

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université BLIDA I
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et de Physiologie Cellulaire
Filière Biologie



Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master

Option : Génétique et physiologie

Thème

Etude anatomoclinique et histopronostique du rétinoblastome

Présenté par :

KECHEROUD Fatima Zahra

Soutenu le 09/10/2014 devant le jury composé de :

Mr SAID M.	M A A.	À l'université de Blida	Président
Mme KHALDOUN H.	M A A.	À l'université de Blida	Examinatrice
Mme HANNACHI L.	M C A.	Faculté de Médecine Université Alger	Promotrice

Promotion 2013-2014

Remerciements

Merci à notre bon dieu qui nous a donné la force et le courage nécessaire pour réussir ce travail.

A ma promotrice **Pr HANNACHI** je ne peux vous remercier assez pour toute votre amabilité. Vous avez été toujours présente pour le moindre petit détail. Grace à vous ce mémoire a pu voir le jour.

J'exprime ma sincère reconnaissance à l'ensemble des membres de ce jury **Dr SAID** et **Dr KHALDOUN** pour avoir accepté de juger ce travail et pour avoir donné de leur temps précieux.

Nous tenons aussi à remercier l'ensemble de nos enseignants qui nous ont transmis leur savoir et leur expérience durant tout notre cursus universitaire et permis ainsi d'atteindre le niveau scientifique nécessaire pour la réalisation de ce travail.

Je voudrais également exprimer mes remerciements à l'ensemble de l'équipe de service d'anatomo-pathologie et à toutes les personnes qui la composent.

Dédicaces

**Grâce à l'aide de dieu qui m'a donné la volonté, j'ai pu réaliser ce travail que
je dédie**

**A ma mère, qu'elle trouve ici toute ma gratitude pour leur
Soutien tout au long de mes études.**

A mon marie

A ma très chère sœur Naima

A mon frère Yassine,

A mes petites fillettes Hanine et Ghofrane

A ma grand-mère Aicha

A mon grand-père Mohamed

A mes très chères amies Amina et Siheme

A toute ma famille paternelle et maternelle

**A mes chères amies Amina, Amina, Manel, Khadijda Imene et Chahrazed
avec lesquelles j'ai partagé beaucoup de moments**

A ma promotrice, le Pr HANNACHI. L

A tous ceux que J'aime

Fatima Zahra

Liste d'abréviation

RB : Rétinoblastome

pRb: protéine codée par le gène RB1

RBB : Rétinoblastome Bilatéral

RBU : Rétinoblastome Unilatéral

MDM: Murine-Double Minute

PTC: Premature Termination Codon

LOH: Loss Of Heterozygosity

NMDA: Nonsense-Mediated mRNA Decay

Résumé

Le rétinoblastome est une tumeur rare qui touche la rétine du jeune enfant.

L'inactivation bi-allélique du gène RB1 est à l'origine du développement tumoral.

RB1 est le premier gène suppresseur de tumeur qui ait été identifié et la prédisposition au rétinoblastome constitue un véritable paradigme de la prédisposition aux cancers.

L'objectif de notre travail est d'étudier les aspects cliniques, anatomopathologiques, et rechercher les cas familiaux du rétinoblastome, à travers une étude rétrospective et prospective respectivement entre 2011 et 2012 et 2013 et 2014. Cette étude a été menée sur des prélèvements colligés au laboratoire d'anatomo-pathologie du Centre hospitalo-universitaire, Mustapha Bacha (Alger). L'âge des patients varie de 30 jours à 5 ans. La tranche d'âge la plus touchée se situe entre 1 et 2 ans, avec une moyenne d'âge de 3 ans et une prédominance masculine avec un sex ratio M/F de 1,08.

Nos résultats montrent que sur le plan anatomo-pathologique, le signe d'appel clinique prédominant est la leucocorie, Le rétinoblastome est découvert dans notre série pour tous les cas aux stades, stade V selon la classification de Reese Ellsworth, Dans notre étude, l'unilatéralité prédominait (92%) et les cas bilatéraux au nombre de 4 représentent 8%.

Dans notre série, le groupe des patients à faible risque est le plus important, (48%).

Après revue centralisée anatomopathologique de la pièce opératoire, 23 patients (48%) étaient dans le groupe de bas risque (absence de facteur de risque histologique), 21 patients (44%) dans le groupe de risque intermédiaire (envahissement choroïdien profond), et 4 cas (8%) dans le groupe de risque élevé à haut risque (extension extra sclérale) et 3 patients ont des envahissements dans la tranche de section de nerf optique.

Dans l'étude rétrospective il y a 2 cas familiaux colligés durant l'année 2000 et le deuxième durant l'année 2001. Ces deux patients ont une antécédente familiale.

Et dans l'étude prospective il y a un cas avec un antécédent familial

Lorsqu'il existe un antécédent connu dans la famille, on parle de forme familiale de rétinoblastome.

Abstract

The rétinoblastoma is a rare tumor which touches the retina of the young child. The inactivation Bi-allélique of gene RB1 is at the origin of the tumoral development. RB1 is the first gene suppressor of tumor which was identified and the predisposition to the rétinoblastoma constitutes a true paradigm of the predisposition to cancers. The objective of our work is to study the aspects clinical, anatomopathologic, and to seek the family cases of the rétinoblastoma, through a retrospective and prospective study respectively between 2011 and 2012 and 2013 and 2014. This study at summer carried out on taking away colliged to the laboratory of anatomo-pathology of the Teaching hospital, Mustapha Covered (Algiers). The age of the patients varies 30 days to 5 years. The age bracket the most touched ranges between 1 et2 years, with an average age of 3 years and a male prevalence with a sex ratio M/F of 1,08.

Our results show that on the anatomo-pathological level, the sign of prevalent clinical call is the leucocorie, the rétinoblastoma is discovered in our series for all the cases at the stages, stage V according to the classification of Reese Ellsworth,

In our study, the unilaterality prevailed (92%) and the bilateral cases 4 account for 8%.

In our series, the group of the patients at the weak risk is most important, (48%).

After anatomopathologic centralized review of the operational part, 23 patients (48%) were in the group of bottom risks (histological absence of risk factor), 21patients (44%) in the intermediate group of risk (major invasion choroïdien), and 4 cases (8%) in the group of high-risk high risk (extension extra sclérale) and 3 patients have invasions in the section of section of optical nerve.

In the retrospective study there are 2 family cases colliged during the year 2000 and the second during the year 2001. These two patients have previous family.

And in the exploratory study there is a case with a family antecedent

When there exists an antecedent known in the family, one speaks about family form of rétinoblastoma.

ملخص

سرطان الشبكية هو ورم نادر يؤثر على شبكية العين لدى صغار الأطفال.

التعطل الاليلي المزدوج للجين RB1 هو أساس التطور الورمي.

RB1 هو أول جين مانع للورم تم التعرف عليه المعلومات الجينية تشكل نموذجا صحيحا للاستعداد لحالات السرطان.

في الحالات الغير وراثية تظهران الطفرتان في خلية واحدة للشبكية، إذن سرطان الشبكية أحادي وفي الأشكال المستعدة وراثيا، الطفرة الأولى هي جسدية والطفرة الثانية مكتسبة.

الهدف من عملنا هو دراسة السريرية و البحث عن الشبكية الوراثية من خلال دراسة التركيب بالاثر الرجعي بين 2011، 2012، 2013، 2014، هذه الدراسة وضعت على عينات في مخبر الجراحة التشريحية في مركز الطب الجامعي مصطفى باشا (الجزائر)، عمر المرضى يتراوح بين الشهر حتى 5 سنوات، الفئة العمرية الأكثر تعرضا لهذا المرض هي بين 1 و 2 سنوات ومعدل العمر 3 سنوات و الغلبة ذكورية .

نتائجنا تظهر ان العامل السريري الأكثر ظهورا هو لكوكوري الشبكية الأحادية تظهر في أغلبية الحالات والشبكية الثنائية تظهر عند 4 أشخاص .

في مجموعتنا الفوج الذي يمثل اقل تهديدا بالمرض يمثل الأغلبية و 23 مريض، تمثل المرضى اقل تهديدا بالمرض و 21 مريض يمثل الفوج متوسط التهديد بالمرض و 4 مرضى في الفوج الأكثر تهديدا.

في الدراسة الرجعية سجلنا حالتين عائليتين في العامين 2000 و 2001 وفي العام 2014 وجدنا حالة واحدة وراثية.

Sommaire

Introduction

Chapitre 1 : Rappel bibliographique

1. la rétine et le système oculaire.....	1
2. le rétinoblastome.....	2
2.1. Définition et symptômes.....	2
3. Epidémiologie.....	3
4. Diagnostic et traitement.....	4
5. Conseil génétique.....	4
6. Génétique du rétinoblastome.....	5
6.1. Le modèle de Knudson complété par Comings.....	5
6.2. Le gène Rb.....	7
6.3. La protéine Rb1.....	8
6.4. La pathologie moléculaire.....	10
7. Les relations génotypique /phénotypique : la nature de mutation comme support des pénétrances réduits.....	11

Chapitre 2: Matériels et méthode

1. Étude de population	15
1.1 Matériel non biologique.....	15
1.2. Matériel biologique.....	16
2. Méthodes.....	16
2.2. Étude macroscopique	17
2.3. Étude des techniques histologiques.....	18
2.4. Lecture des Lames	22
3. Etude génétique : cas familiaux.....	23

Chapitre 3: Résultats

1. Répartition annuelle du rétinoblastome.....	24
2. Paramètres épidémiologiques	24
2.1. Répartition selon le sexe.....	24
2.2. Répartition selon l'âge.....	25
3. Paramètre cliniques.....	28
3.1. Répartition selon l'uni ou bilatéralité des lésions.....	27
3.2. Répartition selon localisation de tumeur.....	27
3.3. Répartition selon l'âge et localisation.....	28
4. Etude anatomo-pathologie.....	28
4.1. Macroscopie.....	28

4.1.1. Répartition selon la taille de nerf optique.....	29
4.1. 2. Répartition selon la taille tumorale.....	30
4.2. Infiltration Tumorale.....	30
4.2.1. Répartition selon l’atteinte de la choroïde.....	30
4.2.2. Répartition selon l’atteinte de la sclère.....	32
4.2.3. Extension extrasclérale.....	33
4.2.4. Répartition selon l’atteinte du nerf optique.....	33
4.2.4.1. Degré d’invasion de nerf optique.....	35
4.2.5. Répartition selon l’atteinte de la chambre antérieure.....	35
4.2.6. Répartition selon l’atteinte de la cavité vitrée.....	36
4.2.7. Envahissement des tuniques oculaire.....	37
4.2.8. Extension loco régionale.....	38
4.2.9. Degré de différenciation	39
5. Arbres généalogiques.....	40
Chapitre 4 : Discussion.....	44
Conclusion.....	50

Bibliographie

Annexes

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Schéma de l'anatomie de l'œil	2
2	leucocorie(reflet blanc du pupille)	3
3	Strabisme (loucherie)	3
4	Arbres familiaux représentatifs des différentes présentations de Rb	6
5	Le gène RB	8
6	protéine Rb et sa fonction	10
7	Mécanisme possible d'un défaut de pénétrance lors d'une délétion complète encadrant le gène <i>RBI</i>	13
8	Globe oculaire présente une tumeur bifocale	17
9	Cassette numérotées	17
10	Appareil de circulation	18
11	Support au tissu	19
12	Microtome	19
13	la batterie de coloration	21
15	Coupe montée du nerf optique	24
16	Répartition annuelle des rétinoblastomes	25
17	Répartition des malades selon le sexe	26
18	Répartition selon l'âge	26
19	RBB chez une fillette de 1 an. Leucocorie (reflet blanc pupillaire) de l'œil gauche	27
20	RBB chez une fillette de 3 ans. Leucocorie de l'œil gauche associée à un strabisme convergent	27
21	répartition selon l'uni ou bilatéralité	27
22	répartition des tumeurs selon localisation	28
23	Aspect macroscopique du RB. Coupe sagittale passant par le nerf optique. Tumeur intra oculaire à développement endophytique arrivant au contact de la face postérieure du cristallin	29

24	Répartition selon la taille de nerf optique	29
25	Répartition selon la taille tumorale	30
26	Répartition selon l'atteinte de la choroïde	31
27	Coupe histologique du RB de la choroïde. HEX20	31
28	Répartition selon l'atteinte sclérotique	32
29	Aspect microscopique du RB de l'atteinte sclérotique sans dépassement HEX20	32
30	Répartition selon l'atteinte extra ou intrasclérale	33
31	Répartition selon l'atteinte de nerf optique	34
32	Tranche de section du nerf optique saine à gauche et largement infiltrée à droite	34
33	Répartition selon le degré d'invasion de nerf optique	35
34	Répartition selon l'atteinte se la chambre antérieure	36
35	Répartition selon l'atteinte de cavité vitrée	37
36	répartition selon l'envahissement des tuniques oculaires	38
37	Répartition selon l'extension loco régionale	38
38	Répartition selon le degré de différenciation	39
39	RB richement vascularisé Présence d'un foyer de nécrose en bas, à droite .HEX250	39
40	Facteurs de risque histologiques	40
41	Arbre généalogique de la famille A	41
42	Arbre généalogique de la famille B	42
43	Arbre généalogique de la famille C	42

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
	Répartition annuelle des rétinoblastomes	24
	Répartition selon l'âge	25
	Répartition selon l'uni ou bilatéralité	26
	Répartition des RBU selon localisation	27
	Répartition selon l'âge et localisation	28
	Répartition selon la taille du nerf optique	28
	Répartition selon la taille tumorale	29
	Répartition selon l'atteinte de la choroïde	30
	Répartition selon l'atteinte sclérotique	31
	Répartition selon l'atteinte extra ou intra sclérale	32
	Répartition selon l'atteinte de nerf optique	33
	Répartition selon le degré d'invasion de nerf optique	34
	Répartition selon l'atteinte se la chambre antérieure	34
	Répartition selon l'atteinte de cavité vitrée	35
	Répartition selon l'envahissement des tuniques oculaires	36
	Répartition selon extension loco régionale	36
	Répartition selon le degré de différenciation	37
	Facteurs de risque histologiques	40

Introduction

Le rétinoblastome (Rb) est une tumeur maligne embryonnaire de l'enfant se développant à partir des cônes rétiniens. Son incidence est de 1/15000 à 1/20000, ce qui correspond à 40 à 50 nouveaux cas par année en France (Aerts, 2006). Au diagnostic, plusieurs présentations sont possibles : il s'agit d'un rétinoblastome bilatéral quand les deux rétines sont touchées ; il est dit unilatéral si une seule rétine développe une tumeur; il peut également être bilatéral métachrone en cas de bilatéralisation postérieure au diagnostic primitif d'un rétinoblastome unilatéral.

Dans 90% des cas, le diagnostic est porté avant l'âge de 3 ans. Le diagnostic d'un rétinoblastome chez l'adolescent est exceptionnel. Néanmoins, même s'ils concernent toujours les jeunes enfants, les âges moyens au diagnostic sont très nettement supérieurs dans les pays en voie de développement. En effet, la méconnaissance des signes discrets précoces de la pathologie et les manques de moyens des systèmes médicaux dans ces pays sont responsables de retards au diagnostic qui compromettent le pronostic vital. Environ 70% de mortalité est rapportée dans les pays en développement alors qu'elle est comprise entre 5 et 10 % dans les pays d'Europe ou d'Amérique du Nord avec un minimum de 1% pour le Canada (Dimaras, 2012). La prise en charge des patients doit prendre en compte divers facteurs : le risque visuel, le possible nature génétique de l'affection et le pronostic vital particulièrement engagé dans les formes extraoculaires. Son pronostic vital est excellent dans les cas où la tumeur est localisée à la rétine : les traitements parviennent alors à contrôler l'évolution tumorale dans la majorité des cas¹. Les deux signes cliniques les plus fréquents permettant de faire suspecter ce diagnostic sont d'une part un reflet blanc pupillaire (leucocorie) et un strabisme. Environ 80% des rétinoblastomes unilatéraux sont étendus au diagnostic (Groupe V de Reese, D et E de la classification IRC) et nécessitent une énucléation première. Lorsque le processus tumoral est étendu en dehors de la rétine et, le pronostic est plus sombre : c'est dans ces formes avec atteinte extra rétinienne que la chimiothérapie a un rôle thérapeutique important. Les indications de chimiothérapie adjuvante sont basées sur l'existence de facteurs de risques histologiques. Actuellement, la survie à long terme des patients atteints de formes héréditaires de rétinoblastome est menacée par le risque de survenue de tumeur secondaire, et dont le risque de survenue est potentialisé par l'utilisation de la radiothérapie et de la chimiothérapie. (Aerts 2010)

Chapitre1 : Généralité

1. L'œil et le système oculaire

1.1. L'œil humain :

Est l'organe de la vision de l'être humain ; il lui permet de capter la lumière, pour ensuite l'analyser et interagir avec son environnement. L'œil humain permet de distinguer les formes et les couleurs. L'œil est composé de plusieurs éléments dont la rétine qui est une membrane qui tapisse le fond de l'œil, elle est composée de cellules épithéliales pigmentaires, des cellules photo réceptrices, des cellules de soutien et des cellules nerveuses (Gruyter, 1998).

1.2. Le système oculaire :

L'œil humain est constitué d'un globe oculaire qui est une sphère d'environ 24mm de diamètre, située a la partie antérieure de l'orbite et entourée de Lobules graisseux. Le globe est constitué d'une enveloppe et contient différentes structures histologiques comportant (figure1) :

* **la cornée** qui est une calotte sphérique transparente.

* **la sclère** ou **sclérotique**, qui forme le « blanc » de l'œil.

* **Le tissu uvéal** : Il tapisse la face interne de la sclerotique.

* D'avant en arrière, on peut décrire trois structures :

-l'iris.

-Le corps ciliaire.

-La choroïde.

***La rétine**

***Le nerf optique**

***Les milieux transparents** : Le globe oculaire contient un certain nombre d'éléments transparents, qui sont d'arrière en avant :

*Le corps vitré

*Le cristallin

* la chambre antérieure (Sidibe.H 2008).

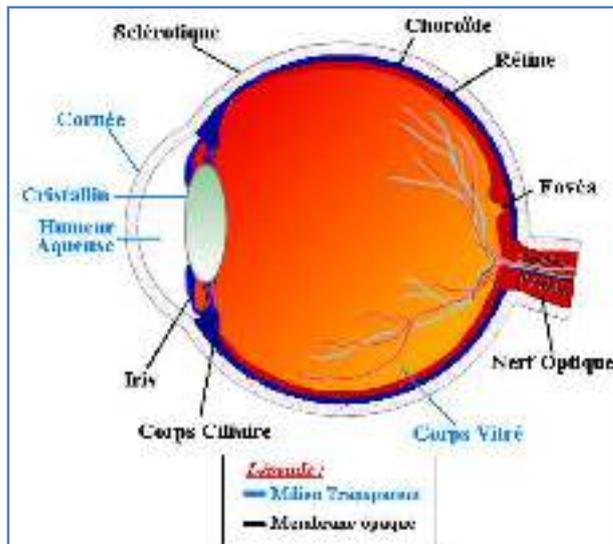


Figure 1 : Schéma de l'anatomie de l'œil

2. Le rétinoblastome

2.1. Définition

Le Rb est une tumeur cancéreuse de l'œil qui touche les cellules de la rétine. Ce cancer assez rare (1 cas sur 15 000 à 20 000 naissances) affecte le nourrisson et le jeune enfant en général avant l'âge de 5ans. Cette maladie grave peut atteindre un seul œil (tumeur unilatérale dans 60 % des cas) ou les deux yeux (tumeurs bilatérales dans 40 % des cas) (Giustrant2010).

