

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



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

Option : Biosignalisation cellulaire et moléculaire: Génétique du cancer

Thème

**Contribution à l'étude des aspects  
morphologiques et moléculaires du rétinoblastome**

*Présenté par :*  
**LARFI Manel**

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

M<sup>me</sup> CHAKHMA A Maitre assistant A à l'université de Blida Présidente

M<sup>me</sup> AMIR ZC. Professeur Faculté de Médecine Université Alger Examinatrice

M<sup>me</sup> CHILLAMaitre assistant A Faculté de Médecine Université Alger Examinatrice

M<sup>me</sup> HANNACHIL Maitre de conférences A Faculté de Médecine Université Alger Promotrice



# REMERCIEMENTS

*Je tiens tout d'abord à remercier DIEU pour m'avoir donné le courage et la détermination nécessaire pour finaliser ce travail de recherche.*

*Je remercie mes parents pour leur accompagnement tout au cours de ce cycle d'étude.*

*Je tiens à remercier également toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire :*

*Professeur HANNACHI L, pour sa disponibilité à encadrer ce travail et être à l'écoute tout au long du parcours à travers ses recommandations et ses connaissances liées à ce thème.*

*Madame AMIR ZC, Chef de service du Service d'anatomie pathologique pour m'avoir permis d'effectuer ce stage au sein de son service.*

*J'adresse mes sincères remerciements à Madame CHAKHMA pour avoir accepté de présider le jury.*

*Je tiens également à adresser mes vifs remerciements au professeur AMIR ZC et au docteur CHILLA.D pour avoir accepté d'examiner ce mémoire.*

*Mes remerciements vont également aux présentes personnes et aussi à, SARAH, SIHEM, ZOLA et IMEN.*

# DEDICACES

*Je dédie ce mémoire à mes très chers parents*

*A ma promotrice Pr Hannachi.L*

*A mes très chères sœurs, Sarah, Dounia et Amira.*

*A ma chère cousine Farah et*

*Assia.*

*Ainsi qu'à toute la famille LARFI.*

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableaux</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b>	Classification de ReeseEllworth.	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau 2</b>	Classification ABC	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau 3</b>	Matériel non biologique	<b>15</b>
<b>Tableau 4</b>	Répartition des patients selon les années	<b>24</b>
<b>Tableau 5</b>	Répartition des patients selon le sexe	<b>25</b>
<b>Tableau 6</b>	Répartition des patients selon l'âge	<b>26</b>
<b>Tableau 7</b>	Répartition des patients selon l'âge et l'uni ou bilatéralité des lésions	<b>27</b>
<b>Tableau 8</b>	Répartition des patients selon l'uni et bilatéralité	<b>28</b>
<b>Tableau 9</b>	Répartition des patients selon la taille du nerf optique	<b>30</b>
<b>Tableau 10</b>	Répartition des patients selon la taille tumorale	<b>32</b>
<b>Tableau 11</b>	Répartition selon le degré d'invasion de la choroïde	<b>32</b>
<b>Tableau 12</b>	Répartition selon le degré d'invasion de la sclère	<b>34</b>
<b>Tableau 13</b>	Répartition des patients selon l'extension sclérale	<b>35</b>
<b>Tableau 14</b>	Répartition selon le degré d'invasion de la chambre antérieure	<b>35</b>
<b>Tableau 15</b>	Répartition selon le degré d'invasion de la cavité vitrée	<b>36</b>
<b>Tableau 16</b>	Répartition selon le degré d'invasion du nerf optique	<b>37</b>
<b>Tableau 17</b>	Répartition de la calcification chez les patients	<b>39</b>
<b>Tableau 18</b>	Répartition de la vascularisation chez les patients	<b>40</b>
<b>Tableau 19</b>	Répartition des patients selon le degré de différenciation	<b>40</b>
<b>Tableau 20</b>	Répartition des patients selon l'extension tumorale	<b>42</b>
<b>Tableau 21</b>	Expression des différents marqueurs sur les 4 cas étudiés.	<b>43</b>
<b>Tableau 22</b>	Facteurs de risque histologiques	<b>46</b>
<b>Tableau 23</b>	Facteurs de Risque histologiques en fonction du recrutement par année, de l'atteinte des tuniques oculaires et du nerf optique	<b>Annexe 3</b>

