - Ki67 moyen 11,75%	Altération moléculaire de KBTBD4 (100% des cas, critère essentiel)

4 Conclusions



Nom, prénom du candidat : Sekri Abel


Pr David NEYRON
HOSPICES CIVILS DE LYON
INSTITUT DE PATHOLOGIE
GROUPEMENT HOSPITALIER ES
58, boulevard Pinel - 69677 BRON Cedex
RPPS : 10063118034 - Tél. 04 72 11 81 00

CONCLUSIONS

Les tumeurs du parenchyme pinéal (TPPs) sont rares, représentant moins de 1% des tumeurs du système nerveux central (SNC). Elles comportent trois entités majeures, le pinélocytome (PC), la tumeur du parenchyme pinéal de différenciation intermédiaire (TPPDI) et le pinéloblastome (PB). Leur diagnostic repose principalement sur l'aspect morphologique en coloration standard et le bilan immunohistochimique. Selon l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), le PC est une TPP bien différenciée qui se caractérise par de larges rosettes fibrillaires, la présence éventuelle de cellules pléomorphes et un index de prolifération inférieur à 1%. Aucune signature moléculaire spécifique n'a été rapportée à ce jour. La définition des TPPDIs, quant à elle, a été très variable suivant les différentes classifications OMS: variabilité dans l'architecture (diffuse, lobulaire, transitionnelle), variabilité dans la cytologie (monomorphe, avec cellules pléomorphes), variabilité dans le grade (grade 2 ou grade 3 sans critère validé pour les différencier) et variabilité dans l'index de prolifération (de 5 à 10%).

D'après ces définitions, le PC et la TPPDI peuvent partager certaines caractéristiques morphologiques (cellules pléomorphes, présence de rosettes dans les formes transitionnelles) ce qui peut rendre leur séparation difficile. La confusion entre ces deux entités a pour conséquence une appréciation erronée du pronostic des TPPs. L'avènement du méthylome en neuropathologie et les progrès des techniques de séquençage haut-débit ont profondément remodelé les frontières entre les différents types de TPPs. Parmi les nouvelles altérations moléculaires décrites, la mutation du gène *KBTD4* apparaît comme spécifique des TPPDIs. Elle est identifiée jusque dans 80% des cas de TPPDI et est absente dans les PCs et les PBs. Selon l'OMS, la mutation de *KBTD4* constitue un critère diagnostique « désirable » pour le diagnostic de TPPDI. La confusion entre TPPDI et PC, en partie générée par les définitions de l'OMS, est illustrée par une étude récente qui a rapporté un groupe de tumeurs pinéales diagnostiquées morphologiquement comme TPPDI mais caractérisées sur le plan moléculaire par une absence de mutation de *KBTD4* et un profil de méthylation de PC.

Notre travail a donc eu pour objectif de revisiter les caractéristiques épidémiologiques et histopathologiques des PCs et des TPPDIs à travers le filtre moléculaire afin de proposer des critères diagnostiques plus précis pour ces 2 entités, améliorer la reproductibilité diagnostique des TPPs et ainsi la cohérence des études pronostiques.

Pour se faire, nous avons étudié sur le plan histo-moléculaire une cohorte de 58 patients avec un diagnostic histologique de PC ou TPPDI.

31 cas présentaient une mutation de *KBTD4*. Ce groupe de patients avait un âge médian de 36 ans. Aucun cas n'avait été diagnostiqué histologiquement comme PC. Les tumeurs se caractérisaient par une morphologie typique de TPPDI avec une architecture diffuse et un monomorphisme nucléaire. Il n'y avait ni grande rosette pinélocytaire ni cellule pléomorphe. L'expression des neurofilaments était limitée aux cytoplasmes de quelques cellules tumorales éparses. L'index de prolifération moyen était de 11,7%.