2.2. Symptômes

Dans plus de 80 % des cas, le Rb est dépisté en premier par un membre de la famille ou un ami, alors que moins de 20 % des cas le sont par un médecin. Il est souvent difficile pour un parent de déterminer si son enfant a un Rb car, compte tenu de l'âge de l'enfant, il ne peut signaler ses problèmes oculaires. Cependant, il est important que les parents ou la personne prenant soin de l'enfant recherchent des signes inhabituels évoquant un Rb. Le dépistage précoce améliore souvent l'issue de la maladie (Castéra2012).

Voici les signes typiques (plus de 20 % des cas) à observer :

Chapitre1 : Généralité

- **une leucocorie** - lorsqu'on dirige une source lumineuse sur les yeux, on observe un reflet blanchâtre donnant l'impression que la pupille est blanche (figure2).
- **un strabisme** - lorsque l'un des yeux ne semble pas regarder la cible visée, la déviation pouvant être de type convergent ou divergent (figure3).



Figure 2 : leucocorie(reflet blanc du pupille)



Figure 3 : Strabisme (loucherie)

3. Epidémiologie

a. Incidence du rétinoblastome dans le monde et en Algérie

Le RB représente une incidence mondiale de 1 / 18000 naissances qui varie selon la région géographique et le groupe ethnique avec une légère prédominance masculine.

En Afrique, une étude épidémiologique rapporte une fréquence de 1 % des causes de cécité due au RB.

D'après le registre hospitalier des cancers de l'enfant, regroupant deux structures hospitalières (C.H.U Mustapha et le C.P.M.C) le RB représente 12% des tumeurs malignes. (S.A.O.P Janvier 2002)

4. Diagnostic et traitement

4.1. Diagnostic

Le diagnostic repose essentiellement sur un examen du fond d'œil, sous anesthésie générale, en milieu spécialisé. La lésion apparaît en relief, blanche et hyper vascularisée. Le diagnostic est complété par une échographie oculaire, une IRM et/ou une tomodensitométrie TDM.

L'examen ophtalmologique détermine l'atteinte bilatérale ou unilatérale des lésions tumorales, le nombre de tumeurs, leurs situations dans la rétine (pôle postérieur, antérieur de la rétine), la taille des tumeurs.

Le pronostic clinique est évalué par la classification de ReeseEllworth et plus récemment par la classification internationale ABC (Annexe 1, 2) qui reprennent ces éléments ophtalmologiques. Ces classifications permettent d'évaluer la pertinence ou non d'un traitement conservateur, le groupe V de ReeseEllworth étant en faveur d'une énucléation

En cas d'énucléation première, un examen histopathologique est réalisé, jugeant de l'envahissement tumoral intra et extra-oculaire et définissant des facteurs de risque histologiques (notons ici qu'il n'existe pas de facteurs de risque biologiques). Le niveau d'envahissement permet l'orientation ou non vers une chimiothérapie adjuvante (Castéra2012).

4.2. Traitement

Ils comprennent diverses modalités, non exclusives et souvent complémentaires, comme :

- La chirurgie avec parfois une ablation chirurgicale de l'œil (énucléation)
- La chimiothérapie
- Le laser diode, la thermo-chimiothérapie, la cryothérapie, la photocoagulation.
- La radiothérapie

Traitement intra-vitréen par injection de Melphalan

Dans le traitement du rétinoblastome l'atteinte du vitrée constitue un vrai problème thérapeutique car le vitrée témoigne de particularités anatomiques et physiologiques.

Chapitre1 : Généralité

Il s'agit en effet d'un gel, situé dans la partie postérieure de l'œil, qui est constitué de collagène et d'acide hyaluronique avec 99% d'eau. (Cassoux 2013)

5. Conseil génétique

Deux tiers des cas de RB sont unilatéraux avec un âge médian au diagnostic de 2 ans. Un tiers des cas sont bilatéraux avec un âge au diagnostic souvent plus précoce, voire néonatal. La plupart des cas de RBU et RBB sont sporadiques, sans antécédent familial. Cependant, dans 10 à 15 % des cas, le plus souvent bilatéraux, il existe une histoire familiale de RB dont la distribution des cas dans la famille est compatible avec l'existence d'un facteur génétique de prédisposition transmis selon le mode autosomique dominant et associé à une pénétrance élevée. (Desjardins2004)

6. La génétique de rétinoblastome

6.1. Le modèle de Knudson complète par Comings

6.1.1. Présentation familiale du rétinoblastome

Dans moins de la moitié des cas de RB la lésion est bilatérale et l'âge au diagnostic est très précoce avec une médiane d'âge au diagnostic de 1 an.

Le diagnostic est possible pendant la période néonatale. Dans 90% des cas la présentation est sporadique, c'est-à-dire isolée, sans histoire familiale associée, et les patients présentent des formes unilatérales dans environ 2/3 des cas, le diagnostic est alors plus tardif. Dans 10 % des cas de RB, il existe une histoire familiale. La présentation du RB est alors généralement bilatérale ou unilatérale multifocale (plusieurs tumeurs indépendantes dans la même rétine) et le diagnostic précoce. La distribution des cas au sein de ces familles est compatible avec l'existence d'un gène de susceptibilité au cancer transmis selon un modèle autosomique dominant avec une pénétrance élevée estimée à 95% (Figure4). La pénétrance est définie par le rapport du nombre de personnes développant le phénotype attendu, (ici un RB) sur le nombre de personnes prédisposées. Dans de rares familles, la pénétrance est réduite et des patients atteints d'un RB coexistent avec des personnes indemnes mais porteuses obligatoires du trait génétique du fait de leur position sur l'arbre. Ces même familles sont souvent composées d'apparentés présentant des formes bilatérales, unilatérales, ainsi que des apparentés porteurs d'un rétinome (jusqu'à présent considéré comme des cicatrices de RB ayant involué spontanément, (Harbour, 2001)). Cette variabilité d'expression phénotypique

Chapitre1 : Généralité

(bilatérale, unilatérale, rétinome, indemne) dans des familles qui présentent une pénétrance incomplète est à l'origine de difficultés lors du conseil génétique pour un couple ayant un projet d'enfant et qui a soit un apparenté ayant un enfant atteint de RB, soit déjà un premier enfant atteint de cette pathologie. (Castéra 2012)

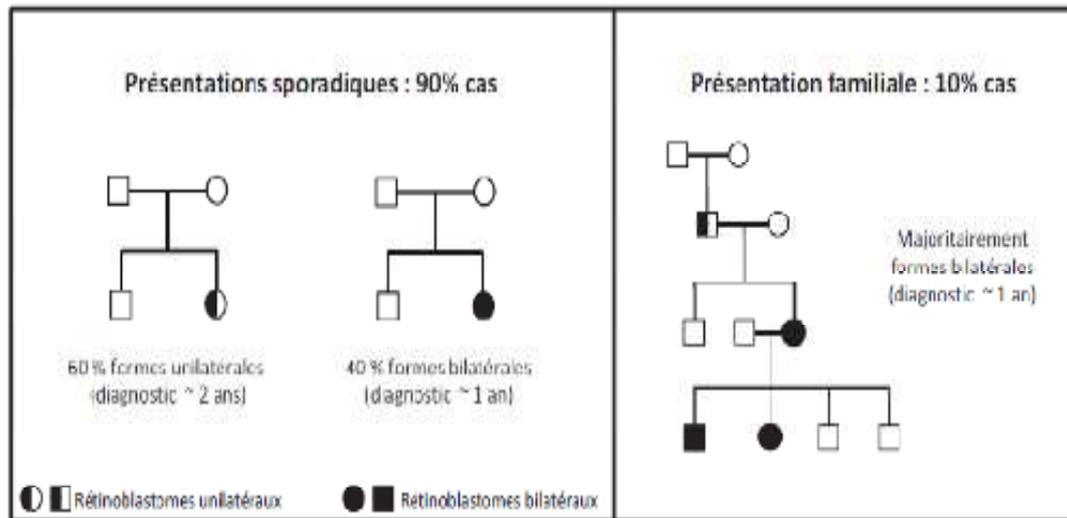


Figure 4: Arbres familiaux représentatifs des différentes présentations de Rb

6.1.2. L'hypothèse de Knudson complétée par Comings

Knudson a proposé en 1971 un modèle mathématique qui rendait compte de la fréquence élevée des formes bilatérales de RB, survenant dans les premiers mois de vie dans les cas familiaux, et, de la plus grande fréquence des formes unilatérales avec un diagnostic plus tardif dans les cas sporadiques (Knudson, 1971). Dans ce modèle, un RB se développerait à partir d'une cellule rétinienne après la survenue de deux mutations dans le tissu cible. L'accumulation de ces deux événements est nécessaire mais possiblement non suffisante au développement tumoral. Dans les formes bilatérales, la première mutation serait constitutionnelle (mutation germinale), présente dans toutes les cellules de l'organisme, alors que la deuxième mutation serait acquise durant la vie fœtale ou au cours des premiers mois de vie (Annexe3) (Morris, 1990). Si la première mutation est déjà présente dans l'ensemble des cellules de la rétine, le développement d'un RB (lié à l'apparition de la deuxième mutation) est soumis à la probabilité qu'une mutation apparaît sur le deuxième gène cible. Dans ce modèle, les patients porteurs d'une mutation germinale possèdent un risque très élevé de développer, à un âge précoce, une voire plusieurs tumeurs pouvant conduire à

Chapitre1 : Généralité

la bilatéralité de l'atteinte. Il existe aussi une susceptibilité à d'autres types de tumeurs chez les patients prédisposés une susceptibilité à d'autres types de tumeurs chez les patients prédisposés. Comings complète le modèle de Knudson en 1973 en émettant l'hypothèse que les deux mutations nécessaires au développement du rétinoblastome surviendraient sur les deux allèles d'un même gène provoquant l'inactivation du gène (Comings, 1973). Le gène (*RBI*) n'était alors pas encore identifié mais ce modèle a conduit à l'émergence du concept de gène suppresseur de tumeur (Castéra2012).

6.2. Le gène *RBI*

L'analyse comparative des marqueurs génétiques polymorphes dans la tumeur et au niveau constitutionnel a démontré qu'environ 65% des tumeurs présentaient une perte d'hétérozygotie au locus 13q14 en 1963. Dans plus de la moitié des cas, un gène de prédisposition serait altéré au niveau somatique par la perte complète de la région chromosomique dans lequel il serait situé. Cette hypothèse a été confirmée dans les formes familiales de RB dans lesquelles l'allèle restant dans les tumeurs est toujours l'allèle commun présent chez les apparentés atteints d'une même famille. L'allèle restant au niveau tumoral est donc l'allèle portant la prédisposition au RB.

L'analyse d'un grand nombre de RB a permis d'identifier une région minimale commune de délétion en 13q14. En 1986, un gène localisé dans cette région et siège de mutations constitutionnelles a été identifié chez les enfants atteints de RBB. Il s'agissait donc du gène de prédisposition au RB, appelé *RBI* (figure5).

L'identification de *RBI* ainsi que la caractérisation de sa séquence nucléotidique complète (Toguchida, 1993), a donc confirmé l'hypothèse de Knudson ouvrant ainsi la voie au diagnostic moléculaire des prédispositions aux cancers et à l'identification des sujets à risque (Castéra2012).

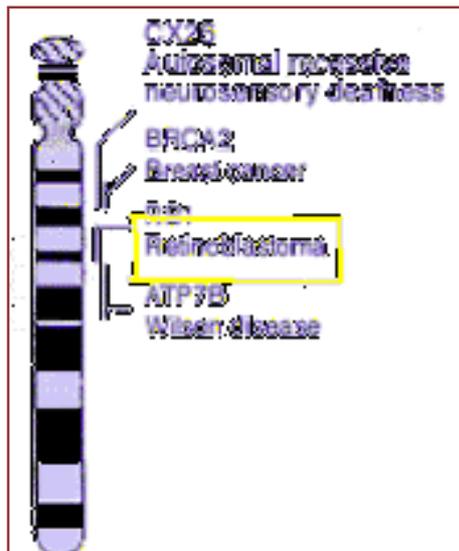


Figure 5 : le gène Rb.

6.3. La protéine pRb

La protéine pRb est phosphorylable et partage une homologie de séquence avec deux protéines analogues p107 (codée par RBL1, retinoblastoma-like 1 situé en 20q11.2) et p130 (codée par RBL2, retinoblastoma-like 2 situé en 16q12.2). Cette petite famille de protéines nucléaires partage deux régions protéiques appelées « pocket domains » qui interagissent avec de nombreuses protéines partenaires de pRb mais aussi avec des oncoprotéines virales. La protéine pRb peut être inactivée par mutation, par phosphorylation, par dégradation protéolytique notamment lors des processus apoptotiques caspases dépendants, et également par des oncoprotéines virales tel que l'antigène T de papovavirus, l'adénovirus E1A, et le papillomavirus type 16 E7 (Phelps, 1992)

6.3.1. La fonction de la protéine Rb1

Les rôles de pRb sont nombreux et souvent en relation avec de nombreuses interactions avec les facteurs de transcription de la famille des E2F. La protéine pRb exerce un rôle de répression de ces différents facteurs en les séquestrant (Zhu, 2005). De manière générale, la forme hypophosphorylée de pRb est active et permet l'inhibition de ses partenaires. Inversement la forme hyperphosphorylée est inactive. Par ailleurs, plus de 100 partenaires protéiques sont connus pour interagir avec pRb.

Chapitre1 : Généralité

a .RB1et contrôle du cycle cellulaire

La protéine Rb est phosphorylée par les cyclinD/cdk4, cyclinE/cdk2 et cyclinA/cdk2, elles-mêmes régulées par la protéine p16, au cours du cycle cellulaire. La protéine pRb contrôle la transition G1/S. Dans sa forme active, elle bloque la progression en phase S.L'hypophosphorylation de pRb permet de lever l'inhibition des facteurs de transcription E2Fet notamment E2F1, E2F2 et E2F3 qui sont en interaction directe avec pRb (Classon, 2002).

La pRb est donc hypophosphorylée tôt en G1 du cycle cellulaire. Lorsque les cellules sont au milieu de la phase G1 les cyclinD/cdk4 ou 6 induisent l'hyperphosphorylation de pRb libérant ainsi les facteurs de transcription E2F permettant ainsi l'entrée en phase S. Les rôles des facteurs de transcription E2F notamment dans le contrôle des gènes utiles à la réplication sont nombreux et encore mal connus (Chen, 2009)

b. *RB1* et contrôle de l'apoptose

La protéine Rb régule l'apoptose via son interaction avec les protéines E2F et notamment E2F1. En effet, une surexpression d'E2F1 induit l'apoptose en activant la transcription des protéines codant pour p14Arf, p73, APAF-1 et la protéine pro-apoptotique SMAC/diablo (Du, 2009). La surexpression de Arf stabilise la protéine p53 notamment en inhibant MDM2, membre de la famille des Murine-Double Minute, impliquée dans la dégradation de p53 (Laurie, 2006; Brooks, 2007).L'inhibition de Rb serait donc à l'origine de deux événements paradoxaux puisque l'accumulation des protéines E2F permet une entrée en phase S et promeut une prolifération cellulaire mais permet aussi une libération de protéines pro-apoptotiques. Un contrôle étroit des membres de la famille E2F parait donc essentiel dans le maintien de l'homéostasie cellulaire. En conséquence, la situation du RB où *RB1* est inactivé sur ces deux allèles, implique la participation d'événements complémentaires nécessaires au développement tumoral.

c. *RB1* et contrôle de la différenciation cellulaire

Les modèles murins ont permis de mettre en évidence le rôle de pRb dans le développement de la rétine embryonnaire. Au cours du développement embryonnaire, la couche neuroblastique abrite les cellules progénitrices rétiniennes qui se divisent et/ou se différencient en cellules rétiniennes transitoires. A la naissance, les cellules progénitrices rétiniennes sont rares et les cellules rétiniennes transitoires migrent et se

Chapitre1 : Généralité

différencient en bâtonnets, cônes, cellules horizontales, cellules bipolaires, cellules de Müller, cellules amacrines et en cellules ganglionnaires. La protéine Rb bloque la division des cellules rétinienne transitoires et limiterait l'expansion des cellules progénitrices rétinienne. Dans ces conditions, il a été suggéré que la perte de pRb permettrait une division ectopique des cellules rétinienne transitoires dans la rétine en développement, en faisant des points de départ théoriques idéaux du développement du RB, d'autant que, ces cellules seraient programmées pour être résistantes à l'apoptose (figure 6) (Castéra 2012).