## LISTE DES FIGURES

<b>Figures</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 1</b>	Anatomie du globe oculaire	<b>4</b>
<b>Figure 2</b>	leucocorie. (reflet blanc de la pupille)	<b>5</b>
<b>Figure 3</b>	strabisme	<b>6</b>
<b>Figure 4</b>	localisation cytogénétique : 13q 14	<b>9</b>
<b>Figure 5</b>	Location des domaines en fonctions de la séquence des 928 acides aminés	<b>10</b>
<b>Figure 6</b>	voie de signalisation de la protéine Rb	<b>11</b>
<b>Figure 7</b>	circulateur automatique (LIECA TP 10 20)	<b>17</b>
<b>Figure 8</b>	Appareil d'inclusion	<b>18</b>
<b>Figure 9</b>	Microtome	<b>19</b>
<b>Figure 10</b>	Plaque chauffante	<b>19</b>
<b>Figure 11</b>	Répartition des patients selon les années	<b>24</b>
<b>Figure 12</b>	Répartition des patients selon le sexe	<b>25</b>
<b>Figure 13</b>	Répartition des patients selon l'âge	<b>26</b>
<b>Figure 14</b>	Répartition des patients selon l'âge et l'uni ou bilatéralité des lésions	<b>27</b>
<b>Figure 15</b>	Répartition des patients selon l'uni et bilatéralité	<b>28</b>
<b>Figure 16</b>	Répartition des patients selon la localisation du globe oculaire	<b>28</b>
<b>Figure 17</b>	RB chez une fillette de 3 ans	<b>29</b>
<b>Figure 18</b>	RB intra oculaire. Nerf optique sain	<b>30</b>
<b>Figure 19</b>	Répartition des patients selon la taille du nerf optique	<b>31</b>
<b>Figure 20</b>	Aspect macroscopique du globe oculaire. présence d'une masse tumorale blanche friable	<b>31</b>
<b>Figure 21</b>	Répartition des patients selon la taille tumorale	<b>32</b>
<b>Figure 22</b>	Répartition selon le degré d'invasion de la choroïde	<b>33</b>
<b>Figure 23</b>	coupe histologique d'un RB. Envahissement choroïdien massif (HE X 10).	<b>33</b>
<b>Figure 24</b>	Répartition selon le degré d'invasion de la sclère	<b>34</b>
<b>Figure 25</b>	Coupe histologique d'un RB (HE X 20). Sclère saine	<b>34</b>
<b>Figure 26</b>	Répartition des patients selon l'extension sclérale	<b>35</b>
<b>Figure 27</b>	Répartition selon le degré d'invasion de la chambre antérieure	<b>36</b>
<b>Figure 28</b>	Répartition selon le degré d'invasion de la cavité vitrée	<b>36</b>
<b>Figure 29</b>	Répartition selon le degré d'invasion du nerf optique	<b>37</b>

<b>Figure 30</b>	Tranche de section du nerf optique infiltré	<b>38</b>
<b>Figure 31</b>	RB montrant le NO sain. (HE X 40).	<b>38</b>
<b>Figure 32</b>	Répartition de la calcification chez les patients	<b>39</b>
<b>Figure 33</b>	RB indifférencié, bien vascularisé avec foyers calcifiés	<b>39</b>
<b>Figure 34</b>	Répartition de la vascularisation chez les patients	<b>40</b>
<b>Figure 35</b>	Répartition des patients selon le degré de différenciation	<b>41</b>
<b>Figure 36</b>	Coupes histologiques d'un rétinoblastome montrant le degré de différenciation avec les différents type de rosettes :HE X 100	<b>41</b>
<b>Figure 37</b>	Répartition des patients selon l'extension tumorale	<b>42</b>
<b>Figure 38</b>	RB indifférencié après immunomarquage nucléaire du Ki67 (GX40)	<b>43</b>
<b>Figure 39</b>	RB après immunomarquage nucléaire du P53. (G X40)	<b>44</b>
<b>Figure 40</b>	RB : Gliose réactionnelle	<b>44</b>
<b>Figure 41</b>	RB peu différencié. Absence de marquage des cellules tumorales par l'anticorps CD34	<b>45</b>
<b>Figure 42</b>	facteurs de risque histologiques	<b>46</b>
<b>Figure 43</b>	la coupe du globe oculaire	<b>Annexe 2</b>
<b>Figure 43</b>	Schéma présentant le principe de la technique d'immunohistochimie	<b>Annexe 2</b>