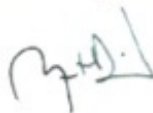
27 cas ne présentaient pas de mutation *KBTD4*. Ces cas ont été divisés en 2 groupes : l'un comprenant uniquement des adultes (n=22) avec un âge médian de 56 ans, l'autre des cas pédiatriques/jeunes adultes de moins de 21 ans (n=5) avec un âge médian de 18 ans. Dans le groupe adulte, 20 cas avaient reçu un diagnostic de PC et 2 cas un diagnostic de TPPDI. L'ensemble de ces cas a été étudié par méthylome. 2 cas étaient non-contributifs pour des raisons techniques dans le groupe adulte. 20 patients présentaient un profil de méthylation de PC avec un score supérieur à 0,9. Les grandes rosettes pinélocytaires n'étaient pas la caractéristique morphologique la plus fréquente. Un fond fibrillaire plus irrégulier avec des rosettes de taille

petite à moyenne était plus fréquemment observé. La présence de cellules pléomorphes était identifiée dans 60% des cas. L'expression des neurofilaments était plus forte que dans les TPPDI. L'index de prolifération était significativement moins élevé que dans les TPPDI avec une moyenne à 3,8 % ($p < 0,05$). Une perte du 13q était identifiée dans 60% des cas. L'immunomarquage anti-RB1 (gène localisé en 13q14.2) n'était pas prédictif de la perte du 13q. Le groupe de cas pédiatriques/jeunes adultes était caractérisé dans 4 cas par une morphologie inhabituelle de type nodulaire ($n=3$) et épithélioïde ($n=1$). Même si la plupart de ces cas se rapprochent du groupe des PCs par leur profil de méthylation en UMAP, aucun n'atteint un score diagnostique de plus de 0,9. Leur index de prolifération était en moyenne de 10,5%. Les déséquilibres chromosomiques étaient souvent plus complexes que dans le groupe adulte et incluait une perte complète ou partielle du chromosome 3 dans 100% des cas. Le 5^{ème} cas se caractérisait par une morphologie et un profil moléculaire similaire au groupe adulte.

L'ensemble de ce travail nous permet donc :

- 1) **D'améliorer les critères diagnostiques du PC.** Contrairement à la définition de l'OMS, les grandes rosettes pinéaloïdes ne sont pas fréquentes et leur absence ne doit donc pas éliminer l'éventualité du PC. De même, l'index de prolifération n'est pas inférieur à 1 % (en moyenne à 3,8%). Sur le plan moléculaire, nous mettons en évidence la fréquence de la perte du 13q (60%). En immunohistochimie, ce déséquilibre chromosomique n'est pas lié à une inactivation biallélique de *RB1*.
- 2) **D'identifier un groupe de tumeurs pinéaloïdes pédiatriques** qui diffèrent essentiellement du PC classique par leur morphologie (nodulaire et épithélioïde), par leur déséquilibre chromosomique (incluant le chromosome 3) et par leur index de prolifération plus élevé.
- 3) **De confirmer le caractère homogène du groupe des TPPDI**, tel que défini par la mutation de *KBTD4* : homogénéité morphologique, homogénéité dans l'expression des neurofilaments, homogénéité dans l'index de prolifération. Ces éléments incitent à retenir la mutation de *KBTD4* comme un critère non plus « désirable » mais « essentiel » au diagnostic de TPPDI afin de renforcer la reproductibilité de son diagnostic.

Le Président de la thèse,
Nom et Prénom du Président
Cachet et Signature



Pr David MEYRONET
HOSPICES CIVILS DE LYON
INSTITUT DE PATHOLOGIE EST
GROUPEMENT HOSPITALIER EST
59, boulevard Pinel - 69677 BRON Cedex
RPPS 10003118034 - Tél. 04 72 11 90 31



Vu :
Pour le Président de l'Université,
Le Doyen de l'UFR de Médecine Lyon Est

Professeur Gilles RODE
Vu et permis d'imprimer
Lyon, le



25 MARS 2025

Références bibliographiques :