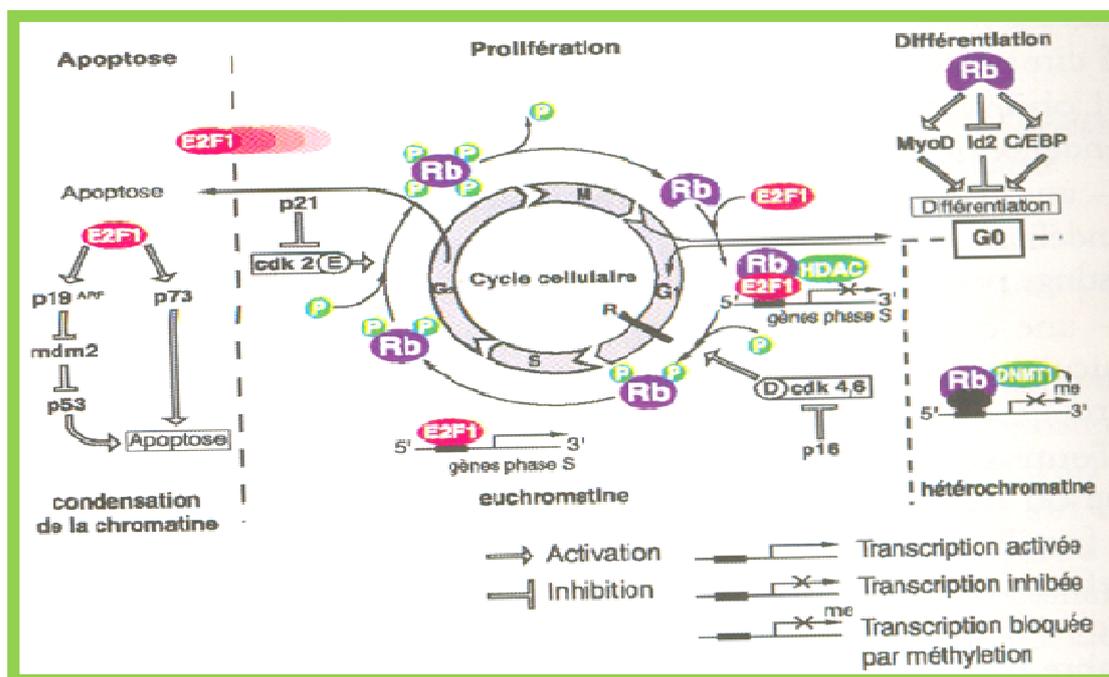


Figure 6 : protéine Rb et sa fonction

6.4. Pathologie moléculaire

6.4.1. Les mutations constitutionnelles du gène *RB1*

Les mutations mises en évidence provoquent des pertes de fonction de la protéine et il n'a pas été décrit de mutations possédant un effet dominant négatif (qui serait très probablement létal considérant le rôle majeur de pRb dans l'homéostasie cellulaire). Ces mutations se répartissent sur toute la région codante jusque dans le promoteur où des variations nucléotidiques très probablement causales sont mises en évidence. Il n'a jamais été retrouvé de mutations dans les deux derniers exons, exceptée une, récemment mise en évidence dans l'exon 27, celle-ci étant associée à une faible pénétrance (Mitter, 2009). Le spectre des mutations montre 40% de mutations non-

Chapitre1 : Généralité

sens, 25 % de mutations type insertion/délétions de quelques bases décalant le cadre de lecture et responsables de l'apparition d'un codon stop prématuré (PTC pour «prematuration termination codon»), 20% de mutations d'épissage localisées ou non dans les sites consensus d'épissage et conduisant à des sauts d'exon complet ou partiel et souvent à une rupture du cadre de lecture (Cartegni, 2002; Houdayer, 2008) et 10% de réarrangements chromosomiques, délétions ou duplications d'un ou plusieurs exons voire du gène entier (Alonso, 2001; Richter, 2003; Houdayer, 2004). Enfin, de rares faux-sens et des mutations sur le promoteur de *RBI*) ont été mis en évidence et sont parfois associés à de pénétrances réduites (Annexe4).

6.4.2. Les mutations somatiques du gène *RBI*

Des événements mutationnels de même nature que ceux mis en évidence au niveau constitutionnel sont retrouvés dans les tumeurs avec une exclusivité pour l'inactivation allélique par méthylation du promoteur, jamais mise en évidence sur du matériel constitutionnel (données internes). L'inactivation somatique du deuxième allèle de *RBI* est donc un événement essentiel au développement d'un rétinoblastome. Ce deuxième événement somatique peut prendre la forme d'une petite mutation, d'un grand réarrangement génomique et d'une méthylation du promoteur. Une perte d'hétérozygotie (LOH pour «Loss of heterozygosity) est observée dans environ 65% des tumeurs et est le reflet d'une grande délétion génomique simple du locus de *RBI* sans re-duplication, d'une non disjonction avec duplication de l'allèle muté ou d'une recombinaison mitotique (Harbour, 2001).

7. Les relations génotype/phénotype : La nature de la mutation comme support des pénétrances réduites

Le mode de transmission mendélienne de la prédisposition au RB obéit à un mode autosomique dominant dans lequel la pénétrance est retenue comme très élevée mais incomplète. Il existe donc de rares familles où la pénétrance est réduite, où le risque individuel de développer une tumeur est difficile à évaluer. L'origine moléculaire des faibles pénétrances est aujourd'hui bien identifiée par les études de génotype/phénotype (Taylor, 2007).

Chapitre1 : Généralité

7.1. Les mutations de l'exon 1 de *RBI*

Les mutations de l'exon 1 sont associées à une faible pénétrance. Cette faible pénétrance peut être expliquée par l'inaptitude du système du nonsense-mediated mRNA decay (NMD) à éliminer les ARN porteurs d'un codon stop en 5' (Inacio, 2004) et par la possibilité d'une ré-initiation de la traduction en aval du codon stop prématuré comme cela est également décrit dans d'autres pathologies (Ozisik, 2003; Howard, 2004). Ainsi, Sanchez-Sanchez et al. ont démontré que les mutations engendrant un codon stop prématuré en aval du codon 113 de *RBI* échappent au NMD et sont à l'origine d'une ré-initiation de la traduction à partir de ce codon qui partage une similarité de séquence avec le codon initiateur physiologique (Sanchez-Sanchez, 2007). Une protéine plus courte privée de 112 acides-aminés dans sa partie N-terminale est alors traduite. Cette protéine conserverait tout ou une partie de l'activité de la protéine sauvage, expliquant ainsi l'observation de nombreux porteurs sains dans les familles où ségrège ce type de mutation.

Ainsi, la variabilité d'expression phénotypique au sein de ces familles serait liée au niveau plus ou moins important de ré-initiation de la traduction.

7.2. Les délétions complètes de *RBI* : faible pénétrance et retard du développement psychomoteur

Les réarrangements chromosomiques (délétion ou duplication d'un ou plusieurs exons, voire du gène entier) sont associés à une pénétrance variable (Thienpont, 2005). Un défaut de pénétrance associé à une grande variabilité d'expression (coexistence de porteurs sains, de personnes atteints de rétinomes et de patients atteints de forme bilatérale) est décrite dans les familles au ségrège une délétion complète de *RBI* (Albrecht, 2005). Les délétions dont le point de cassure est intragénique et qui emporte la partie 5' ou 3' sont systématiquement associées à des pénétrances élevées. Il en est de même pour les délétions ou duplications intragéniques décalant le cadre de lecture. Pour expliquer ce paradoxe, il a été émis l'hypothèse que les délétions complètes du locus *RBI* étaient à l'origine d'un faible développement tumoral à cause de la présence, en position télomérique et centromérique du locus *RBI* de gènes indispensables (chacun étant suffisant) à la survie du clone tumoral. En cas de perte d'hétérozygotie dans un contexte de transformation tumorale, une cellule qui aurait perdu ces gènes (du fait d'une

hémizygotie pour une grande délétion du locus de *RBI*) entrerait dans un processus de mort cellulaire (figure 7).

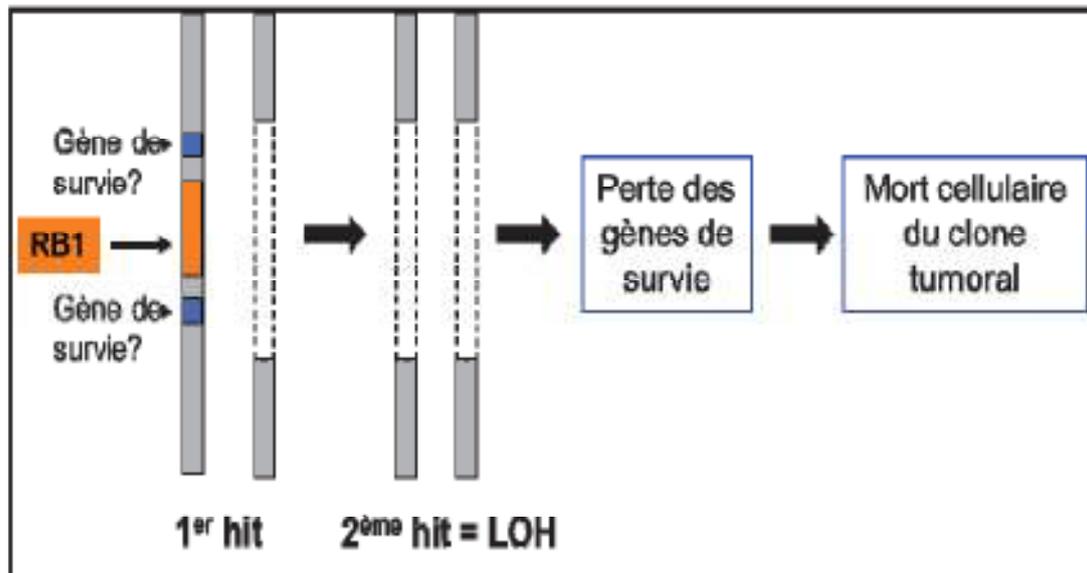


Figure 7 : Mécanisme possible d'un défaut de pénétrance lors d'une délétion complète encadrant le gène *RBI*

7.3. Les mutations affectant l'épissage de *RBI* et régulation de la transcription

De manière générale, les mutations d'épissage provoquant un saut hors phase d'un ou plusieurs exons sur les transcrits de *RBI* et à l'origine d'un PTC ou une délétion en phase emportant un domaine fonctionnel majeur (pocketdomain) sont à l'origine d'une pénétrance élevée. Néanmoins, la pénétrance de ces mutations est plus faible que celle des mutations à l'origine d'un PTC au niveau génomique suggérant l'influence de facteurs modificateurs en lien avec l'épissage et le contrôle de la transcription. Il est ainsi suggéré que l'expression phénotypique du Rb, n'est pas exclusivement liée à l'apparition (saut d'un ou plusieurs exons rompant le cadre ouvert de lecture) ou non (délétion d'un ou plusieurs exon conservant le cadre de lecture) d'un PTC (Taylor, 2007; Zhang, 2008). La possible utilisation de site cryptique d'épissage alternatif maintenant le cadre de lecture, l'expression résiduelle d'un transcrit sauvage par l'allèle muté, voire une surexpression de l'allèle sauvage sont des hypothèses qu'il faut avancer pour expliquer ces défaut de pénétrance (Lohmann, 2004).

7.4. Les mutations faux-sens de *RBI*

De rares mutations faux-sens ont été identifiées dans des familles à faible pénétrance telle la mutation p.Arg661Trp (R661W) dans l'exon 20 de *RBI* qui est fréquente (Onadim, 1992). Il est suggéré que la protéine mutante conserve une activité résiduelle capable de conserver en partie les propriétés de suppresseur de tumeur. Ainsi, les études *in vitro* ont montré que la R661W présentait une capacité de fixation sur E2F1 diminuée mais que la protéine mutante conservait la capacité de subir une hyperphosphorylation cycline dépendante (Otterson, 1997). Néanmoins, les phénotypes atténués ne sont pas la règle dans toutes les familles où ségrégent cette mutation et l'existence de facteurs modificateurs génétiques qui viendraient moduler favorablement ou défavorablement l'impact de cette mutation est un paramètre à prendre en compte lors du conseil génétique (Taylor, 2007).

7.5. Les mutations du promoteur de *RBI*

Dans certaines familles, des substitutions nucléotidiques situées sur le promoteur de *RBI* ont été mises en évidence. Jusqu'à présent, aucune étude fonctionnelle des promoteurs mutants n'a été menée. Néanmoins, ces variations interfèrent avec des sites de fixation de différents facteurs de transcription tel que SP1 et ATF (Sakai, 1991; Cowell, 1996). Comme ces variations ségrégent avec la maladie dans ces différentes familles, leur caractère délétère ou leur liaison avec un événement causal, qui serait en cis, semble acquis. Dans ces familles, la pénétrance peut être faible et les niveaux d'expression résiduels de *RBI* ont été suspectés comme étant un paramètre contrôlant l'apparition du RB.

Chapitre3 : Matériels et méthodes

L'étude a été effectuée dans le service d'anatomopathologie de l'hôpital Mustapha à Alger pendant une durée de 6 mois.

Cette étude consiste en une double étude :

*Prospective (janvier/2014 à août/2014).

* Rétrospective qui comprend deux volets :

-3 ans (janvier/2011 à décembre/2013)

-2 cas familiaux colligés durant l'année 2000 et le deuxième durant l'année 2001.

*Étude des techniques histologiques (déshydratation, montage des lames et coloration, lecture des lames avec facteurs histopronostiques).

*Etude génétique : cas familiaux

1. Population d'étude :

L'étude a concerné une population de 48 enfants, dont 25 garçons et 23 fillettes âgés entre 1 mois et 5 ans, provenant de la clinique ophtalmologique du CHU Mustapha Alger Centre.

Cette population a bénéficié d'un interrogatoire comportant les renseignements suivants identité, âge, positionnement de l'œil.

2. Les objectifs

Etude anatomocliniques.

La recherche des facteurs histopronostiques du rétinoblastome.

Et la recherche des cas familiaux.

3. Matériel

3.1. Les réactifs nécessaires pour l'étude histologique

Formol tamponné (formaldéhyde à 10%)

Solution d'alcool à différentes concentrations (70% 96% 100%)

Xylène (solvant organique)

Paraffine (fondue)

Eau courante

Eau distillée

Hématoxyline de Harris

Eosine

EKIT

3.2. Appareillage

Appareil à circulation (circulateur)

Appareil à enrobage

Microtome

Lames et lamelles

Etuve

Batterie de coloration hématoxyline-éosine HE

Le descriptif de ces appareils est représenté dans l'annexe 6

3.3. Matériels vivant :

Le matériel biologique utilisé dans notre étude est représenté par des pièces d'énucléation ou d'exentération avec coupes des 6 globes oculaires prise en charge dans le service anatomo-pathologie de CHU d'Alger.

a) Les paramètres d'inclusion :

Tous les cas se présentant dans le service et ayant un diagnostic clinique, radiologique ou histologique de rétinoblastome.

b) Les paramètres de non inclusion :

Patients adressés pour suspicion de rétinoblastome mais pour lequel le diagnostic histologique n'a pas retenu.

4. Méthodes

4.1. Méthodes anatomie-pathologie

De manière générale, l'analyse anatomo-pathologie des pièces d'énucléation est scindée en 3grands étapes :

*l'étude macroscopique

*techniques histologiques

*étude microscopique qui permet de visualiser et d'interpréter les résultats

4.1.1 Etude macroscopique

Elle est précédée d'une étape de fixation au formol tamponné (formaldéhyde 10%) pendant idéalement 24heures. Le but de ce prétraitement est de s'opposer à la déshydratation tissulaire ainsi que l'immobilisation des composantes cellulaires du tissu dans un état aussi proche que possible de l'état vivant, assurant ainsi la conservation de la pièce.

L'examen macroscopique est essentiel pour déterminer le choix du prélèvement à examiner(Figure8).

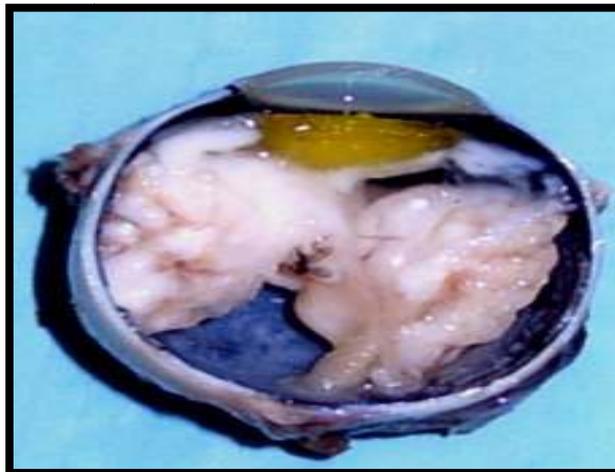


Figure 8 : globe oculaire présente une tumeur bifocale

*Prélèvement

Le globe oculaire doit être coupé en 5 pièces (annexe5). Ils sont mis dans des cassettes numérotées pour chaque patient (Figure9).



Figure9 : cassette numérotées

Chapitre3 : Matériels et méthodes

L'énucléation pour Rb doit emporter un maximum de nerf optique intraorbitaire. Dans un premier temps, prélever à part la tranche de section du nerf optique.

La coupe doit être sagittale passant par le nerf optique. Puis le globe oculaire doit être coupé en 5 tranches (annexe 5), puis inclus en totalité. Les prélèvements sont ainsi mis dans des cassettes numérotées

4.1.2. Etude histologique

Etude histologique passe par plusieurs étapes qui ont pour objectif l'obtention de coupes de tissu très minces pour l'observation microscopique, de manière générale nous avons effectué sept étapes.

a) Circulation :

Elle dure 12 heures et comprend 3 étapes :

1. Déshydratation :

Est progressive, elle dure 8 heures et se fait par passage successifs du tissu dans les solutions d'alcool à concentration croissantes (70%, 96%, 100%) (2 heures dans chaque bain).

2. Eclaircissement :

Cette étape d'une durée de 2 heures est réalisée par le Xylène dans lequel peut se dissoudre l'alcool.

3. Imprégnation :

Elle se fait par immersion du tissu dans 2 bacs de paraffine fondue à 56-60°C pendant une heure chacun.

Chapitre3 : Matériels et méthodes

Cette dernière à pour rôle de remplir les pores tissulaires préalablement préparées par le médecin dans l'appareil à circulation (circulateur) (figure10).



Figure 10: Appareil de circulation

b) Inclusion et enrobage

L'objectif de l'inclusion en paraffine est de fournir un support au tissu (Figure11) pendant et après la coupe au microtome.



Figure11: support au tissu

c) Microtomie (réalisation des coupes)

La microtomie consiste en l'utilisation d'un microtome lequel, grâce à sa lame, permet de couper les blocs de paraffine préalablement préparés, on obtient ainsi des rubans très minces de 3 à 5 microns (Figure12).



Figure12 : Microtome

Ainsi nous avons réalisé cette étape sur nos échantillons comme suit :

- On place le bloc de paraffine sur le support de bloc du microtome.
- On rabote le bloc jusqu'à l'exposition totale de la surface du fragment tissulaire.
- On réalise des coupes très minces, l'ensemble de ces dernières formant un ruban.
- On dépose les rubans obtenus dans un bain marie 37°C et on les récupère rapidement en les étalant sur les lames.

d) Etalement

Pendant la coupe, les tissus inclus dans la paraffine sont très comprimés afin d'atténuer cette compression et d'enlever les plis du tissu. Les coupes sont étalées à des lames mouillées comportant le numéro de la pièce puis sont mises dans une plaque chauffante réglée à 60°C (Annexe 7) et les plis sont enlevés grâce à des aiguilles.

Les lames sont par suite placées dans un panier pour lames et séchées à 120°C dans une étuve pendant 20min (Annexe8).

e) Déparaffinage

Le déparaffinage consiste à éliminer la paraffine qui entoure le fragment les lames sèches dans des petits chariots qu'on met dans l'étuve à 37°C pendant environ 12h pour faire fondre la paraffine.

Chapitre3 : Matériels et méthodes

f) Coloration de routine : méthode à hématoxyline-éosine(H.E).

Pour la coloration, constituée respectivement d'un bac d'Hématoxyline de Harris, un bac d'eau acidifiée (5ml d'acide chlorhydrique concentré dans 1000ml d'eau distillée), un bac d'eau ammoniacale (2ml d'ammoniaque dans 1000ml d'eau distillée), un bac d'éosine (100ml de solution aqueuse à 3% d'éosine, 125 ml d'alcool à 95% et 2 gouttes d'acide acétique glacial dans 375ml d'eau distillée), un bac d'alcool à 95% et un bac de xylène.