## Liste des abréviations

**ARF** : suppléant du cadre de lecture ouvert; aussi connu comme p14ARF chez l'homme

**CDK** :CyclinDependant Kinase

**CD** : Cluster of Differentiation

**CHU**: CentreHospitalier Universitaire

**GO**:Globe Oculaire

**HE** :HématoxylineEosine

**IHC** :Immunohistochimie

**Mdm2**: Mouse double minute 2 p53

**NO** :Nerf Optique

**PBS** : Phosphate BufferedSaline

**PS100** : Protéine 100

**PRB** : Protéine de Rétinoblastome

**RB** : RétinoBlastome

**TS** : Tranche de section

# RESUME

L'objectif de notre travail est d'étudier les aspects morphologiques et moléculaires du rétinoblastome, à travers une étude rétrospective qui s'est déroulée du 1er janvier 2011 au 31 août 2014 sur 48 prélèvements (globe oculaire) colligés au laboratoire d'anatomopathologie du Centre hospitalo-universitaire, Mustapha Bacha (Alger).

L'âge des patients varie entre 1 mois et 5 ans, en moyenne de 3 ans avec une prédominance masculine. La localisation unilatérale était la plus représentée avec 92% des cas.

La leucocorie a été le maître symptôme avec 100 % des cas, parmi les 48 cas étudiés un seul patient avait une extension tumorale extra-oculaire.

Nos résultats concernant les facteurs histopronostiques montrent que la choroïde était atteinte chez 42% des patients, la sclère était touchée chez 13%, la cavité vitrée avec 19% contrairement à la chambre antérieure où elle était atteinte chez seulement 4% des patients de plus 13 patients avaient un nerf optique atteint.

La technique d'immunohistochimie a été réalisée chez 4 patients seulement (à cause d'absence de matériels) dont on a trouvée tous les marqueurs [Ki67 (indice de prolifération), P53 (indice d'apoptose), PS100, CD34] positifs.

Cette étude doit être poursuivie et élargie sur un nombre plus important de malades afin de pouvoir la valider statistiquement.

Mots clés : Rétinoblastome, Facteurs histopronostiques, Leucocorie, Immunohistochimie.

# Abstract

The objective of our work is to study the morphological and molecular aspects of retinoblastoma through retrospective study took place from January the 1<sup>st</sup> 2011 to the 31<sup>st</sup> of August 2014 of 48 samples collected in the laboratory of Pathology University hospital center Mustapha Bacha (Algiers).

The patients' age ranged from 1 month to 5 years, an average of 3 years with a male predominance. Unilateral location was the most represented with 92% of cases.

Leucocoria was the main symptom with 100% of the cases. In the 48 cases studied one patient had extraocular tumor extension.

Our results concerning the histoprosthetic factors show that the choroid was diagnosed in 42% of patients, the sclera was affected in 13%, the anterior chamber where it was diagnosed in only 4% of patients more 13 patients had an optic nerve attained.

The immunohistochemical technique was performed on 4 patients only, where all markers (Ki67, p53, PS100, CD34) were found positive.

This study should be continued and expanded to a larger number of patients in order to validate it statistically.

Keywords: Retinoblastoma, leukocoria; histoprosthetic Factors,, Immunohistochemistry.

# المخلص

الهدف من عملنا هو دراسة الجوانب الشكلية والجزئية من سرطان الشبكية في فترة امتدت من 1 جانفي 2011 الى 31 اوت 2014 و لقد اجريت هذه الدراسة على 48 عينة جمعت في مختبر علم الامراض بمستشفى مصطفى باشا (الجزائر العاصمة).

تراوحت أعمار المرضى من شهر إلى 5 سنوات، بمعدل 3 سنوات وكاناغلبيتهمذكورا . 92% منالحالاتاصيبو فيعينواحدة.

كانتاللوكريرياالعرضالرئيسيلمرضوالذيوجدلدى 100% منالحالاتامامتدادالورمخارجالعينووجدلدىحالةواحدة فقط.