1. Zaazoue MA, Goumnerova LC. Pineal region tumors: a simplified management scheme. *Childs Nerv Syst ChNS Off J Int Soc Pediatr Neurosurg*. nov 2016;32(11):2041-5.
2. Vuong HG, Ngo TNM, Dunn IF. Incidence, Prognostic Factors, and Survival Trend in Pineal Gland Tumors: A Population-Based Analysis. *Front Oncol*. 2021;11:780173.
3. Liu APY, Li BK, Vasiljevic A, Dewan MC, Tamrazi B, Ertl-Wagner B, et al. SNO-EANO-EURACAN consensus on management of pineal parenchymal tumors. *Neuro-Oncol*. 5 déc 2024;26(12):2159-73.
4. Frappaz D, Dhall G, Murray MJ, Goldman S, Faure Conter C, Allen J, et al. EANO, SNO and Euracan consensus review on the current management and future development of intracranial germ cell tumors in adolescents and young adults. *Neuro-Oncol*. 1 avr 2022;24(4):516-27.
5. Moreau JJ, Ravon R, Caix M, Salamon G, Brassier G, Velut S. Anatomical basis of the microsurgical approach to the pineal gland. *Anat Clin*. 1 mars 1985;7(1):3-13.
6. Harisha K, Arava S, Singh S, Pariplavi M. A morphological study of human pineal gland in post-mortem cases. *Morphologie*. 1 juin 2023;107(357):193-8.
7. Duvernoy HM, Parratte B, Tatu L, Vuillier F. The human pineal gland: Relationships with surrounding structures and blood supply. *Neurol Res*. déc 2000;22(8):747-90.
8. Erlich SS, Apuzzo ML. The pineal gland: anatomy, physiology, and clinical significance. *J Neurosurg*. sept 1985;63(3):321-41.
9. Belay DG, Worku MG. Prevalence of pineal gland calcification: systematic review and meta-analysis. *Syst Rev*. 6 mars 2023;12:32.
10. Nichols DE. N,N-dimethyltryptamine and the pineal gland: Separating fact from myth. *J Psychopharmacol Oxf Engl*. janv 2018;32(1):30-6.
11. Appelbaum L, Toyama R, Dawid IB, Klein DC, Baler R, Gothilf Y. Zebrafish Serotonin-N-Acetyltransferase-2 Gene Regulation: Pineal-Restrictive Downstream Module Contains a Functional E-Box and Three Photoreceptor Conserved Elements. *Mol Endocrinol*. 1 mai 2004;18(5):1210-21.
12. Møller M, Phansuwan-Pujito P, Badiu C. Neuropeptide Y in the adult and fetal human pineal gland. *BioMed Res Int*. 2014;2014:868567.
13. Santagata S, Maire CL, Idhah A, Geffers L, Correll M, Holton K, et al. CRX Is a Diagnostic Marker of Retinal and Pineal Lineage Tumors. *PLOS ONE*. 20 nov 2009;4(11):e7932.
14. Jouvett A, Derrington E, Pialat J, Lapras C, Fèvre-Montange M, Besançon R, et al. Structural and ultrastructural characteristics of human pineal gland, and pineal parenchymal tumors. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1 oct 1994;88(4):334-48.
15. Hasegawa H, Inoue A, Helal A, Kashiwabara K, Meyer FB. Pineal cyst: results of long-term MRI surveillance and analysis of growth and shrinkage rates. *J Neurosurg*. 27 mai 2022;138(1):113-9.
16. Klein P, Rubinstein LJ. Benign symptomatic glial cysts of the pineal gland: a report of seven cases and review of the literature. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. août 1989;52(8):991-5.
17. Mena H, Armonda RA, Ribas JL, Ondra SL, Rushing EJ. Nonneoplastic pineal cysts: A clinicopathologic study of twenty-one cases. *Ann Diagn Pathol*. 1 oct 1997;1(1):11-8.
18. Rousselle C, des Portes V, Berlier P, Mottolese C. Pineal region tumors: Clinical symptoms and syndromes. *Neurochirurgie*. 2015;61(2-3):106-12.
19. Kota AS, Ejaz S. Precocious Puberty. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 [cité 3 avr 2025]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544313/>