Les lames sont d'abord plongées dans le bac à Hématoxyline de Harris durant 3 à 4 min, rincées dans un bain d'eau du robinet (à renouveler après chaque rinçage) puis plongées une à deux fois dans l'eau acidifié et rincées à l'eau du robinet pendant 2min. elles sont ensuite plongées une à deux fois dans l'eau ammoniacale puis rincées à l'eau du robinet pendant 2min. les lames sont colorés à l'Eosine pendant 2 min, rincées à l'eau du robinet. Enfin, les lames sont séchées à la plaque chauffante (figure13).



Figure13 : la batterie de coloration

Montage des lames

Montage des lames consiste à protéger définitivement le tissu étalé sur la lame par une lamelle de verre, collée à l'aide d'un produit synthétique transparent qui se polymérise à l'aire appelé « EKIT ».

Nous avons donc procédé au montage de nos lames comme suit :

Chapitre3 : Matériels et méthodes

*on plonge la lame dans un bain de xylène puis on la retire immédiatement, le but est d'éliminer les éventuelles impuretés et d'éclaircir la coloration.

*on verse une goutte d'EKIT sur la lamelle qu'on dépose sur la lame en évitant les balles d'air qui gêneront l'observation.

*on plonge la lame montrée dans un bain de xylène et on la retire de suite. Le but de cette étape est de nettoyer la lame de toutes impuretés.

*on laisse sécher à l'air libre.



Figure15 : Coupe montée du nerf optique

4.1.3 Lecture des résultats

La double coloration hématoxyline-éosine aboutit à la coloration des différents éléments cellulaires.

*Les noyaux seront colorés en bleu violacé.

*Cytoplasme en rose.

*Le collagène en rose pâle.

La visualisation des résultats se fait par le microscope optique à des grossissements croissants (40, 100, 400).

4.2 Méthodes statistiques

4.2.1 Recueil des données

Les résultats anatomopathologiques des 48 patients, utilisés pour notre étude statistiques ont été obtenus suite aux analyses macroscopiques, puis microscopiques que nous avons réalisé en collaboration avec le médecin anatomopathologiste.

Chapitre3 : Matériels et méthodes

Les données des archives ont été recueillies sur une durée de trois ans (2011-2013) à partir des comptes rendus anatomopathologiques archivés au service d'anatomopathologie de CHU d'Alger (Annexe 10, 11).

4.2.2 Analyse statistique

Analyse statistique des résultats de nos 48 patient (étude prospective) a consiste en une **étude descriptive** des variables de notre population :

*Facteurs pronostiques classiques (âge, type histologique, taille de tumeur « classification Reese Ellworth »ou bien ABC.

*caractéristiques de la tumeur (localisation, siège).

5. les cas familiaux

Dans la famille (A) il y'a deux fillettes décédées d'un RBB chacune, et un fils présentant un RBB. La fille de ce dernier (Née en 1999) présente RBB. Elle à été suivie à la Clinique d'ophtalmologie du centre hospitalier CHU d'Alger en 2000.

Dans les antécédents familiaux, la grand-mère a présenté dans l'enfance un RB de l'œil gauche énuclée avec au niveau de l'œil droit des lésions régressives.

Dans la famille (B) les parents sont sains ont une fillette à été suivie pour un RBB en 2001 dans CHU d'Alger. La deuxième fille présente un RBU avec un gros risque de bilatéralisation.

L'enfant (A.A), de sexe masculin, âgé de 31 jours à été suivi pour RBU de l'œil droit. Il est adressé dans le service d'ophtalmologie du centre hospitalier universitaire CHU d'Alger le juin 2014 pour avis et prise en charge.

L'œil droit a été énuclée sous anesthésie générale. Le bilan d'extension est normal.

Dans les antécédents familiaux la mère a présenté dans l'enfance un RB de l'œil droit, énuclée.

1. Répartition des rétinoblastomes en fonction de l'année

Le nombre de cas annuellement diagnostiqué était le suivant : 7 cas en 2011, 10 cas en 2012 et 20 en 2013 (Tableau1, Figure16).

les années	n cas
2011	7
2012	10
2013	20
Total	

Tableau1 : Répartition annuelle des rétinoblastomes

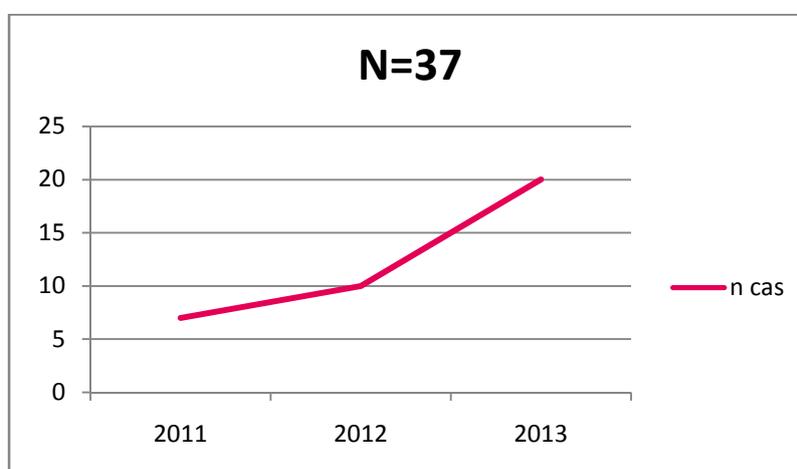


Figure16 : Répartition annuelle des RB.

2. Paramètres épidémiologiques.

2.1. Répartition selon le sexe

Parmi les 48 cas étudiés, il y a 25 garçons (52%) et 23 fillettes (48%).

Le sex ratio M/F est 1,08 (figure17).

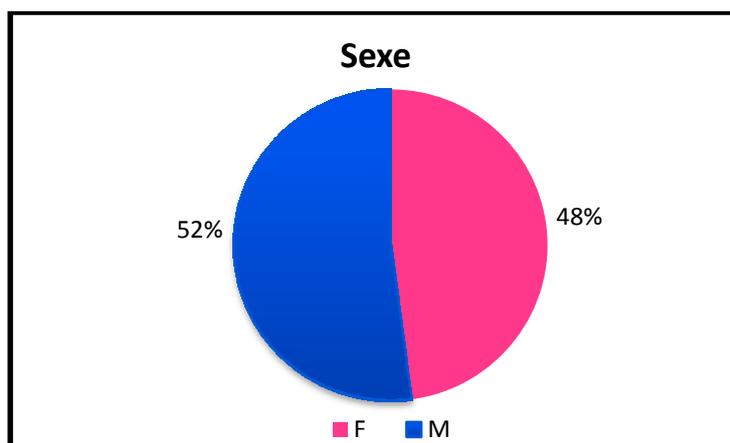


Figure17 : répartition des malades selon le sexe.

2.2. Répartition selon l'âge

L'âge de nos patients varie de 1 mois à 9ans avec un moyenne d'âge 3 ans. La tranche d'âge la plus touchée est celle de [1-2] elle présente 40% des cas de notre échantillon (tableau2, figure18).

Age	N de cas	%
[0-1]	5	10
[1-2]	19	40
[2-3]	12	25
[3-4]	5	10
[4-5]	3	6
≥ 5	4	9
Total	48	

Tableau 2: Répartition selon l'âge

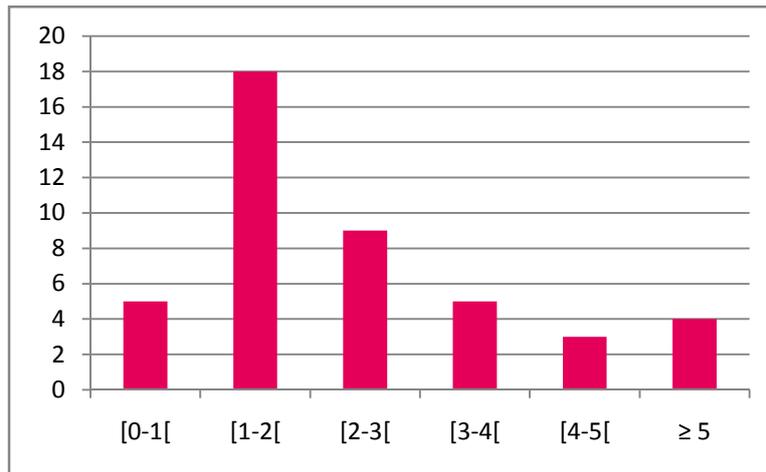


Figure18 : Répartition selon l'âge

3.Paramètres cliniques

Le signe d'appel clinique prédominant est la leucocorie pour tous les patients.

Ce signe est associé à un strabisme dans 2 cas (figure19, 20).



Figure19: RBB chez une fillette de 1 an.

Leucocorie (reflet blanc pupillaire) de l'œil gauche



Figure20 : RBB chez une fillette de 3 ans.

Leucocorie de l'œil gauche associée à un strabisme convergent

Chapitre3 : Résultats

3.1 Répartition selon l'uni ou bilatéralité des lésions

44 (92%) cas sont unilatéraux et 4 (8%) cas bilatéraux (tableau3, Figure21).

Localisation	n cas	%
Unilatérale	44	92
Bilatérale	4	8
Total	48	

Tableau3: Répartition selon l'uni ou bilatéralité

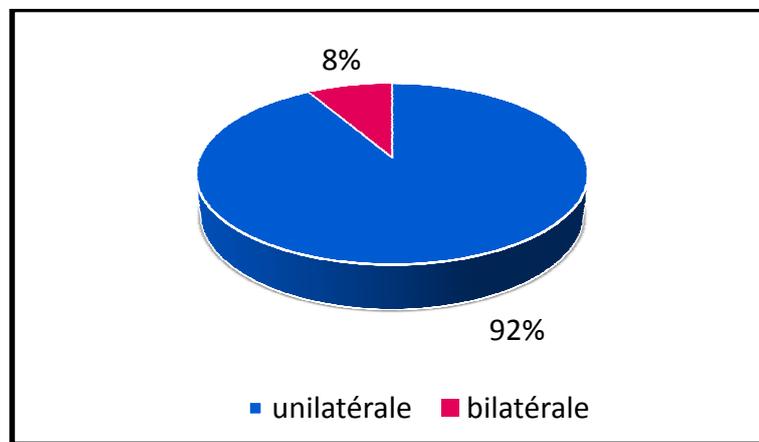


Figure21: répartition selon l'uni ou bilatéralité

3.2. Répartition selon localisation de la tumeur

Parmi les 44 formes unilatérales, l'œil gauche est atteint dans 24 cas, et l'œil droit dans 20 cas (tableau4, figure22).

Localisation	N cas	%
Œil gauche	24	55
Œil droit	20	45
Total	44	

Tableau4: Répartition des RBU selon localisation

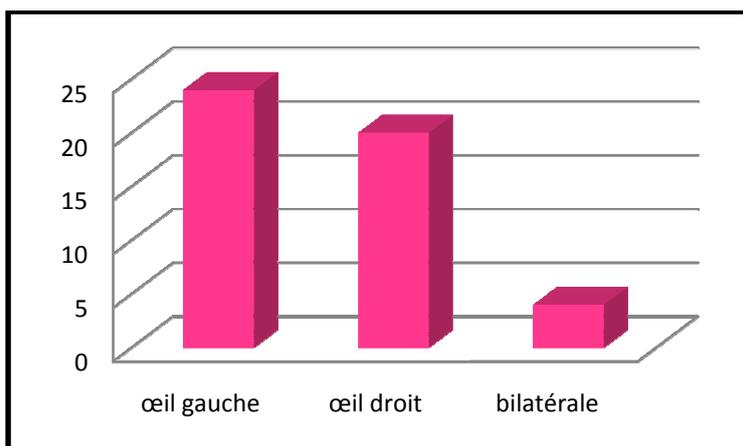


Figure22 : répartition des tumeurs selon localisation

3.3. Répartition selon l'âge et la localisation

La tranche d'âge la plus touchée se situe entre 1 – 2 ans pour les formes unilatérales, et 2 -3ans pour les cas bilatéraux (tableau5).

Age	Rb unilatéral	%	Rb bilatéral	%
[0-1]	5	10	0	0
[1-2]	18	38	1	2
[2-3]	9	19	3	6
[3-4]	5	10	0	0
[4-5]	3	6	0	0
≥ 5	4	9	0	0
Total	44	92	4	8

Tableau5: Répartition selon l'âge et localisation

4. Etude anatomo-pathologique

4.1. Macroscopie

Dans la majorité des cas le globe oculaire est habituellement de taille normale (2,5cm de grand axe).

Il y'a un cas de RB multifocal retrouvé dans notre étude.

Chapitre3 : Résultats

4.2. Répartition selon la taille de nerf optique :

La taille du nerf optique est inférieure à 0,5cm dans 12 cas, entre [0,5-1] cm dans 30 cas. Cette taille est supérieure à 1cm dans 3cas (Tableau6, figure23, 24).

Taille de nerf optique (mm)	n cas	%
≤ 5	12	25
[5-10]	30	63
≥ 10	3	6
Coupé au ras	3	6
Total	48	

Tableau6 : Répartition selon la taille du nerf optique

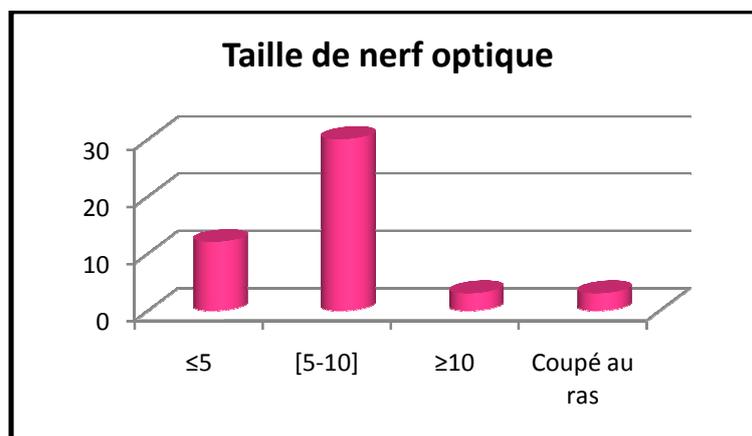


Figure24 : Répartition selon la taille de nerf optique

4.3. Répartition selon la taille tumorale

La taille de tumeur est inférieure à 1 cm dans 29 cas et 12 cas entre 1-2 cm et 4 cas ont une taille tumorale supérieure à 2 cm (Tableau7, figure25).

Taille de tumeur (cm)	n cas	%
≤ 1	29	60
1-2	12	25
≥ 2	4	8
Coupé au ras du globe	3	7
Total	48	

Tableau7 : Répartition selon la taille tumorale

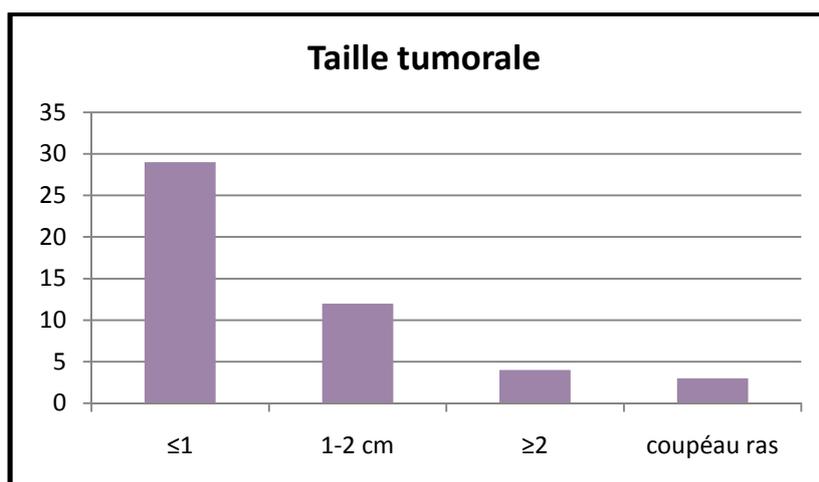


Figure25 : Répartition selon la taille tumorale

4.4. Infiltration tumorale

Elle a pour but de préciser l'extension locorégionale.

4.4.1. Répartition selon l'atteinte de la choroïde

Il y a 20 cas d'atteinte massive de la choroïde (42%) (Tableau8, figure26, 27).

Choroïde	N de cas	%
Saine	28	58
Atteinte massive	20	42
Total	48	

Tableau8 : Répartition selon l'atteinte de la choroïde.

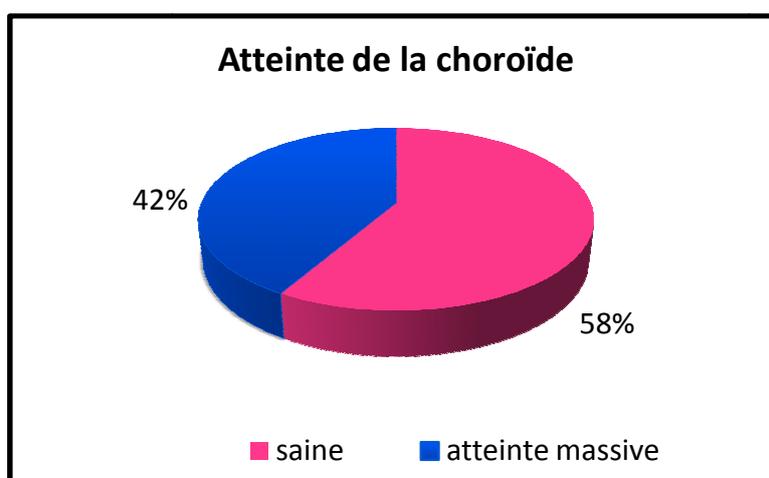


Figure26 : répartition selon l'atteinte de la choroïde.

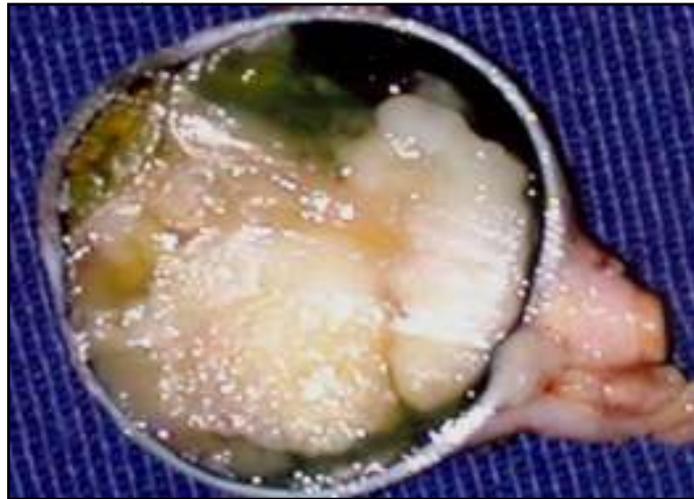
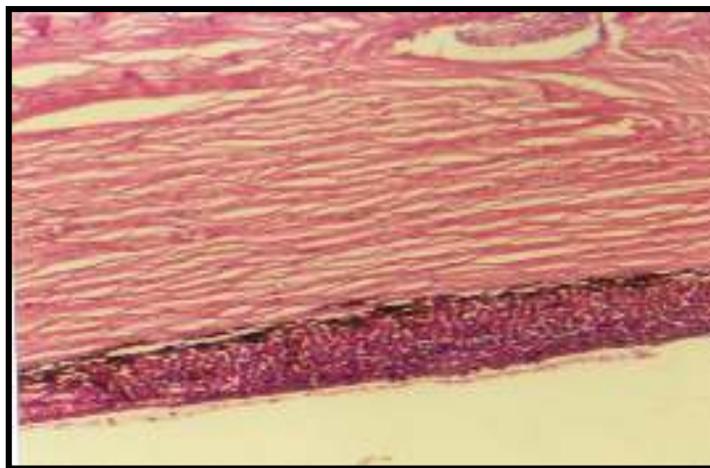


Figure23 : Aspect macroscopique du RB. Coupe sagittale passant par le nerf optique. Tumeur intra oculaire à développement endophytique arrivant au contact de la face postérieure du cristallin.