فيمايخصالعواملالهيستوبرونوستكيةفانهاظهرتاناالمشيمةاصيبتلدى 42% منالمرضى, الصلبةاصيبتلدى 13% وتجويفالجسمالزجاجيلدى 19%, امافيمايخصالغرفةالاماميةفانهااصيبتلدى 4% منالمرضى,والعصبالبصرياصيبتلدى 13 حالة.

تمتنفيذالتقنيةالكيميائيةالمناعيةلدى 4 مرضى فقط, حيثماالعثور علىجميعالعلاماتاياجابية.

(Ki67, p53, PS100, CD34)

ينبغيواصلةهذاالدراسةوتوسيعالعددأكبر منالمرضىمنأجلالتحققمنصحةذلكإحصائيا.

**الكلمات الرئيسية:** سرطان الشبكية - العواملالهيستوبرونوستكية- اللوكوريا - التقنيةالكيميائيةالمناعية.

# SOMMAIRE

## **Introduction**

## **CHAPITRE I : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES**

I-Anatomie de l'appareil visuel.....	3
II-Le rétinoblastome.....	4
II-1-Epidémiologie.....	5
II-2-Aspect clinique .....	5
II-3-Aspect histologique.....	7
II-4-Aspect génétique.....	7
II-5-voies de signalisation .....	9
II-6-Conseil génétique.....	14

## **CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES**

II-1- Population d'étude .....	15
II-2-Matériel non biologique.....	15
II-3- Etude anatomopathologique .....	16

## **CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

III-1- Paramètres épidémiologiques.....	24
III-2- Paramètres cliniques.....	29
III-3-Etude anatomopathologique.....	30
III-4-Etude des facteurs histopronostiques.....	45
III-5-Discussion.....	47

## **Conclusion**

## **Bibliographie**

## **Annexes**

## INTRODUCTION

Le rétinoblastome (RB) est une tumeur maligne intraoculaire d'origine neuro-épithéliale survenant chez les nourrissons et le jeune enfant. Il est malgré sa rareté la plus fréquente des tumeurs oculaires malignes de l'enfant. Son incidence mondiale moyenne est de 1 cas pour 18000 naissances. Il représente 30% des tumeurs oculaires et 2% des tumeurs malignes de l'enfant (**Urbieta M, 1999**).

La tumeur est unilatérale dans 2/3 des cas ; bilatérale dans 1/3 des cas. Sa fréquence observée en Europe et en Amérique varie entre 1/25000 et 1/14000 naissances. Le rétinoblastome touche chaque année en France 1 enfant sur 15000 à 20000 naissances (**Doz F, 2006**). Au Sénégal, on compte en consultation hospitalière 15 cas pour 1000 consultants (**Imbert, 2003**). Au Maroc, son incidence est estimée à 50 nouveaux cas par an dont la plupart sont des formes sporadiques (**Ismaili N, 1998**). Dans une étude ivoirienne faite par Zomahoun, (**Zomahoun B, 1998**) son incidence était de 1 cas pour 877 consultants, en Tunisie (0,08 pour 1000 consultants). Selon Desjardins (Desjardins L, 1991) l'incidence du rétinoblastome est à peu près la même dans toutes les populations (1 cas pour 18000 naissances). En Algérie son incidence est stable, décrite autour de 1/15 000 naissances. (**Boubekeur, 2012**)

On peut distinguer deux formes de rétinoblastome : la forme sporadique et la forme héréditaire. Les cas sporadiques sont unilatéraux dans 60 % des cas, avec un âge médian au moment du diagnostic d'environ deux ans tandis que les formes héréditaires sont pour la plupart bilatérales.

Dans les pays développés, la tumeur est reconnue à un stade de début ; elle est curable dans plus de 95% des cas grâce aux progrès thérapeutiques. La préservation d'une fonction visuelle de l'oeil atteint est devenue dès lors la préoccupation du thérapeute. Dans notre pays, la plupart des RB sont vus à un stade tardif et très souvent la guérison n'est obtenue qu'au prix d'une vision monoculaire et de séquelles parfois importantes. Il est crucial de poser un diagnostic précoce et fiable pour éviter l'extension loco - régionale et à distance afin de traiter ces patients à un stade utile. Les signes cliniques révélateurs sont le plus souvent la leucocorie et le strabisme. Le diagnostic repose sur l'examen du fond d'œil (FO) sous anesthésie générale (SAG), le plus souvent complété par une échographie et un scanner.