20. Vorkapic, Peter M.D.; Waldhauser, Franz M.D.; Bruckner, Robert M.D.; Biegelmayr, Christian Ph.D.; Schmidbauer, Manfred M.D.; Pendl, Gerhard M.D.. Serum Melatonin Levels: A New Neurodiagnostic Tool in Pineal Region Tumors?. *Neurosurgery* 21(6):p 817-824, April 1987. - Google Search.
21. Krahn LE, Boeve BF, Oliver L, Silber MH. Hypocretin (orexin) and melatonin values in a narcoleptic-like sleep disorder after pinealectomy. *Sleep Med.* nov 2002;3(6):521-3.
22. Yamini, B., Refai, D., Rubin, C. M., & Frim, D. M. (2004). Initial endoscopic management of pineal region tumors and associated hydrocephalus: clinical series and literature review. *Journal of Neurosurgery: Pediatrics*, 100(5), 437-441. <https://doi.org/10.3171/ped.2004.100.5.0437> - Google Search.
23. Majovsky M, Netuka D, Lipina R, Mraček J, Beneš V. Pineal Apoplexy: A Case Series and Review of the Literature. *J Neurol Surg Part Cent Eur Neurosurg.* janv 2022;83(1):31-8.
24. Phuttharak W, Wannasarnmetha M, Lueangingkasut P, Warasawapati S, Mukherji SK. Differentiation between germinoma and other pineal region tumors using diffusion-and susceptibility-weighted MRI. *Eur J Radiol [Internet]*. 1 févr 2023 [cité 3 avr 2025];159. Disponible sur: [https://www.ejradiology.com/article/S0720-048X\(22\)00513-7/fulltext](https://www.ejradiology.com/article/S0720-048X(22)00513-7/fulltext)
25. Lombardi G, Poliani PL, Manara R, Berhouma M, Minniti G, Tabouret E, et al. Diagnosis and Treatment of Pineal Region Tumors in Adults: A EURACAN Overview. *Cancers.* 27 juill 2022;14(15):3646.
26. Szathmari A, Beuriat PA, Vasiljevic A, Leblond P, Faure Conter C, Claude L, et al. Results of the treatment of pineal tumors in children: The Lyon experience. 2022.
27. Cheng G, Yu X, Zhao H, Cao W, Li H, Li Q, et al. Complications of stereotactic biopsy of lesions in the sellar region, pineal gland, and brainstem. *Medicine (Baltimore)*. 21 févr 2020;99(8):e18572.
28. Jouvett A, Saint-Pierre G, Fauchon F, Privat K, Bouffet E, Ruchoux M, et al. Pineal Parenchymal Tumors: A Correlation of Histological Features with Prognosis in 66 Cases. *Brain Pathol.* 5 avr 2006;10(1):49-60.
29. Pfaff E, Aichmüller C, Sill M, Stichel D, Snuderl M, Karajannis MA, et al. Molecular subgrouping of primary pineal parenchymal tumors reveals distinct subtypes correlated with clinical parameters and genetic alterations. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1 févr 2020;139(2):243-57.
30. Fauchon F, Jouvett A, Paquis P, Saint-Pierre G, Mottolese C, Ben Hassel M, et al. Parenchymal pineal tumors: a clinicopathological study of 76 cases. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1 mars 2000;46(4):959-68.
31. Clark AJ, Sughrue ME, Ivan ME, Aranda D, Rutkowski MJ, Kane AJ, et al. Factors influencing overall survival rates for patients with pineocytoma. *J Neurooncol.* nov 2010;100(2):255-60.
32. Fauchon F, Jouvett A, Paquis P, Saint-Pierre G, Mottolese C, Ben Hassel M, Chauveinc L, Sichez JP, Philippon J, Schlienger M, Bouffet E. Parenchymal pineal tumors: a clinicopathological study of 76 cases. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2000 Mar 1;46(4):959-68. doi: 10.1016/s0360-3016(99)00389-2. PMID: 10705018. - Google Search.
33. Fèvre-Montange M, Szathmari A, Champier J, Mokhtari K, Chrétien F, Coulon A, et al. Pineocytoma and pineal parenchymal tumors of intermediate differentiation presenting cytologic pleomorphism: a multicenter study. *Brain Pathol Zurich Switz.* juill 2008;18(3):354-9.
34. Fèvre-Montange M, Vasiljevic A, Frappaz D, Champier J, Szathmari A, Aubriot Lorton MH, et al. Utility of Ki67 immunostaining in the grading of pineal parenchymal tumours: a multicentre study. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2012;38(1):87-94.
35. Louis DN, Perry A, Wesseling P, Brat DJ, Cree IA, Figarella-Branger D, et al. The