Sclère

Atteinte massive de la choroïde

Figure27:Coupe histologique du RB de la choroïde. HEX20

Chapitre3 : Résultats

4.4.2. Répartition selon l'atteinte de la sclère

Dans notre série i y a 6 cas (12,5%) d'atteinte sclérotique (tableau9, figure28, 29).

La sclère	N de cas	%
Saine	42	87
Atteinte	6	13
Totale	48	

Tableau9 : Répartition selon l'atteinte sclérotique.

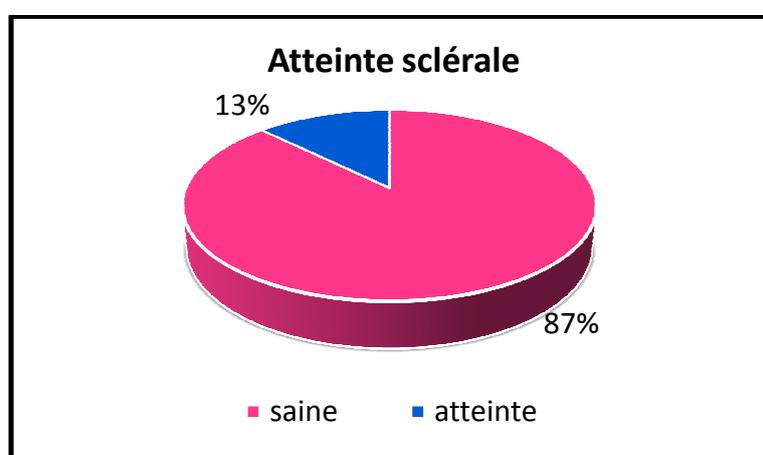


Figure28 : Répartition selon l'atteinte sclérotique.

4.4.3. Extension extrasclérale

L'atteinte sclérale est notée dans 6 cas. Il y a un cas d'atteinte extrasclérale (Tableau10, figure30).

La sclère	n cas	%
Saine	42	87
Intra sclérale	5	11
Extra sclérale	1	2
Total	48	

Tableau10 : Répartition selon l'atteinte extra ou intra sclérale.

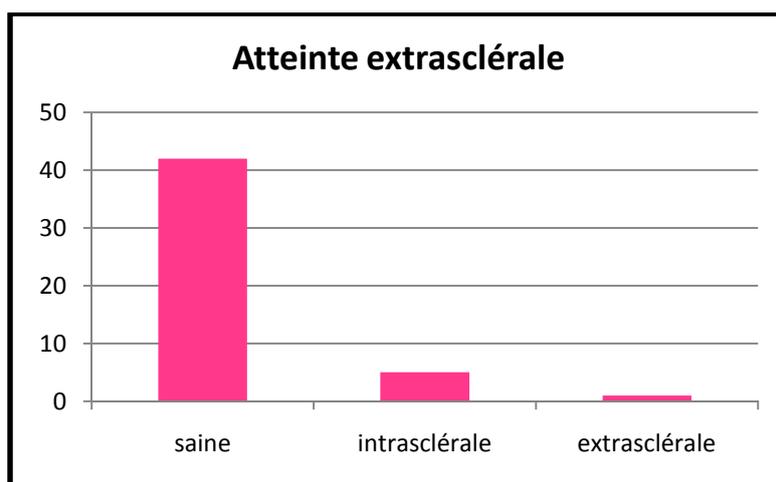


Figure 30: Répartition selon l'atteinte extra ou intrasclérale.

4.4.4. Répartition selon l'atteinte du nerf optique

32 cas sont sains, 13 cas d'atteinte de nerf optique et 3 cas le nerf optique coupé au ras du globe (Tableau11, figure31, 32).

Nerf optique	n de cas	%
Sain	32	67
Atteint	13	27
Coupé au ras	3	6
Total	48	

Tableau11 : Répartition selon l'atteinte de nerf optique.

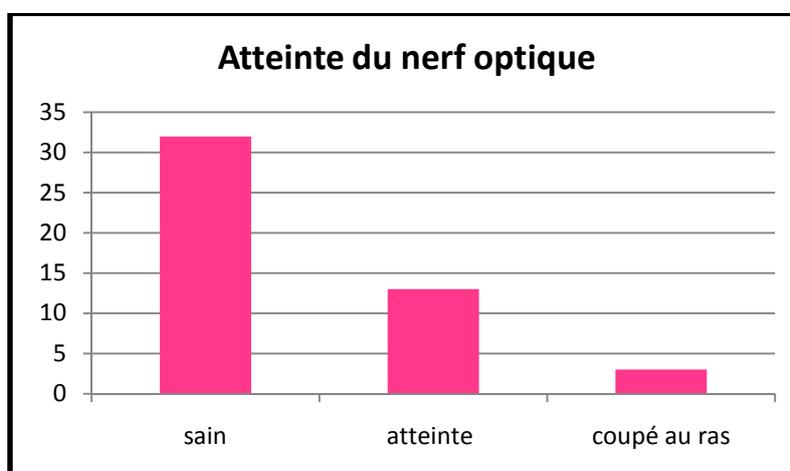


Figure31 : Répartition selon l'atteinte de nerf optique.

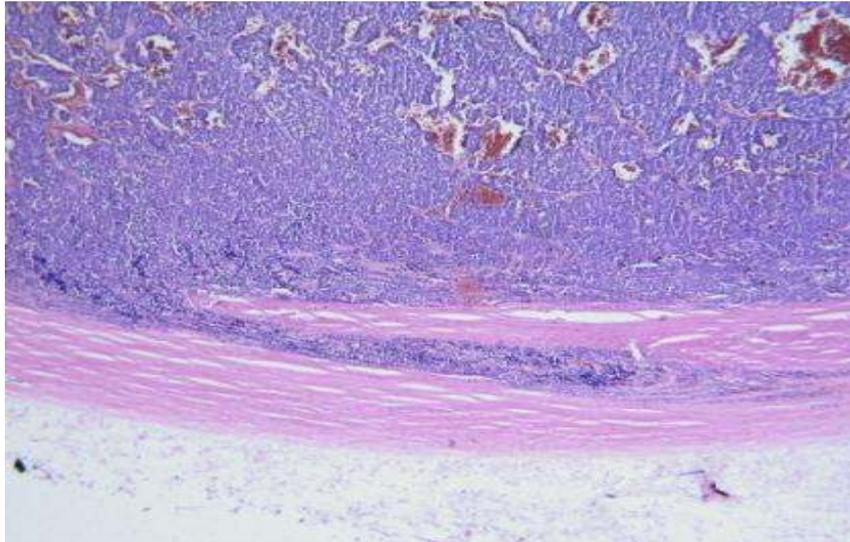


Figure29 : Aspect microscopique du RB de l'atteinte sclérotique sans dépassement
HEX20

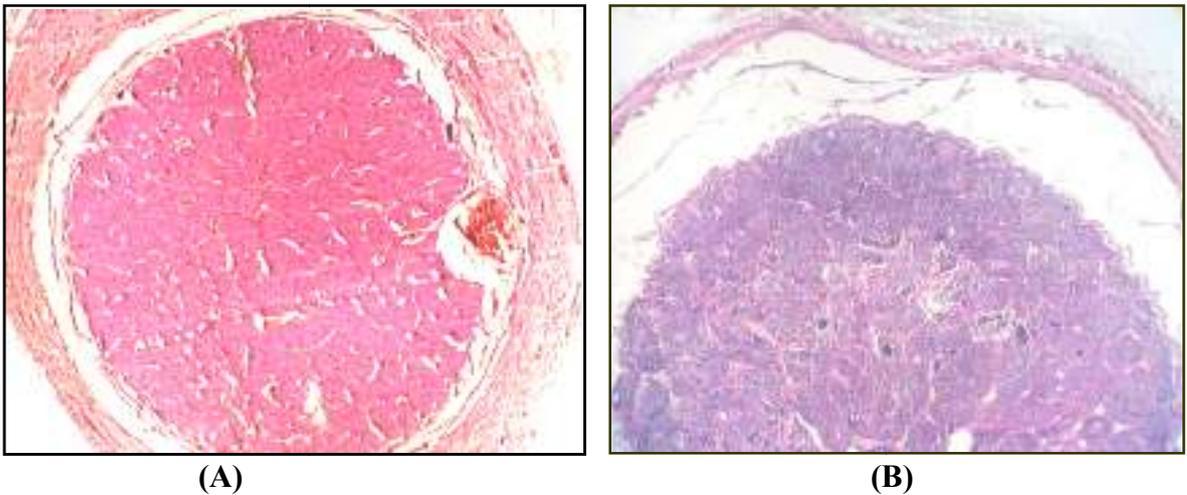


Figure32 : Tranche de section du nerf optique saine (A)
largement infiltrée (B).HEX20

Chapitre3 : Résultats

4.4. 4.1. Degré d'invasion de nerf optique

Dans les 13 cas d'atteinte de nerf optique il y a 7 cas d'invasion pré laminaire, 3 cas d'invasion rétro laminaire, et 3 cas d'invasion de tranche de section (Tableau12, figure33).

Atteinte de nerf optique	N cas	%
Sain	32	66,66
Prélaminaire	7	14,58
Rétrolaminaire	3	6,25
Tranche de section	3	6,25
Coupé au ras	3	6,25
Total	48	

Tableau12 : Répartition selon le degré d'invasion de nerf optique.

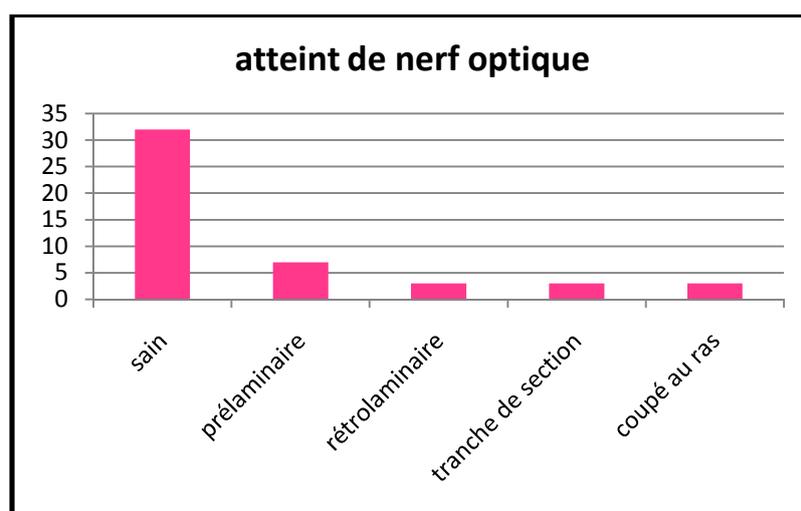


Figure33 : Répartition selon le degré d'invasion de nerf optique.

4. 4.5. Répartition selon l'atteinte de la chambre antérieure :

Il ya 2 cas d'atteintes de la chambre antérieure (Tableau13, figure34).

Chapitre3 : Résultats

Chambre antérieure	N cas	%
Saine	46	96
Atteinte	2	4
Total	48	

Tableau13: Répartition selon l'atteinte se la chambre antérieure.

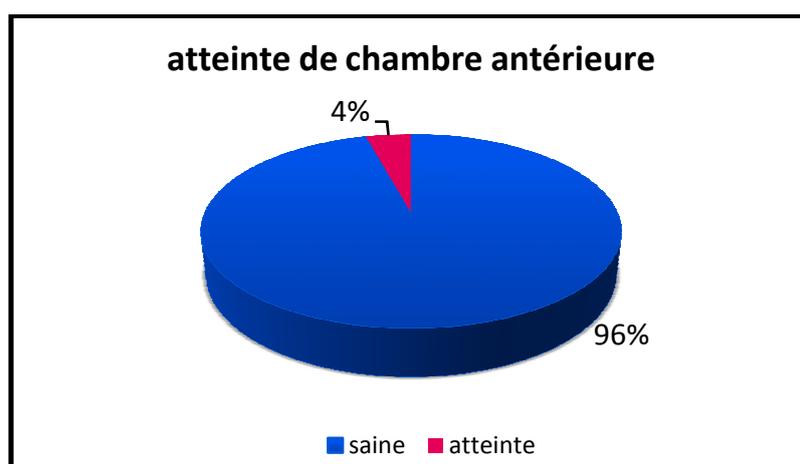


Figure34 : Répartition selon l'atteinte se la chambre antérieure.

4.4.6. La cavité vitrée

Dans notre série il y a 9 cas d'atteintes de cavité vitrée (Tableau14, figure35).

Cavité vitrée	N cas	%
Saine	39	81
Atteinte	9	19
Totale	48	

Tableau14 : Répartition selon l'atteinte de cavité vitrée.

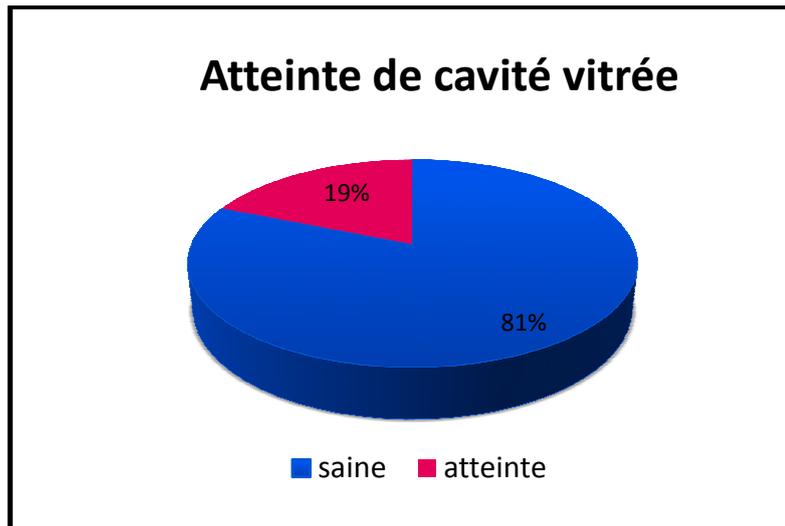


Figure35 : Répartition selon l'atteinte de cavité vitrée.

4.5. Envahissement des tuniques oculaires

30 cas d'envahissement intra rétinien, 20 cas d'envahissement massif de la choroïde, 5 cas d'envahissement intra sclérale, et un cas d'envahissement extra oculaire (Tableau15, figure36).

Tuniques oculaires	N cas
Intra rétinien	30
Choroïde massive	20
Intra sclérale	5
Extra sclérale	1

Tableau15 : Répartition selon l'envahissement des tuniques oculaires.

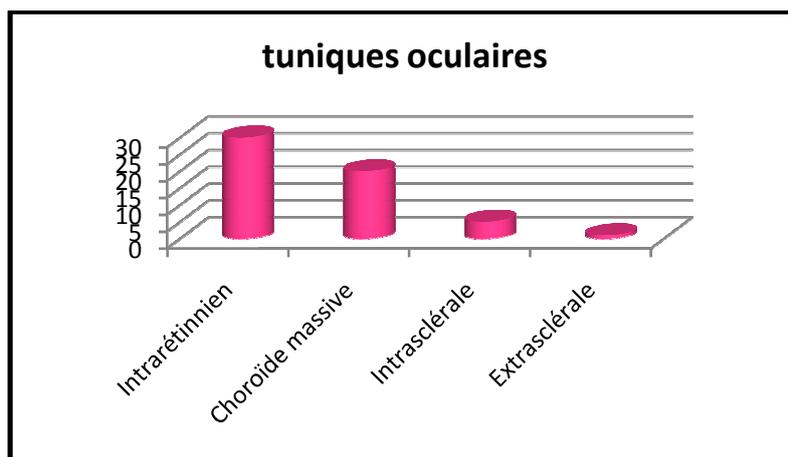


Tableau36 : Répartition selon l'envahissement des tuniques oculaires.

4.6.Extension loco régionale

Les formes localisées étaient majoritaires avec 98% des cas (Tableau16, figure37).

Formes	N cas	%
Intra oculaire	47	98
Extra oculaire	1	2
Total	48	

Tableau16 : Répartition selon extension loco régionale.

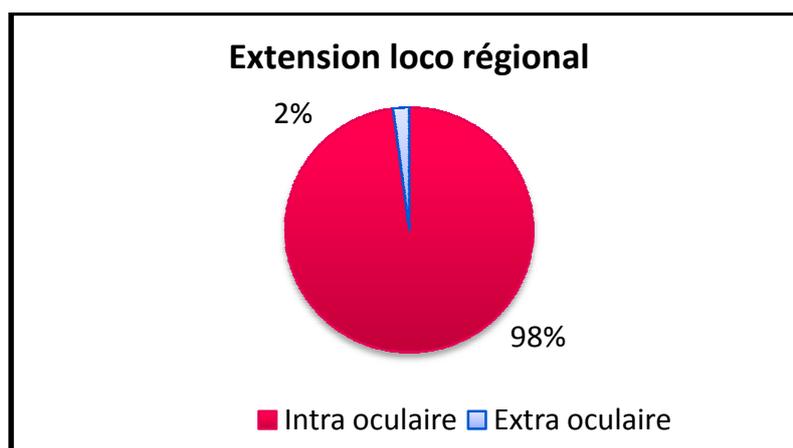


Figure37 : Répartition selon l'extension loco régionale.

4.7. Degré de différenciation

9 cas de tumeurs bien différenciées, 18 cas de tumeurs moyennement différenciées, et 21 cas de tumeur peu différenciées (Tableau17, figure38, 39).