Lorsque le diagnostic est posé précocement un traitement conservateur permet de sauvegarder la fonction visuelle dans de nombreux cas ; cependant s'il est tardif, on devra mettre en route

un traitement local et général associé ou non à une chirurgie mutilante pour essayer d'améliorer le pronostic vital. Le pronostic vital lié à la tumeur, est un problème majeur dans les pays en voie de développement du fait de la fréquence dans ces pays, de l'extension orbitaire et des métastases. En fonction de l'extension de la tumeur, la décision thérapeutique inclut énucléation, radiothérapie externe, irradiation sur plaque sclérale, photocoagulation, cryothérapie, thermo -chimiothérapie (carbolaser), chimiothérapie (CT) ou l'association de deux ou plusieurs de ces méthodes.

L'objectif de notre travail est d'étudier les aspects morphologique et moléculaire du rétinoblastome (apprendre à couper un globe oculaire tumoral, maîtriser les différentes étapes techniques : déshydratation, coupe au microtome, confection de lame, coloration des lames à l'hématéine éosine, apprendre la technique d'immunohistochimie et l'appliquer au RB et la recherche des facteurs histopronostiques de cette tumeur (infiltration du nerf optique, de la sclère, de la choroïde ...etc.), à travers une étude rétrospective et prospective.

Nous présenterons successivement quelques rappels sur le RB puis quelques voies de signalisation de la protéine Rb. La deuxième partie sera consacrée au matériel et méthodes utilisées dans ce travail. Il est suivi du chapitre « Résultats ». Ces derniers seront discutés par comparaison aux données la littérature, puis nous terminerons par une conclusion générale.

## **I-Anatomie de l'appareil visuel**

L'œil est l'un des cinq organes de sens du corps humain, c'est l'organe de la vue. Ce dernier est l'organe récepteur de la lumière. Sa fonction est de transformer l'information lumineuse en influx nerveux transmis au cerveau.

**I-1-La cornée :** c'est le prolongement plus bombé de la sclérotique. La frontière sclérotique cornéenne s'appelle le limbe. Elle est très innervée donc très sensible. Elle est transparente et doit le rester pour assurer une bonne vision. **(Chiesa C 2005)**

**I-2-L'humeur aqueuse :** liquide transparent et fluide, remplit la chambre antérieure, délimitée par la cornée en avant et l'iris en arrière ; sécrétée en permanence par les procès ciliaires, l'humeur aqueuse est évacuée au niveau de l'angle iridocornéen à travers le trabéculum dans le canal de Schlemm qui rejoint la circulation générale ; une gêne à l'évacuation de l'humeur aqueuse provoque une élévation de la pression intraoculaire (valeur normale : inférieure ou égale à 22 mm Hg). **(Coulf A, 2013)**

**I-3-La Pupille :** c'est le trou situé au milieu de l'iris. La taille de la pupille est contrôlée par des mouvements involontaires de contraction (myosis) et de détente (mydriase) du muscle de l'iris. Ces mouvements constituent le réflexe pupillaire qui permet de réguler l'intensité de lumière entrant dans l'œil. **(Valéry P et Bernard R, 2013)**

**I-4-l'iris,** diaphragme circulaire perforé en son centre par la pupille, dont l'orifice est de petit diamètre à la lumière vive (myosis) et de grand diamètre à l'obscurité (mydriase). Le jeu pupillaire est sous la dépendance de deux muscles : le sphincter de la pupille et le dilatateur de l'iris.