- 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro-Oncol.* 29 juin 2021;23(8):1231-51.
36. Capper D, Stichel D, Sahm F, Jones DTW, Schrimpf D, Sill M, et al. Practical implementation of DNA methylation and copy-number-based CNS tumor diagnostics: the Heidelberg experience. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2018;136(2):181-210.
 37. Vasiljevic A. Histopathology and molecular pathology of pediatric pineal parenchymal tumors. *Childs Nerv Syst ChNS Off J Int Soc Pediatr Neurosurg.* sept 2023;39(9):2273-84.
 38. Liu APY, Li BK, Pfaff E, Gudenäs B, Vasiljevic A, Orr BA, et al. Clinical and molecular heterogeneity of pineal parenchymal tumors: a consensus study. *Acta Neuropathol (Berl)*. mai 2021;141(5):771-85.
 39. Mallick S, Benson R, Rath GK. Patterns of care and survival outcomes in patients with pineal parenchymal tumor of intermediate differentiation: An individual patient data analysis. *Radiother Oncol J Eur Soc Ther Radiol Oncol.* nov 2016;121(2):204-8.
 40. Rahmānzade R, Pfaff E, Banan R, Sievers P, Suwala AK, Hinz F, et al. Genetical and epigenetical profiling identifies two subgroups of pineal parenchymal tumors of intermediate differentiation (PPTID) with distinct molecular, histological and clinical characteristics. *Acta Neuropathol (Berl)*. déc 2023;146(6):853-6.
 41. Vasiljevic A. Pineal parenchymal tumors of intermediate differentiation: in need of a stringent definition to avoid confusion. Scientific commentary on « Genetical and epigenetical profiling identifies two subgroups of pineal parenchymal tumors of intermediate differentiation (PPTID) with distinct molecular, histological and clinical characteristics ». *Acta Neuropathol (Berl)*. 10 févr 2024;147(1):34.
 42. Lee JC, Mazor T, Lao R, Wan E, Diallo AB, Hill NS, et al. Recurrent KBTBD4 small in-frame insertions and absence of DROSHA deletion or DICER1 mutation differentiate pineal parenchymal tumor of intermediate differentiation (PPTID) from pineoblastoma. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1 mai 2019;137(5):851-4.
 43. Yamashita S, Takeshima H, Hata N, Uchida H, Shinojima N, Yokogami K, et al. Clinicopathologic analysis of pineal parenchymal tumors of intermediate differentiation: a multi-institutional cohort study by the Kyushu Neuro-Oncology Study Group. *J Neurooncol.* 1 avr 2023;162(2):425-33.
 44. Northcott PA, Buchhalter I, Morrissy AS, Hovestadt V, Weischenfeldt J, Ehrenberger T, et al. The whole-genome landscape of medulloblastoma subtypes. *Nature.* juill 2017;547(7663):311-7.
 45. Chen Z, Ioris RM, Richardson S, Van Ess AN, Vendrell I, Kessler BM, et al. Disease-associated KBTBD4 mutations in medulloblastoma elicit neomorphic ubiquitylation activity to promote CoREST degradation. *Cell Death Differ.* oct 2022;29(10):1955-69.
 46. Andrés ME, Burger C, Peral-Rubio MJ, Battaglioli E, Anderson ME, Grimes J, et al. CoREST: a functional corepressor required for regulation of neural-specific gene expression. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 17 août 1999;96(17):9873-8.
 47. Martínez H, Nagurney M, Wang ZX, Eberhart CG, Heaphy CM, Curtis MT, et al. ATRX Mutations in Pineal Parenchymal Tumors of Intermediate Differentiation. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1 août 2019;78(8):703-8.
 48. Li BK, Vasiljevic A, Dufour C, Yao F, Ho BLB, Lu M, et al. Pineoblastoma segregates into molecular sub-groups with distinct clinico-pathologic features: a Rare Brain Tumor Consortium registry study. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1 févr 2020;139(2):223-41.
 49. Coy S, Dubuc AM, Dahiya S, Ligon KL, Vasiljevic A, Santagata S. Nuclear CRX and FOXJ1 Expression Differentiates Non-Germ Cell Pineal Region Tumors and Supports the Ependymal Differentiation of Papillary Tumor of the Pineal Region. *Am J Surg Pathol.* 2017;41(10):1410-21.
 50. Jong MC de, Kors WA, Graaf P de, Castelijns JA, Kivelä T, Moll AC. Trilateral