Degré de différenciation	N cas	%
Bien	9	19
Moyennement	18	37
Peu	21	44
Total	48	

Tableau17: Répartition selon le degré de différenciation

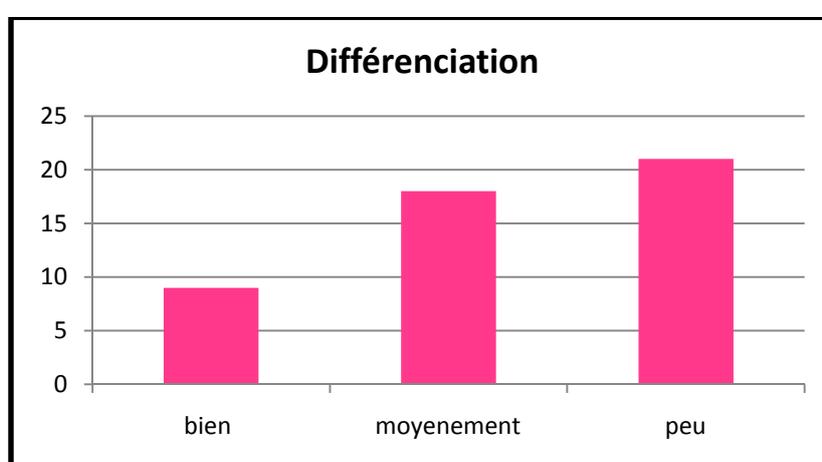


Figure38 : Répartition selon le degré de différenciation.

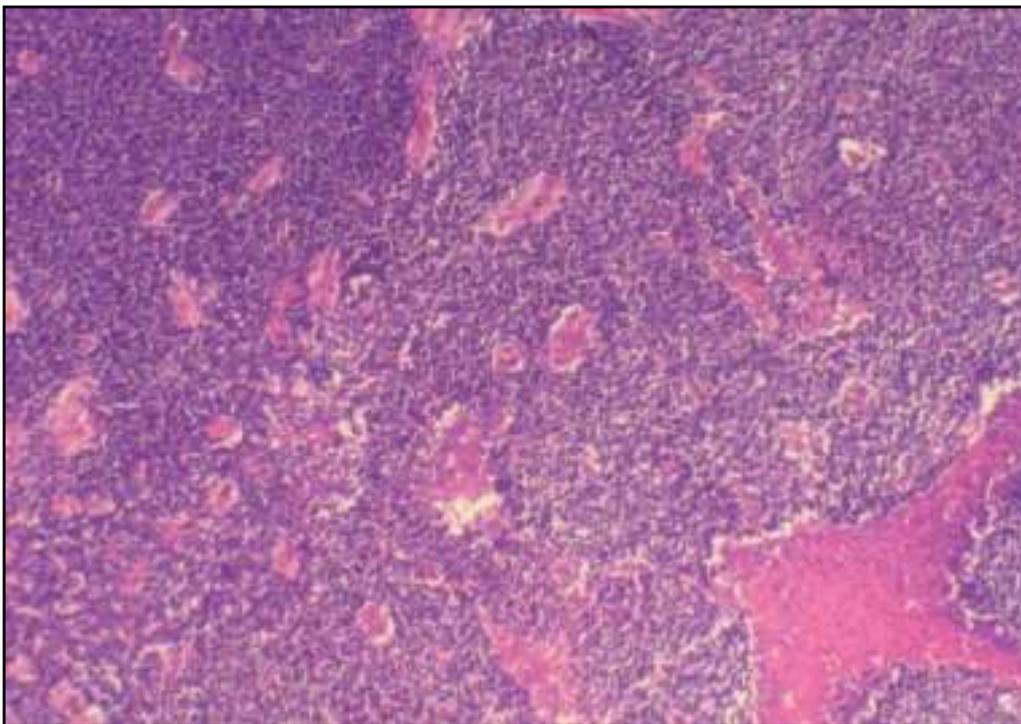
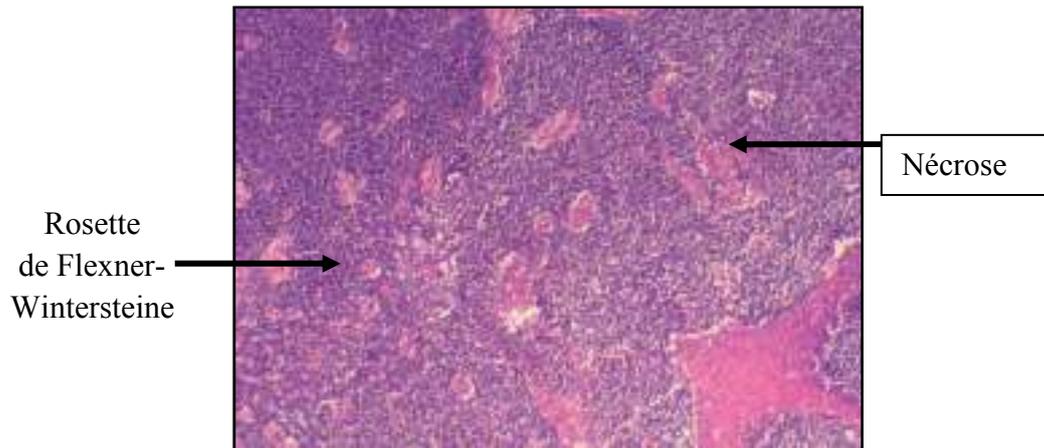


Figure39 : RB richement vascularisé Présence d'un foyer de
nécrose en bas, à droite .HEX250

Chapitre3 : Résultats

Etude des facteurs histopronostiques

Les facteurs de risque histologiques sont définis comme suit :

Risque Elevé

- Envahissement tranche de section du nerf optique et/ ou des gaines méningées
- Envahissement microscopique extra scléral

Risque Moyen

- Envahissement rétrolaminaire du nerf optique et/ou envahissement choroïdien massif (+ corps ciliaires et iris)
- Envahissement de la chambre antérieure

Risque Faible

- Envahissement choroïdien minime ou absent et/ ou envahissement pré laminaire ou absent du nerf optique (tableau18, figure 40)

Facteur de risque Histologique	N CAS	%
Faible Risque	23	48
Risque Intermédiaire	21	44
Haut Risque	4	8
Total	48	

Tableau18 : Facteurs de risque histologiques.

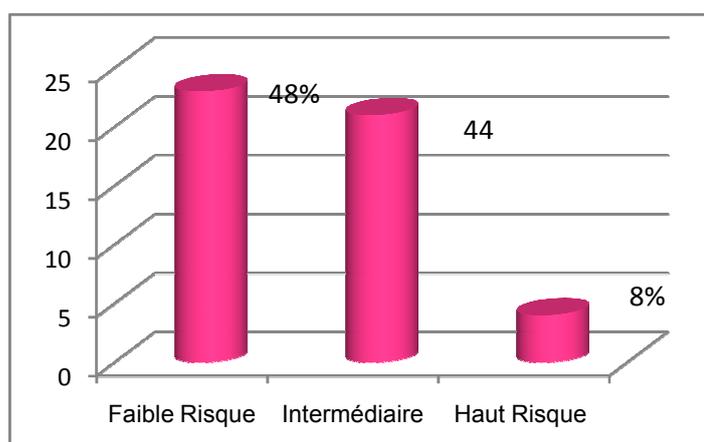


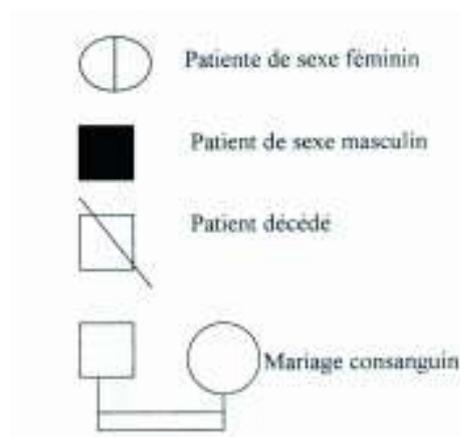
Figure40: Facteurs de risque histologiques.

Chapitre3 : Résultats

23 patients (48%) sont classés dans le groupe à faible risque, 21 cas (44%) sont classés dans le groupe de risque intermédiaire, enfin 4 patients (8%) dans les hauts risques

5. Etude génétique

Etude des arbres généalogiques dans les cas familiaux



5.1. Famille L.... (A)

- Mère énuclée de l'œil gauche dans l'enfance, avec des lésions régressives au niveau de l'œil droit.
- Deux fillettes décédées d'un RBB chacune.
- Un Fils RBB dont la fille RBB (Née en 1999) présente un RBB (figure41).

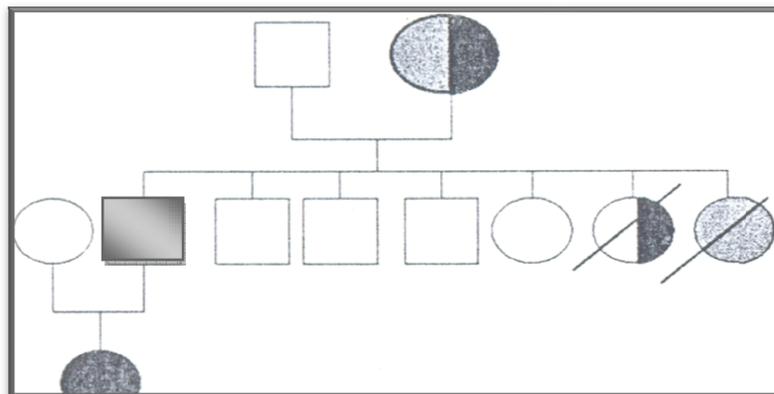


Figure41: Arbre généalogique de la famille A.

5.2. Famille F...(B)

- Les deux parents sont sains.
- Une fille RBB.
- 2ème fille RBU avec un gros risque de bilatéralisation (figure 42).

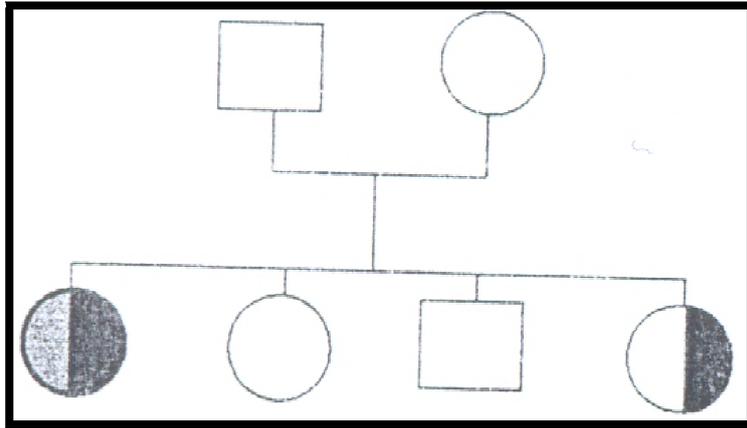


Figure42: Arbre généalogique de la famille B.

5.3. Famille A.... (C)

- Mère énuclée œil droit dans l'enfance.
- fils énuclée œil droit (figure43).

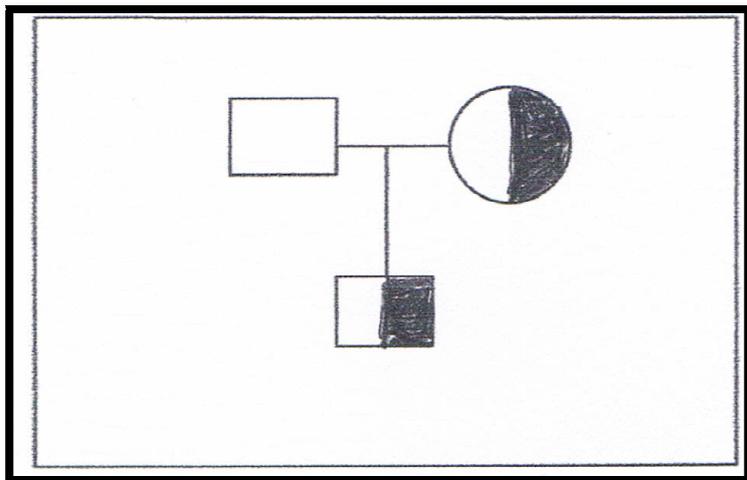


Figure43: Arbre généalogique de la famille C.

Consanguinité

Le renseignement concernant la consanguinité n'a pas été précisé dans tous les cas.

Mode de transmission du RB dans les formes familiales

Les lésions retrouvées chez les parents sont :

- Des lésions régressives (1 cas) : Il s'agit d'une masse résiduelle complètement fragmentée donnant l'aspect de " fromage caillé " ou " cottage cheese " des anglo saxons (fromage de campagne)
- Une énucléation dans l'enfance chez la mère (2 cas).
- Aucune lésion ophtalmique des parents (1cas)

L'examen ophtalmologique des parents a permis de révéler :

Transmission par le père dans 5 familles

Transmission par la mère dans 4 familles

- Pour 1 famille, le mode de transmission n'a pas pu être précisé.

Chapitre4 : Discussion

Notre étude descriptive a pour but d'évaluer les diverses variables de notre population : les caractéristiques de la tumeur, puis les facteurs histopronostiques classiques.

Elle consiste en une réévaluation de 48 cas de rétinoblastomes colligés dans le service de Pathologie du CHU Mustapha sur une période de 3 ans (2011-2013) ; il s'agit d'une étude rétrospective et prospective (01/2014 à 07/2014).

Le nombre de rétinoblastome augmente en fonction des années. Le nombre de cas annuellement diagnostiqué est le suivant : 7 cas en 2011, 10 cas en 2012 et 20 en 2013

Les patients sont de sexe masculin dans 25 cas (52%) et féminin dans 23 cas (48%) ; il y a presque autant de sexe masculin que de féminin, le sex ratio M/F est (1,08).

Dans la littérature ces données varient en fonction des séries. Au Mali, selon Sidibe H. (2009), l'incidence du rétinoblastome est plus élevée chez le garçon que chez la fillette. Aux Etats-Unis, l'incidence est similaire pour les deux sexes El-Hachem C. (2008). A.S. Ka, avait trouvé une prédominance masculine nette (sex ratio à 2,2). Nos résultats concordent avec ceux de Kargougou qui trouvait une prédominance du sexe masculin (sex ratio à 1,4). Ces résultats rejoignent les données de la littérature (Sidibe 2009)

L'âge de nos patients varie de 30 jours à 5 ans. La tranche d'âge la plus touchée se situe entre 1 et 2 ans. Elle représente 40% des cas de notre échantillon. Dans notre série, la moyenne d'âge des patients est environ 3 ans, un âge relativement proche à celui estimé dans d'autres pays tels que la France Aerts I. (2009) et inférieur à celui de Mali Sidibe H. (2009) : La tranche d'âge comprise entre 2-5 ans était la plus touchée, soit 69,1% des cas. L'âge moyen était de 4,22, avec des extrêmes de 1 mois et 5 ans.

Delage cependant dans son étude sur 20 rétinoblastomes n'a diagnostiqué aucun cas après 5 ans, résultat qui confirme les données connues soit 50% avant 2 ans, 75% avant 3 ans, et 92% avant 6 ans. Ce fait est dû en effet, à la précocité du diagnostic dans les pays développés. (Delage 1993)

L'âge moyen est de 36 mois pour Hassan (1992) en Egypte et Kaye (1989), au Congo, 38 mois pour Daghfous en Tunisie (1986) et 48 mois pour Zomahoun (1992) en Côte d'Ivoire. Par contre en France l'âge moyen de diagnostic est plus précoce.

Chapitre4 : Discussion

Arne(1991), Zucker(1993) et Haye (1987), rapportent sur une série de 82 cas, respectivement un âge moyen de diagnostic de 18, 24, et 25mois.

42 mois pour Kagmeni (2013), selon Traore et al au Mali (2013), elle est de 48 mois. Par contre Aziz (2012) aux États Unis rapporstent que 79% de leurs patients étaient diagnostiqués avant l'âge de six mois

Il en résulte que les enfants sont vus à un âge plus tardif en Afrique. Ce qui contribue a l'évolution fatale de la maladie.

Dans notre étude, l'unilatéralité prédominait (92%). Les cas bilatéraux au nombre de 4 représentent 8%.Le résultat que nous avons obtenu se rapproche de celui d'I.Aerts (2009) qui avait trouvé 80% des cas unilatéraux. La prédominance de l'atteinte unilatérale a été aussi rapportée par Kagmeni et al(2013)

Nos résultats sont légèrement supérieurs à ceux de l'étude de C.Doutetien, qui avait trouvé 62,5% de forme unilatérales (Doutetien1999).

La tranche d'âge la plus touchée se situe entre 1 – 2 ans pour les formes unilatérales, et 2 -3ans pour les cas bilatéraux.

Parmi les 44 cas unilatéraux, l'œil gauche est atteint dans24cas (54%), l'œil droit est atteint dans 20 cas (46%).

Nos résultats avec une localisation fréquente dans l'œil gauche sont également retrouvées dans d'autres études, notamment des études maliennes telles que H.Sidibe (2009) qui trouve un pourcentage de 49,1% de cas.

Le signe d'appel clinique prédominant est la leucocorie pour tous les patients. Ce signe est associé à un strabisme dans 2 cas. Le rétinoblastome est découvert dans notre série pour tous les cas aux stades, stade V selon la classification de Reese Ellsworth .Ces résultats rejoignent les données de la littérature (Sidibe2009) avec 95 ,7% des cas, la leucocorie était le signe d'appel le plus fréquent dans l'étude de Kagmeni et al(2013)Dans une étude menée par Doutetien C. au C.N.H.U de Cotonou, les tade V de Reese Ellsworth était le plus rencontré, soit 63,6% des cas.(Doutetien1999)L'exophtalmie était la plus fréquemment rencontrée, soit 54,5% des cas ; suivie de la leucocorie (38,2%), du strabisme (5,5%). Pour N.OussediK, la leucocorie est le signe le plus fréquent avec 68% des cas. (Oussedik2002)

Par contre l'exophtalmie a été le signe d'appel le plus fréquent (1/2 cas) dans une étude menée par A.S.Ka, au Sénégal.(A.S.Ka)

Chapitre4 : Discussion

La présentation tardive des enfants africains à la consultation à un stade évolué de la maladie est due à l'ignorance des parents vis-à-vis des premiers signes cliniques du rétinoblastome.

C'est après l'échec d'un traitement traditionnel (au long cours et onéreux) que les patients sont dirigés vers une structure sanitaire. Ils sont vus dans une structure spécialisée à un stade tardif de la maladie.

Dans la majorité des cas le globe oculaire est habituellement de taille normale (2,5cm de grand axe). La taille du nerf optique se situe entre [0,5-1] cm. La taille tumorale est inférieure à 1cm

Une coupe sagittale passant par la papille nous a permis de localiser la tumeur par rapport aux différentes tuniques et au nerf optique. Il y a 20 cas d'atteinte massive de la choroïde (42%). L'envahissement de la choroïde même minime a pu être décrit comme exposant à un haut risque de récurrence alors que, pour d'autres auteurs, un envahissement choroïdien même massif ne doit pas faire indiquer de traitement adjuvants. De plus, la définition et la quantification de l'envahissement choroïdien difficilement reproductibles d'une étude à l'autre.