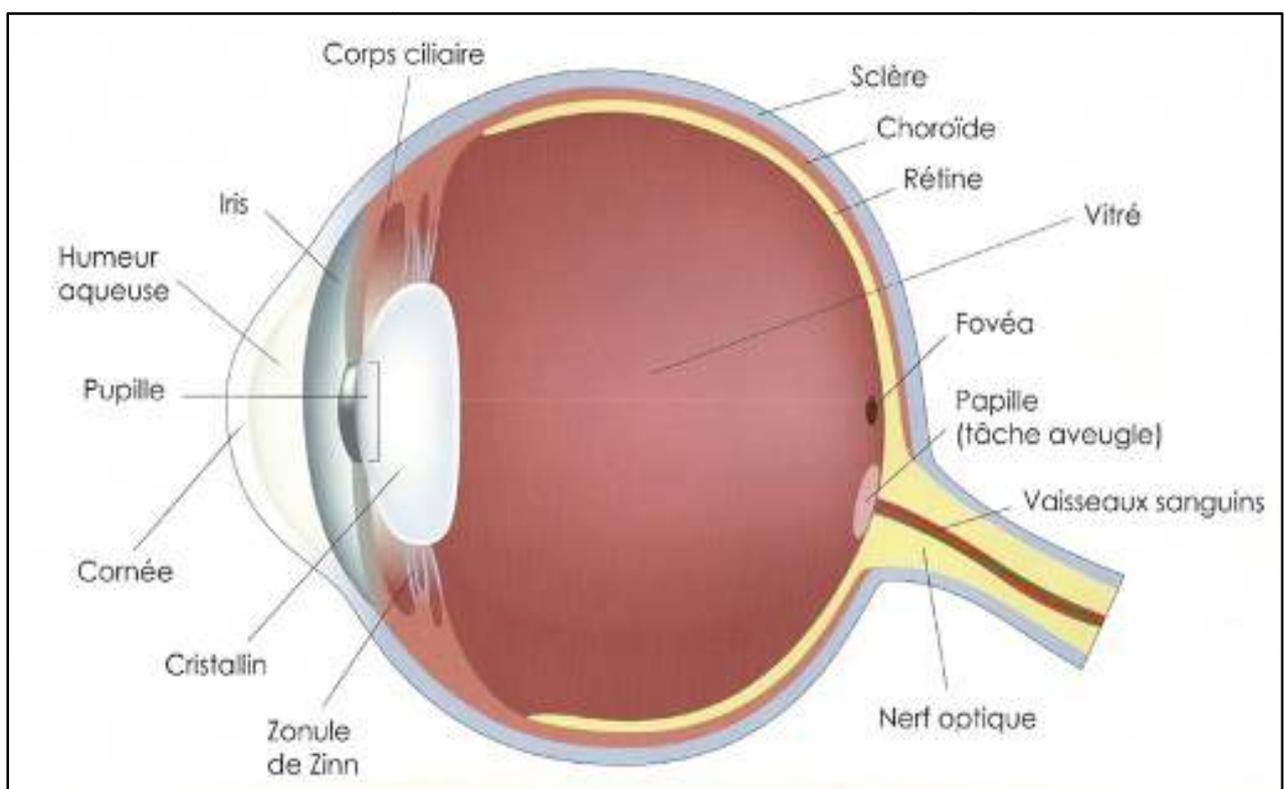
**I-5- le cristallin** est une lentille biconvexe, convergente, amarrée aux procès ciliaires par son ligament suspenseur, la zonule ; elle est capable de se déformer par tension ou relâchement de la zonule sous l'effet de la contraction du muscle ciliaire, et de modifier ainsi son pouvoir de convergence : ceci permet le passage de la vision de loin à la vision de près qui constitue l'accommodation ; la perte du pouvoir d'accommodation du cristallin avec l'âge est responsable de la presbytie qui nécessite le port de verres correcteurs convergents pour la lecture.

**I-6-le corps vitré** est un gel transparent, entouré d'une fine membrane, la hyaloïde, qui remplit les 4/5èmes de la cavité oculaire et tapisse par sa face postérieure (hyaloïde postérieure) la face interne de la rétine. **(Coulf A, 2013)**

## CHAPITRE I : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

**I-7-Le nerf optique** : est un nerf reliant chaque globe oculaire, plus précisément au niveau de la rétine, jusqu'au cerveau. Il se charge de transférer les informations reçues afin qu'elles soient traitées par le cerveau. **(Jeff I, 2013)**

**I-8-La rétine** :Tunique profonde de l'œil elle est destinée à recevoir les impressions lumineuses et à les transmettre au cerveau par le nerf optique. La rétine mature de mammifère est composée de deux tissus : la rétine neurale et l'épithélium pigmentaire de la rétine.