retinoblastoma: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol.* 1 sept 2014;15(10):1157-67.

51. Jouvét A, Fauchon F, Liberski P, Saint-Pierre G, Didier-Bazes M, Heitzmann A, et al. Papillary tumor of the pineal region. *Am J Surg Pathol.* avr 2003;27(4):505-12.
52. Fauchon F, Hasselblatt M, Jouvét A, Champier J, Popovic M, Kirollos R, et al. Role of surgery, radiotherapy and chemotherapy in papillary tumors of the pineal region: a multicenter study. *J Neurooncol.* avr 2013;112(2):223-31.
53. Szathmari A, Champier J, Ghersi-Egea JF, Jouvét A, Watrin C, Wierinckx A, et al. Molecular characterization of circumventricular organs and third ventricle ependyma in the rat: potential markers for periventricular tumors. *Neuropathol Off J Jpn Soc Neuropathol.* févr 2013;33(1):17-29.
54. Wu Z, Dazelle K, Abdullaev Z, Chung HJ, Dahiya S, Wood M, et al. Papillary tumor of the pineal region: analysis of DNA methylation profiles and clinical outcomes in 76 cases. *Acta Neuropathol Commun.* 16 juill 2024;12(1):117.
55. Goschzik T, Gessi M, Denkhaus D, Pietsch T. PTEN Mutations and Activation of the PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway in Papillary Tumors of the Pineal Region. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1 août 2014;73(8):747-51.
56. Scheithauer BW. Development of the WHO classification of tumors of the central nervous system: a historical perspective. *Brain Pathol Zurich Switz.* oct 2009;19(4):551-64.
57. Louis DN, Perry A, Burger P, Ellison DW, Reifenberger G, von Deimling A, et al. International Society Of Neuropathology--Haarlem consensus guidelines for nervous system tumor classification and grading. *Brain Pathol Zurich Switz.* sept 2014;24(5):429-35.
58. Sturm D, Capper D, Andreiulo F, Gessi M, Kölsche C, Reinhardt A, et al. Multiomic neuropathology improves diagnostic accuracy in pediatric neuro-oncology. *Nat Med.* avr 2023;29(4):917-26.
59. Sill M, Plass C, Pfister SM, Lipka DB. Molecular tumor classification using DNA methylome analysis. *Hum Mol Genet.* 20 oct 2020;29(R2):R205-13.
60. Sturm D, Orr BA, Toprak UH, Hovestadt V, Jones DTW, Capper D, et al. New Brain Tumor Entities Emerge from Molecular Classification of CNS-PNETs. *Cell.* 25 févr 2016;164(5):1060-72.
61. Lehman NL, Usubalieva A, Lin T, Allen SJ, Tran QT, Mobley BC, et al. Genomic analysis demonstrates that histologically-defined astroblastomas are molecularly heterogeneous and that tumors with MN1 rearrangement exhibit the most favorable prognosis. *Acta Neuropathol Commun.* 15 mars 2019;7(1):42.
62. Fauchon F, Jouvét A, Paquis P, Saint-Pierre G, Mottolese C, Hassel MB, et al. Parenchymal pineal tumors: a clinicopathological study of 76 cases. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1 mars 2000;46(4):959-68.