L'atteinte sclérale est notée dans 6 cas. Il y a un cas d'atteinte extrasclérale(2%)

La diffusion extraoculaire est le plus mauvais facteur pronostique pour la survie du rétinoblastome. Elle est associée à une 10 fois plus grand risque de métastase comparé aux tumeurs confinées intraoculaires et porte une mortalité de 90% dans un délai de deux ans des diagnostics. C'est une indication pour la chimiothérapie adjuvante. En l'absence d'un diagnostic et d'un traitement précoce.

Le terme « rétinoblastome extraoculaire » comprend habituellement les atteintes tumorales orbitaires, les extensions ganglionnaires régionales prétragiennes et cervicales ainsi que les atteintes métastatiques. Les sites métastatiques les plus fréquents sont l'os, la moelle osseuse et le système nerveux central.

Dans notre série, il y a 13 cas d'atteinte de nerf optique, dont 7 cas d'invasion prélaminaire, 3 cas d'invasion rétrolaminaire, et 3 cas d'invasion de tranche de section. L'envahissement de la portion rétrolaminaire du nerf optique est considéré comme un facteur de risque de métastase par la plupart des auteurs. Il faut noter que l'ensemble des auteurs signale que l'association d'un envahissement choroïdien et d'un

Chapitre4 : Discussion

envahissement rétrolaminaire du nerf optique constitue incontestablement un facteur de risque (il y a 2cas dans notre étude)

Dans notre série, le groupe des patients à faible risque est le plus important,(48%).

Après revue centralisée anatomopathologique de la pièce opératoire, 23 patients(48%) étaient dans le groupe de bas risque (absence de facteur de risque histologique), 21patients (44%) dans le groupe de risque intermédiaire (envahissement choroïdien profond), et 4 cas (8%) dans le groupe de risque élevé haut risque(extension extra sclérale) et 3 patients ont des envahissements dans la tranche de section de nerf optique.

Dans une étude menée par Kagmeni et al(2013), 28 patients avaient une invasion locorégionale 24 (85,7%) avaient une invasion du nerf optique, 4 une invasion scléro-orbitaire (14,3%).

Dans les pays économiquement développés, le risque d'atteinte extraoculaire est devenu très faible grâce à un diagnostic plus précoce et à la stratégie des traitements adjuvants adaptés aux critères de risque histologique, et le pronostic vital n'est plus guère menacé que par la survenue, dans les formes héréditaires, d'autres cancers de pronostic très sombre (Aerts 2006) dont l'incidence devrait diminuer avec la réduction des indications d'irradiation.

Dans notre étude les formes intraoculaires étaient majoritaires (98%). Ce résultat rejoint les données de la littérature (H.Sidibe2009) avec 94 ,5% des cas.

Il y'a un cas de rétinoblastome multifocal retrouvé dans notre étude.

Dans notre série, 10 RB étaient bien différenciés (24%),15 étaient moyennement différencié (36%), et 17 peu différenciés (40%).

Le rétinoblastome est dit bien différencié lorsqu'il présente plus que 80% des rosettes, moyennement différencié (entre 20 et 80% de rosettes) et peu différencié (< 20% de rosettes).

Dans l'étude rétrospective il y a 2 cas familiaux colligés durant l'année 2000 et le deuxième durant l'année 2001. Ces deux patients ont une antécédente familial.

Et dans l'étude prospective il y a un cas avec un antécédent familial

Lorsqu'il existe un antécédent connu dans la famille, on parle de forme familiale de rétinoblastome. L'altération, une mutation constitutionnelle du gène *RBI* présente

Chapitre4 : Discussion

chez l'un des parents, est transmise à la descendance dans un cas sur deux. Les enfants qui en héritent ont un risque majeur de développer un rétinoblastome.

De façon paradoxale, les tumeurs liées à une prédisposition génétique sont le plus souvent sans antécédent familial (la mutation du gène *RBI* n'est pas préexistante chez l'un des parents). En effet, c'est au moment de la formation des gamètes (ovules ou spermatozoïdes) ou au début du développement de l'embryon que se produit une première mutation d'un exemplaire du gène *RBI*. Toutes les cellules de l'organisme de l'enfant sont touchées et l'altération devient héréditaire, transmissible à la génération suivante. L'enfant porteur de cette mutation aura un risque sur deux de le transmettre à chacun de ses enfants.

Dans toutes les formes liées à une prédisposition génétique, l'inactivation de la deuxième copie du gène *RBI* apparaît au cours des premiers mois de la vie de l'enfant.

Conclusion

L'objectif de notre travail a été atteint d'une part pour la recherche des facteurs histopronostiques du rétinoblastome, d'autre part pour la recherche des cas familiaux atteints du rétinoblastome.

Notre étude de 48 cas de rétinoblastomes a montré des résultats proches à la plupart des études rapportées dans la littérature.

La tranche d'âge la plus vulnérable est celle de [1-2] ans, soit 40% avec une moyenne de 3 ans. Le sexe masculin était prédominant avec un sex-ratio M/F de 1,08 en faveur des garçons. L'unilatéralité prédominait (92%) sont étendus au diagnostic (Groupe V de Reese). Le signe d'appel clinique prédominant est la leucocorie pour tous les patients.

L'étude descriptive a pour but d'évaluer les diverses variables de notre population : les caractéristiques de la tumeur, puis les facteurs histopronostiques classiques et elle a pour but de préciser l'extension locorégionale. Après revue centralisée anatomopathologique de la pièce opératoire, 30 (62%) patients étaient dans le groupe de bas risque, 20(43,5%) patients dans le groupe de risque intermédiaire (envahissement choroïdien profond), et 3 atteintes rétrolaminaires du nerf optique et 1 dans le groupe de risque élevé (extension extra sclérale) et 3 patients ont des envahissements dans la tranche de section de nerf optique. Les formes localisées étaient majoritaires avec 98% des cas. Le rôle du pathologiste est essentiel dans l'évaluation de l'extension anatomique du RB et de la qualité de l'exérèse chirurgicale mais également dans la reconnaissance des facteurs de risque histologiques indispensables pour l'indication de traitements adjuvants et la mise en place d'une surveillance adaptée.

Dans 40% des cas, il s'agit d'une forme héréditaire. Il est donc primordial, lorsqu'on fait le diagnostic de rétinoblastome chez un enfant, d'interroger et d'examiner sa famille, puis de l'orienter vers un conseil génétique spécialisé qui tentera, grâce à une enquête familiale poussée, et à l'aide de techniques de biologie moléculaire, d'estimer les risques que d'autres membres de la famille soient transmetteurs de la mutation constitutionnelle et que d'autres enfants soient atteints.

Conclusion

En effet, l'enquête familiale permet, dans les formes héréditaires, de dépister précocement des rétinoblastomes pré symptomatiques peu évolués et donc accessibles à un traitement conservateur.

Elle autorise en outre l'identification à l'aide des techniques de biologie moléculaire des sujets susceptibles de développer un rétinoblastome et de transmettre à la descendance cette prédisposition. Il sera proposé à ces personnes à risque une surveillance ophtalmologique dépassant la période de différenciation rétinienne (il existe en effet des formes à révélation tardive, 10% des rétinoblastomes étant diagnostiqués après 5 ans).

La consultation de génétique se fait en très étroite collaboration avec les équipes cliniques. Elle a pour objectif :

- de répondre aux questions portant sur les divers risques – modalités de transmission d'une prédisposition, naissance d'un autre enfant atteint, survenue d'un second cancer
- et de guider le suivi des enfants à risque.

Le généticien s'appuie sur les tests moléculaires, orientés par l'analyse de l'histoire personnelle et familiale de l'enfant atteint, sans omettre l'examen du fond d'œil des parents et de la fratrie à la recherche de rétinomes, lésions tumorales ayant spontanément involué. Les formes multifocales de rétinoblastome sans histoire familiale sont liées, dans la majorité des cas, à une néo mutation apparue dans les gamètes de l'un des deux parents.

Référence

Aerts, I ., Pacquement, H., Doz, F., Mosseri , V ., Desjardins, L ., Sastre, X ., 2004 - Outcome of second malignancies after retinoblastoma: a retrospective analysis of 25 patients treated at the Institut Curie. *Eur J Cancer*. p(40-1522)

Aerts, I ., Lumbroso-Le Rouic, M ., Gauthier-Villars, H ., Brisse, 2006 - Retinoblastoma. *Orphanet J Rare Dis* .P(1: 31).

Albrecht, P., Ansperger-Rescher, A ., Schuler, M., Zeschnigk., 2005 -Spectrum of gross deletions and insertions in the RB1 gene in patients with retinoblastoma and association with phenotypic expression. *Hum Mutat*.p (437-445).

Alonso, J., Garcia-Miguel, J., Abelairas, M., Mendiola.,2001- Spectrum of germline RB1 gene mutations in Spanish retinoblastoma patients: Phenotypic and molecular epidemiological implications. *Hum Mutat*. p(412-422).

Arne, J., 1991-Retinoblastome la clin. *Ophtalmol*.p(107-113).

A.S.Ka, Imbert, P., Morevia, C., Niang, A., Banjant, G., Seye, M., Guyon. P.2003-Retinoblastome. p (521-526)

Brooks, C., Li and, W., Gu .2007-Mechanistic studies of MDM2-mediated ubiquitination in p53 regulation.. *J BiolChem* . p(22804-22815).

Cartegni, L., Chew. L., Krainer, R., 2002-Listening to silence and understanding nonsense: exonic mutations that affect splicing. *Nat Rev Genet*. p (285-298)

Cassoux, N., Lorrain. 2013-Traitement intra-vitréen par injection de Melphalan . J national institue Curie.

Castera, L., Dehainault, C., Michaux, D., Lumbroso-Le Rouic, L., 2012-Fine mapping of whole RB1 gene deletions in retinoblastoma patients confirms PCDH8 as a candidate gene for psychomotor delay . *Eur J Hum Genet*: accepté pour publication le 17th Jul 2012.

Référence

Castera, L.,2012 - Etude des relations génotypes/ phénotypes dans le rétinoblastome ». J national cancer institute.

Chen, H., Tsai, Y., Leone, G., 2009 -Emerging roles of E2Fs in cancer: an exit from cell cycle control. Nat Rev Cancer .p (785-797).

Classon, M., Harlow, E., 2002-The retinoblastoma tumour suppressor in development and cancer. Nat Rev Cancer. P(910-917).

Cowell, J., Bia, B., Akoulitchev, A., 1996-A novel mutation in the promotor region in a family with a mild form of retinoblastoma indicates the location of a new regulatory domain for the RB1 gene. Oncogene. p (431-436).

Daghfous, M., Trikif, T., Matril, Ayeds, 1986-Retinoblastome et heredite.Bull societpanafr. Ophthalmol. p (10, 31-37).

Delage, S., Grange, J.,1993-Analyse rétrospective de 20 cas rétinoblastomes. Bull.Soc. Opht.France. p(8-9, 735-44).

Desjardins, L., Couturier, J., Doz, F., Gauthiers-Vilars, M., Sastre X., 2004-Tumeurs de la rétine .Encyclopédie Médico-Chirurgicale . p(21-249-A-30).

Dimaras, H., Kimani, K., E., Dimba, A., Gronsdahl, P., 2012-Retinoblastoma.Lancet. p (1436-1446).

Doutetien, C., Oussa, G., Babagbeto, M., Bassabi, S.K., 1999-Le rétinoblastome au C.N.H.U de Cotonou (a propos de 24 cas).Le Benin Medical .p106

Du, W., Searle, J., S., 2009-The rb pathway and cancer therapeutics. Curr Drug Targets. p (581-589).

Référence

Giustrantid, C., 2010-Découverte du premier gene “accelerator” de développement tumoral. institue curie.

Gruyter, Backhaus, Kliegl et Werner, 1998-Color vision, perspectives from different disciplines. p5115-116).

Harbour, J., 2001-Molecular basis of low-penetrance retinoblastoma. Arch Ophthalmol. P(1699-1704).

Haye, C., Desjardins, L., Schlienger, P., Zucker, J., Laurent, M .,1987-Retinoblastomes bilatéraux stade V a l’institut curie (a propos de 33 cas) ophtalmol. P (2, 235-237) .

Hassan, S.A, Massoud, A.A, Hussain, G.H, 1992-Retinoblastome in upper Egypt (1981-1991)Sandi j ophthalmol. p(32-38).

Houdayer, C., Dehainault C., Mattler, C., Michaux, D., 2008-Evaluation of in silico splice tools for decision-making in molecular diagnosis. Hum Mutat . p (975-982).

Houdayer, C., Gauthier-Villars, M. Lauge, A., Pages-Berhouet, S., 2004 -Comprehensive screening for constitutional RB1 mutations by DHPLC and QMPSF. Hum Mutat.p (193-202).

Inacio, A. A. L., Silva, J., Pinto, X. Ji, 2004-Nonsense mutations in close proximity to the initiation codon fail to trigger full nonsense-mediated mRNA decay. J BiolChem. p (32170-32180).

Kagmeni, G., Nguéfack, F., Monebenimp, F., KouogangG,Ngounou, F., KengneKamg, S., Moukouri, E., 2013-Le Rétinoblastome dans la Région de l’Ouest Cameroun : Aspects Cliniques, Histologiques et Thérapeutiques.

Kaya, Gambe C., Agolet. Botakale, E., Ndamba, G., 1989-Recrudescence saisonniere du retinoblastome au Congo (a propos de34 cas).Bull. Societ. Panafr, ophtalmol. P (25-31)..

Référence

Laurie, N., A., S. L. Donovan, C., S., Shih, J., Zhang, 2006-Inactivation of the p53 pathway in retinoblastoma. *Nature*. P(61-66).

Lohmann, D., R., Gallie, B., L., 2004-Retinoblastoma: revisiting the model prototype of inherited cancer. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. p (23-28).

Mitter, D., Rushlow, D., Nowak, I., Ansperger-Rescher, B., 2009-Identification of a mutation in exon 27 of the RB1 gene associated with incomplete penetrance retinoblastoma. *Fam Cancer*. p (55-58).

Morris, J. A., 1990-Spontaneous mutation rate in retinoblastoma. *J ClinPathol*. P (496-498).

Onadim, Z., Hogg, A., Baird, P. N., Cowell, J. K., 1992-Oncogenic point mutations in exon 20 of the RB1 gene in families showing incomplete penetrance and mild expression of the retinoblastoma phenotype. *ProcNatlAcadSci U S A*. P (6177-6181).

Otterson, G., Chen, A., W., Coxon, A. B., Khleif, S. N., 1997-Incomplete penetrance of familial retinoblastoma linked to germ-line mutations that result in partial loss of RB function. *ProcNatlAcadSci U S A*. p (12036-12040).

Ozisik, G., G. Mantovani, J. C. Achermann, L. Persani, 2003-An alternate translation initiation site circumvents an amino-terminal DAX1 nonsense mutation leading to a mild form of X-linked adrenal hypoplasia congenita. *J Clin EndocrinolMetab*.p(417-423).

Oussedik. N., Chemri, N., Gachiz, El Haffaf, F., 2002-Epidemiologie du retinoblastome à Alger. *Bull soc.pathol, Exot*. p(115-120).

Phelps, W. C., K. Munger, C. L., Yee, J. A., Barnes, 1992-Structure-function analysis of the human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein. P(2418-2427).

Référence

Richter, S., Vandezande, K., Chen, N., Zhang, K.,2003-Sensitive and efficient detection of RB1 gene mutations enhances care for families with retinoblastoma. *Am J Hum Genet.* p (253-269).

Sakai, T., Ohtani, N., McGee, T. L., Robbins, P. D.,1991-Oncogenic germline mutations in Sp1 and ATF sites in the human retinoblastoma gene. *Nature.* P (83-86).

Sanchez-Sanchez, F., Ramirez-Castillejo, C., Weekes, D. B., Beneyto, M., 2007-Attenuation of disease phenotype through alternative translation initiation in low-penetrance retinoblastoma. *Hum Mutat.* P (159-167).

(S.A.O.P Janvier 2002)

Sdibe, H., 2009-etude des aspects épidémio-cliniques du rétinoblastome dans le service de pédiatrie du CHU Gabriel Toure

Taylor, M., Dehainault, C., Desjardins, L., Doz, F., 2007-Genotype-phenotype correlations in hereditary familial retinoblastoma. *Hum Mutat.* P (284-293).

Thienpont, B., Vermeesch, J. R., Fryns, J. P., 2005-25 Mb deletion of 13q13.3-->q21.31 in a patient without retinoblastoma. *Eur J Med Genet.* p(363-366).

Toguchida, J., McGee, T. L., Paterson, J. C., Eagle, J. R., 1993-Complete genomic sequence of the human retinoblastoma susceptibility gene. *Genomics.* P (535-543).

Traore, F., Togo, B., Sylla, F., Cheick, TB., Diakité, AA., Dicko-Traore, F., Sylla, M., Sidibé, T., Doz, F., Harif, M., Bey, P., Desjardins, L.,2013- Retinoblastoma: inventory in Mali and program to develop early diagnosis, treatments and rehabilitation: *Bull . Cancer.*p(165-5).

Référence

Zhang, K., Nowak, I., Rushlow, D., Gallie, B. L., 2008-Patterns of missplicing caused by RB1 gene mutations in patients with retinoblastoma and association with phenotypic expression. Hum Mutat.P (475-484).

Zomahoun, B.,1992-Contribution a l'étude du rétinoblastome dans les services d'ophtalmologie du C.H.U de cocody (a propos de 19 cas). Mem. CES ophtalmol. p 70.

Zucker, J.M., 1993-Retinoblastome. Rev.prat (Paris).p (43; 17, 2204-2207).

..

Zhu, L., 2005-Tumour suppressor retinoblastoma protein Rb: a transcriptional regulator. Eur J Cancer .p (2415-2427).

.