**Figure 1** :Anatomie du globe oculaire**(Opticien Perrier, 2013)**

### **II-Le rétinoblastome**

Le rétinoblastome(RB) est une tumeur maligne intraoculaire de l'enfant qui se développe à partir des cellules embryonnaires de la rétine. Elle se manifeste pratiquement toujours avant l'âge de cinq ans et le plus souvent entre un et deux ans. **(Blanquet v et Grouchy j, 1991)**

# CHAPITRE I : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

---

Cette maladie grave peut atteindre un seul œil (tumeur unilatérale dans 60 % des cas) ou les deux yeux (tumeurs bilatérales dans 40 % des cas). (Giustranti C, 2010)

## II-1-Epidémiologie

Le rétinoblastome (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.

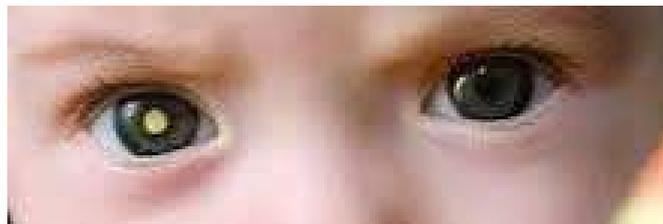
## II-2-Aspect clinique

### II-2-1- Circonstances de découverte

Les signes d'appel les plus fréquents sont la leucocorie et le strabisme.

#### II-2-1-1-La leucocorie

C'est le reflet blanc dans la pupille : il traduit toujours une tumeur relativement évoluée. Elle est facilement remarquée par l'entourage proche du bébé mais n'est pas toujours visible au début lors de l'examen médical. (Desjardins L et al, 2004) (figure 2).



**Figure 2:** leucocorie.

#### II-2-1-2-Le strabisme

Le strabisme est un problème visuel caractérisé par un défaut de parallélisme dans l'alignement des yeux. Dans le cadre du rétinoblastome, le strabisme est lié à une tumeur recouvrant toute ou partie de la macula entraînant une perte visuelle centrale de l'œil concerné. (Doz F, 2006) (figure 3)



**Figure 3** : strabisme

### **II-2-1-3-Autres signes**

Les signes observés dans la majorité des cas sont : Le nystagmus, la buphtalmie, La néo vascularisation irienne, un hyphéma, ou un pseudohypopion. Des signes inflammatoires sont parfois rencontrés. Ainsi on peut observer une uvéite, un œdème des paupières, une conjonctivite, voire parfois une panophtalmie ou une cellulite orbitaire avec exophtalmie. (Desjardins J et al., 2004)

### **II-2-2-Diagnostic**

Le diagnostic repose essentiellement sur un examen du fond d'oeil, sous anesthésie générale, en milieu spécialisé et il est complété par une échographie oculaire, une IRM et/ou une tomodensitométrie (CT-scan). 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, la présence d'un décollement séreux rétinien, d'une prolifération tumorale vitréenne, et la situation anatomique par rapport à la macula et au nerf optique.

Le pronostic clinique est évalué par la classification de Reese-Ellworth (Annexe 1, tableau 1) et plus récemment par la classification internationale ABC qui reprennent ces éléments ophtalmologiques (Annexe 1, tableau 2). Ces classifications permettent d'évaluer la pertinence ou non d'un traitement conservateur. (Linn Murphree, 2005)

### **II-2-3-Traitements**

La prise en charge des patients doit prendre en compte divers facteurs : le risque visuel, la possible nature héréditaire de l'affection et le risque vital. Une énucléation est souvent nécessaire en cas de forme unilatérale, un traitement adjuvant étant indiqué en fonction des facteurs de risques histologiques. Un traitement conservateur pour au moins 1 œil est possible dans la plupart des formes bilatérales : thermochimiothérapie, cryothérapie,

## CHAPITRE I : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

---

disque d'iode. Les indications de radiothérapie externe sont maintenant limitées aux grosses tumeurs avec essaimage vitréen en raison des effets tardifs, dont le risque de sarcomes secondaires. Un suivi à long terme et une information précoce des patients et de leur famille concernant les risques de transmission et de tumeurs secondaires sont nécessaires. (Doz F, 2006)

### **II-3-Aspect histologique**

Il s'agit d'une prolifération de cellules d'origine neuro épithéliale, de cellules jeunes : les rétinoblastes. Ces cellules sont arrondies et ont un noyau volumineux ; elles ont des besoins métaboliques importants et se disposent concentriquement autour des vaisseaux (disposition en pseudo rosettes péri-vasculaires) ; celles qui sont situées loin des vaisseaux se nécrosent et se calcifient secondairement.