SEKRI Abel, Redéfinir les contours du pinélocytome et de la tumeur du parenchyme pinéal de différenciation intermédiaire : apport du statut *KBTD4* et du méthylome.

RESUME

Le pinélocytome (PC) et la tumeur du parenchyme pinéal de différenciation intermédiaire (TPPDI) sont des tumeurs de la glande pinéale dont le pronostic est respectivement favorable et intermédiaire. Leur morphologie peut se chevaucher, ce qui les rend difficiles à distinguer. L'identification récente de la mutation de *KBTD4* comme altération moléculaire spécifique des TPPDIs constitue une opportunité inédite pour ré-évaluer la pertinence des définitions OMS (Organisation Mondiale de la Santé) du PC et de la TPPDI et ainsi de les améliorer. Contrairement à la TPPDI, aucun facteur génétique spécifique n'a été trouvé dans le PC. Cependant, les PCs ont un profil de méthylation distinct mais proche de celui de la glande pinéale normale. Dans cette étude, nous avons voulu reconsidérer l'histopathologie de la TPPDI et du PC à travers le filtre moléculaire du statut *KBTD4* et du profil de méthylation de PC.

Nous avons analysé 58 patients présentant un diagnostic histologique de TPPDI ou de PC. La TPPDI « moléculaire » a été définie comme une tumeur *KBTD4*-mutée. Le PC « moléculaire » a été défini comme une tumeur *KBTD4*-sauvage avec un profil de méthylation de PC. La mutation *KBTD4* était présente dans 31 cas (âge médian : 36 ans). Parmi eux, quatre-vingt-dix-sept pour cent des cas présentaient une morphologie typique de TPPDI : architecture diffuse, monomorphisme nucléaire, expression cytoplasmique des neurofilaments (NFP) dans des cellules éparpillées et indice de prolifération moyen de 11,7 %. Parmi les 27 cas *KBTD4*-sauvages, 22 étaient des adultes (âge médian : 56 ans), dont 20 PCs « moléculaires ». Par rapport aux TPPDIs « moléculaires », les PCs « moléculaires » présentaient un fond fibrillaire important avec des pseudorosettes petites à moyennes, une expression plus forte des NFP et un index de prolifération moyen plus faible de 3,8 %. Soixante pour cent d'entre eux présentaient une perte du chromosome 13q, sans toutefois que l'immunohistochimie ne révèle la perte de RB1. La plupart des cas du groupe des enfants/jeunes adultes (n=5, âge médian : 18 ans) n'ont pas été classés avec un score diagnostique sur l'analyse du méthylome. Ils présentaient une morphologie atypique (nodulaire et proliférative/épithélioïde) et des déséquilibres chromosomiques complexes incluant la perte du chromosome 3.

Les résultats de notre étude montrent la nécessité de modifier les critères diagnostiques actuels de l'OMS pour le PC et la TPPDI. La mutation *KBTD4* apparaît comme un filtre efficace pour séparer les TPPDIs des PCs. Cela plaide en faveur de la promotion de cette altération moléculaire en tant que critère diagnostique « essentiel » dans la future classification OMS. Contrairement à la définition actuelle du PC par l'OMS, les pseudorosettes de grande taille sont rares dans cette tumeur et son indice de prolifération est supérieur à 1 %. La perte du 13q est un déséquilibre chromosomique courant qui devrait être mentionné. Nous avons également identifié un sous-groupe de tumeurs pinélocytaires *KBTD4*-sauvages atteignant une population pédiatrique/adulte jeune qui semblent apparentées aux PCs, mais qui présentent une morphologie distincte, des déséquilibres chromosomiques différents et un indice de prolifération plus élevé que les PCs adultes.

MOTS CLES : pinélocytome, tumeur du parenchyme pinéal de différenciation intermédiaire, *KBTD4*, méthylome

JURY

Président : Monsieur le Professeur David Meyronet
Membres : Monsieur le Professeur Emmanuel Jouanneau
Madame le Professeur Delphine Poncet
Monsieur le Docteur Alexandru Szathmari
Monsieur le Docteur Alexandre Vasiljevic

DATE DE SOUTENANCE : 24 avril 2025