Annexe

Groupe I

- a) tumeur unique, < 4 mm de diamètre, sur ou derrière l'équateur
- b) tumeurs multiples, >4 mm de diamètre, sur ou derrière l'équateur

Groupe II

- a) tumeur unique, 4–10 mm de diamètre, sur ou derrière l'équateur
- b) tumeurs multiples, 4–10 mm de diamètre, derrière l'équateur

Groupe III

- a) toute lésion antérieure à l'équateur
- b) tumeur unique >10 mm de diamètre derrière l'équateur

Groupe V

- a) tumeur massive s'étendant à plus de la moitié de la rétine
- b) dissémination vitrénne

Annexe1: classification de ReeseEllworth

Groupe A: petites tumeurs loin de la fovéa et du disque optique

- tumeurs <3 mm confinées à la rétine
- localisées à au moins 3 mm de la fovéa et 1,5mm du disque optique

Groupe B: Toutes les tumeurs restantes limitées la rétine

- Toutes les autres tumeurs limitées à la rétine et non inclus dans le groupe A
- décollement séreux rétinien (sans prolifération sous rétinienne) < 3 mm de la base de la tumeur

Groupe C: prolifération locale dans les fluides sous-rétiens ou dans la vitrée

- décollement séreux rétinien seul >3 mm and < 6 mm de la tumeur
- prolifération vitrénne ou sous-rétiens à < 3 mm de la tumeur

Groupe D: fluide sous rétinien diffus ou prolifération

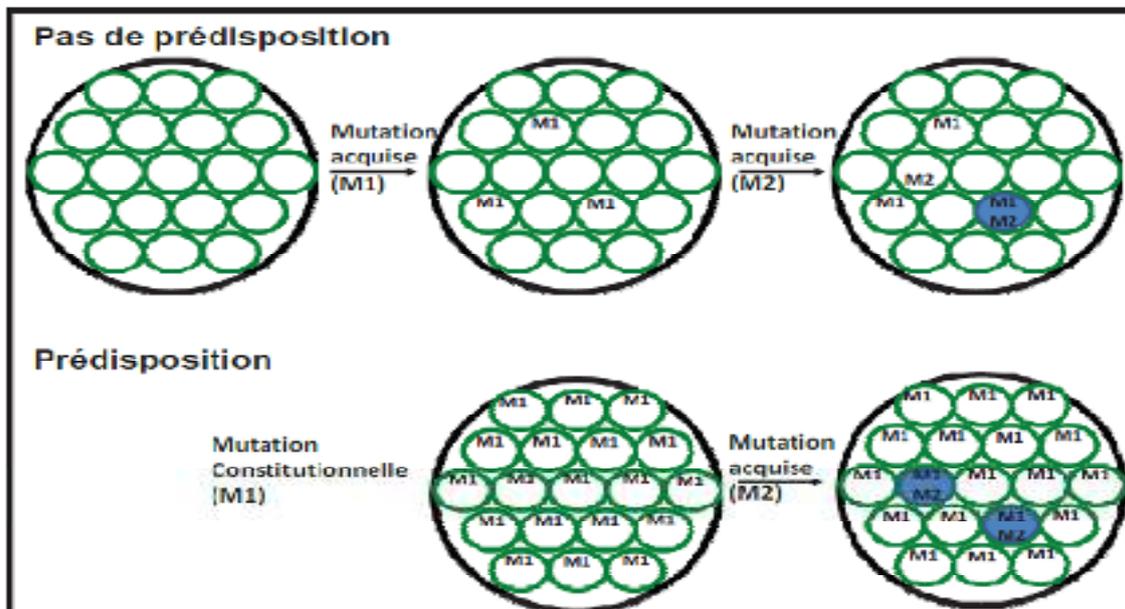
- fluide sous rétinien > 6 mm de la tumeur
- prolifération vitrénne ou sous-rétiens à > 3 mm de la tumeur

Annexe

Groupe E: présence d'au moins un ou plusieurs marqueurs de mauvais pronostic pour la conservation oculaire

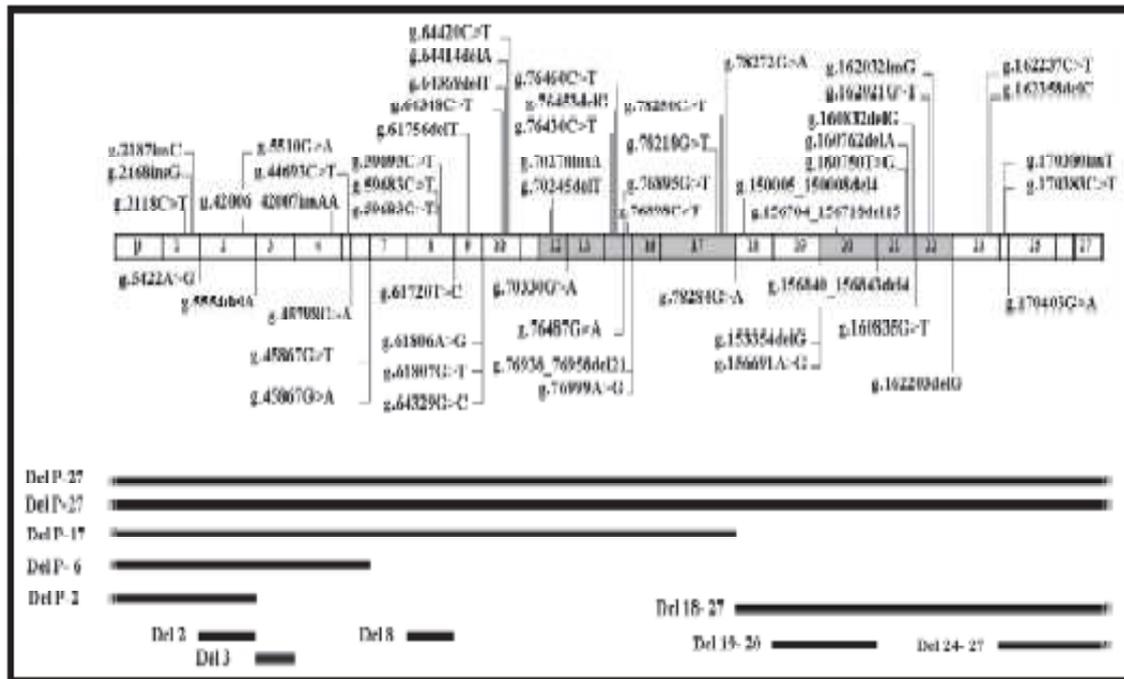
- Plus des 2/3 du globe sont infiltrés par la tumeur
- Tumeur dans le segment antérieur ou antérieur à la vitrée
- tumeur dans ou sur le corps ciliaire
- Néovascularisation de l'Iris
- Glaucome néovasculaire
- Plage opaque hémorragique intravitréenne
- Tumeur nécrotique avec une cellulite orbitale aseptique
- phtisie du globe

Annexe2: classification ABC



Annexe 3 : Modèle de Knudson et Comings Ici sont schématisés des rétines (grands cercles) et des cellules rétinienne (petits cercles). Les tissus prédisposés portent la première mutation (M1) inactivant le premier allèle dans toutes les cellules. L'apparition d'une deuxième mutation (M2) inactivant le deuxième allèle d'un gène suppresseur de tumeur initie le développement d'un rétinoblastome (cercle bleu).

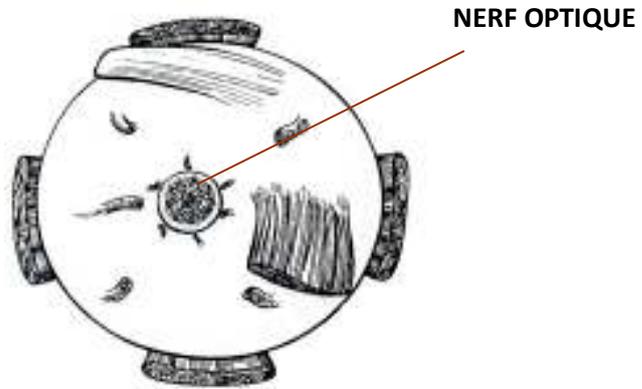
Annexe



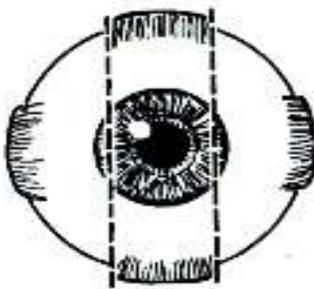
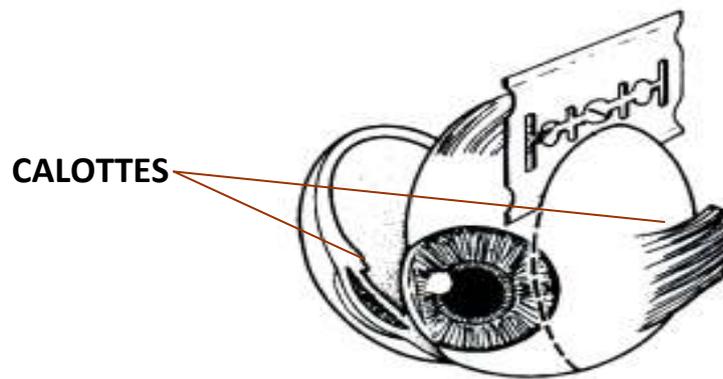
Annexe 4 : Mutations mise en évidence dans une série de 192 patients atteint de rétinoblastome (adaptée de (Houdayer, 2004)). Les exons de *RB1* sont représentés numérotés. Les exons en gris codent pour les domaines pocket A et B. Les grandes délétions sont représentées par des lignes noires

Annexe

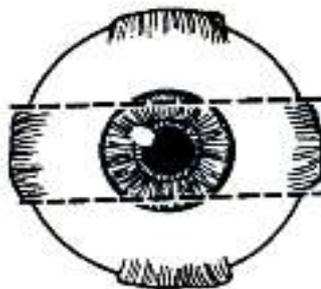
Annexe 5 : Protocole d'étude des pièces opératoires de patients atteints de RB



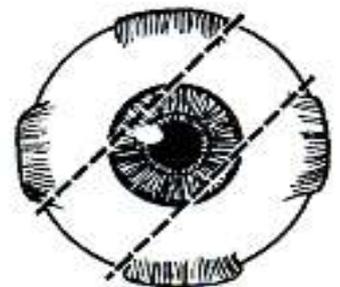
FACE POSTERIEURE DU GLOBE OCULAIRE



VERTICALE



HORIZONTALE



OBLIQUE

Annexe

Annexe 6_: Annexe descriptive de l'appareillage utilisé :

1) Appareil à circulation (circulateur)

Le circulateur est un automate qui comporte douze bacs de compositions différentes organisées comme indiqué dans le tableau ci-dessous

Pourcentage d'alcool (%)	Alcool	Eau distillé
1 bac à 50%	700 ml	700 ml
1 bac à 70%	1000 ml	480 ml
1 bac à 96%	1400 ml	112 ml
	3 bacs d'alcool absolu 100%	
	3 bacs de Xylène	
	2 bacs de paraffine	

Tableau représentatif de l'organisation et la contenance des bacs du circulateur

2) Appareil à enrobage

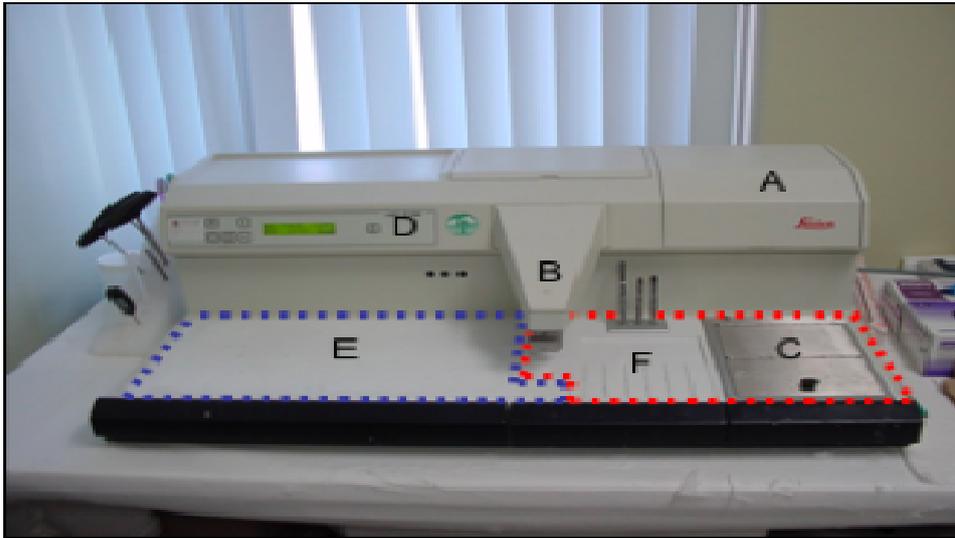
L'appareil à enrobage est une machine programmable qui permet l'inclusion des tissus biologiques dans la paraffine.

Il peut être subdivisé en deux parties :

*Une partie chaude dont fait partie le réservoir à paraffine (chauffé à 60C°) de lequel on place les cassettes avant l'enrobage, le bac à moules, le distributeur de paraffine et une partie de la surface de travail permettant le maintien de la paraffine sous forme liquide facilitant ainsi la manipulation et l'orientation de l'échantillon

Annexe

*Une partie froide représentée par le reste de la surface de travail, elle permet la solidification de la paraffine et donc la formation d'un bloc.



A : compartiment réchauffé pour les moules métalliques; B : distributeur de paraffine liquide; C : bain tempéré de paraffine pour maintenir les échantillons; D : console pour la programmation de l'appareil (temps, température); E : surface de refroidissement (pointillé bleu); F : surface de travail tempérée (pointillé rouge)

Microtome

Le microtome est un appareil employé pour obtenir des coupes très fines de tissus biologiques insérés dans une cassette de paraffine, ce qui permet de monter des lames pour en faire l'examen à la microscopie

Il est constitué de :

- *Un support de bloc de paraffine
- *Une lame tranchante portée par une plaque métallique
- *Une manivelle qui par un mouvement rotatoire, entraîne le processus de coupe

Coloration HE

Annexe



Annexe 7 : Plaque_chauffante



Annexe8 : étuve

Annexe_9 : Techniques de colorations histologiques

Coloration histologique à l' Hématéïne – Eosine (HE)

- **principe :**

Coloration alliant une laque nucléaire (Hématoxyline basique) et un colorant cytoplasmique (Erythroisine acide).

Annexe

- **Méthode :**

1. Déparaffiner et hydrater les coupes à l'eau du robinet
2. Colorer avec l'Hématéine de Harris pendant 15 minutes
3. Rincer (eau courante puis différenciation à l'alcool chlorhydrique eau courante, puis carbonate de lithium et rinçage de nouveau à l'eau courante pendant 2 à 3 minutes)
4. Erythrosine à 2% pendant 2 minutes
5. Rincer à l'eau courante
6. Passage dans trois bains d'alcool de concentration croissante (70° ; 96° absolu et dans un bain de xylène)
7. Montage

- **Résultats :**

Noyau → Basophile
Cytoplasme → Acidophile

Annexe 10,11: facteurs de risque histologique dans la série globale"

Chapitre 2 : Matériel Et Méthodes

Chapitre 1 : Généralités

Chapitre 3 : Résultats

Chapitre 4 : Discussions

Annexes

ANNEXES

Numéro	sexe	Age	sclère	choroïde	Nerf Optique	Chambre Antérieure	Peu ou indifférencié	Bien différencié	moyennement différencié	Facteurs de Risque histologiques
11604/11	M	1 an	-	+	-	-	-	+	-	Intermédiaire
12702/11	M	20 mois	-	+	-	-	-	+	-	Intermédiaire
11638/11	F	1 an	-	+	-	-	-	-	+	Intermédiaire
6128/11	F	3 mois	-	+	prélaminaire	-	-	+	-	Intermédiaire
10849/11	M	6 mois	-	-	-	-	-	+	-	Intermédiaire
9658/11	F	1 an	-	+	rérolaminaire	-	+	-	-	Intermédiaire
9775/11	F	5 ans	+	-	prélaminaire	-	-	-	+	Intermédiaire

Tableau : Facteurs de Risque histologiques en fonction du recrutement par année , de l'atteinte des tuniques oculaires et du nerf optique

Numéro	sexe	Age	sclère	choroïde	Nerf Optique	Chambre Antérieure	Peu ou indifférencié	Bien différencié	moyennement différencié	Facteurs de Risque histologiques
15121/12	F	1 an	-	-	-	-	-	-	+	Faible
632/12	M	2ans	-	-	-	-	-	-	+	Faible
4099/12	M	5ans	-	+	-	-	-	+	-	Intermédiaire
2513/12	F	1an	+	+	rérolaminaire	-	+	-	-	Intermédiaire
12938/12	M	9 mois	-	+	-	-	-	-	+	Intermédiaire
13459/12	M	1 an	-	-	-	-	-	-	+	Faible
13572/12	M	1an	-	-	-	-	+	-	-	Faible
14801/12	M	1an	+	+	-	-	+	-	-	Intermédiaire
9083/12	F	1 an	-	+	-	-	+	-	-	Intermédiaire
632/12	M	2 ans	-	-	-	-	-	+	-	Faible

ANNEXES

Numéro	sexe	Age	sclère	choroïde	Nerf Optique	Chambre Antérieure	Peu ou indifférencié	Bien différencié	moyennement différencié	Facteurs de Risque histologiques
2475/13	F	8mois	-	-	prélaminaire	-	-	-	+	Faible
3671/13	M	1an	-	-	-	-	+	-	-	Faible
2863/13	F	2ans	-	-	rétrolaminaire	+	+	-	-	Intermédiaire
3988/13	M	1an	-	-	-	-	-	-	+	Faible
5170/13	F	2ans	-	-	-	-	+	-	-	Faible
5916/13	F	19 mois	-	+	-	-	+	-	-	Intermédiaire
4736/13	F	4ans	-	-	-	-	-	+	-	Faible
721/13	F	1an	-	+	-	-	+	-	-	Intermédiaire
6249/13	M	34mois	-	-	-	-	+	-	-	Faible
7975/13	M	1an	+	+	-	-	-	+	-	Intermédiaire
10196/13	M	1 an	+	+	-	-	-	-	+	Intermédiaire
11095/13	M	1 an	-	-	-	-	-	-	+	Faible
11152/13	M	1 an	MOM+	0	prélaminaire	-	+	-	-	Haut Risque
12555/13	F	3ans	-	-	-	-	-	+	-	Faible
12356/13	F	2ans	-	-	-	-	+	-	-	Faible
10549/13	F	4 ans	-	-	-	-	-	-	+	Faible
10550/13	F	1an	-	+	-	-	+	-	-	Intermédiaire
13696/13	M	2ans	-	+	-	-	-	-	+	Intermédiaire
14322/13	M	3ans	-	+	-	-	+	-	-	Intermédiaire
15186/13	M	4 ans	-	-	-	-	-	-	+	Faible

Tableau : Facteurs de Risque histologiques en fonction du recrutement par année , de l'atteinte des tuniques oculaires et du nerf optique

ANNEXES

Numéro	sexe	Age	sclère	choroïde	Nerf Optique	Chambre Antérieure	Peu ou indifférencié	Bien différencié	moyennement différencié	Facteurs de Risque histologiques
2545/14	F	3 ans	-	-	prélaminaire	+	+	-	-	Faible
235/14	F	3 ans	-	-	-	-	+	-	-	Faible
9480/14	F	2 ans	-	-	prélaminaire	-	-	-	+	Faible
9141/14	F	2 ans	-	+	Tranche de Section	-	+	-	-	Haut Risque
6012/14	F	2 ans	-	-	Tranche de Section	-	-	-	+	Haut Risque
10318/14	M	1 ans	+	+	prélaminaire	-	+	-	-	Intermédiaire
9537/14	M	5 ans	+	+	Tranche de Section	-	-	-	+	Haut Risque
12651/14	F	15 mois	-	-	-	-	-	-	+	Faible
10049/14	M	3 ans	-	-	-	-	+	-	-	Faible
11848/14	M	1 an	-	-	-	-	-	-	+	Faible
12864/14	M	31 jrs	-	-	prélaminaire	-	+	-	-	Faible

Tableau : Facteurs de Risque histologiques en fonction du recrutement par année , de l'atteinte des tuniques oculaires et du nerf optique