### **II-4-Aspect génétique**

#### **II-4-1- Les formes du rétinoblastome**

Le rétinoblastome se présente sous deux formes : héréditaire et non héréditaire.

La forme héréditaire représente 40% des cas, elle s'exprime le plus souvent de façon bilatérale, lorsqu'elle est unilatérale elle est plutôt multifocale, elle peut être familiale ou sporadique. (Sans antécédents familiaux)

Dans le cas familial, le gène est transmis par un ascendant qui est soit un parent affecté ayant survécu à la maladie, soit un parent qui n'a pas de tumeur.

Dans le cas sporadique, le gène est acquis par une nouvelle mutation germinale qui survient chez un parent sain, il en résulterait chez ce dernier une mosaïque.

La forme non héréditaire représente 60% des cas elle est invariablement unilatérale monofocale.

#### **II-4-2-Mode de transmission héréditaire**

La transmission de la maladie se fait selon le mode autosomique dominant avec une pénétrance de 80% à 90%, les 10% à 20% d'individus sont des porteurs asymptomatiques capables de transmettre l'affection à leurs descendants. Le mode de transmission et la variation de pénétrance ont été démontrés par l'étude des cas familiaux. Le premier cas familial a été

## CHAPITRE I : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

---

rapporté par Lerche(1821) en décrivant une fratrie de 7 enfants : 3 étaient atteints unilatéralement et 4 bilatéralement, les parents étaient asymptomatiques, depuis de nombreux cas familiaux ont été publiés dont un grand nombre présentait un mode de transmission similaire à celui publié par Lerche.

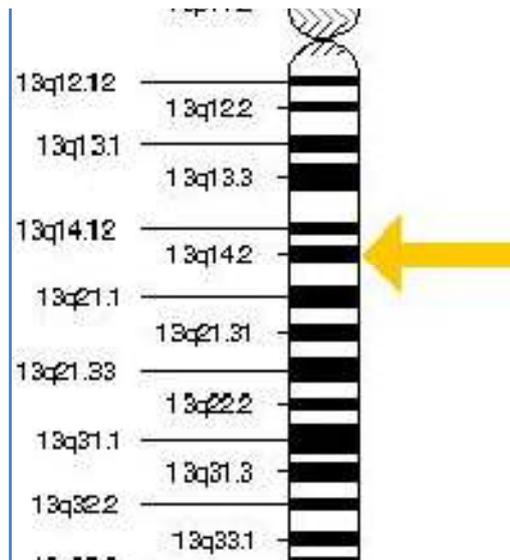
La surveillance de patients porteurs de tumeurs bilatérales a montré que leur descendance présentait 50% de risque.

Les enfants des parents affectés unilatéralement peuvent avoir des enfants atteints bilatéralement ou unilatéralement. Des sujets qui héritent le gène peuvent ne pas être affectés mais peuvent transmettre le gène à leur descendance. **(Sadouki R et Sadouki I, 2002)**

### **II-4-3-Le gène RB1**

Le gène RB1 est situé en région 13q14 proche du locus du gène de l'estérase D. Le gène RB1 comporte 27 exons et conduit à un transcrit de 4,7 kilobases (figure 4) **(Lohmann, D. R, 1999)**. Le cadre ouvert de lecture de 2,7 kb code pour une protéine nucléaire de 110 kD d'expression ubiquitaire appartenant à la famille « pocket protein ». La protéine pRb possède une conservation phylogénétique forte et présente un pourcentage d'homologie de séquences protéiques très important entre les mammifères, Par ailleurs, il existe peu de polymorphismes exoniques fréquents entraînant le changement d'un acide aminé par rapport à la séquence de référence.

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 W, 1992)**



**Figure 4:** localisation cytogénétique: 13q 14

## II-5-voie de signalisation

### II-5-1-La protéineRb

La protéine du rétinoblastome (pRB) est une protéine de séquestration qui exerce un contrôle négatif du cycle cellulaire. Cette fonction est essentielle dans les organismes pluricellulaires pour éviter la formation de tumeurs malignes qui mettraient en péril l'organisme, ce qui permet de qualifier cette protéine de « suppresseur de tumeur ».

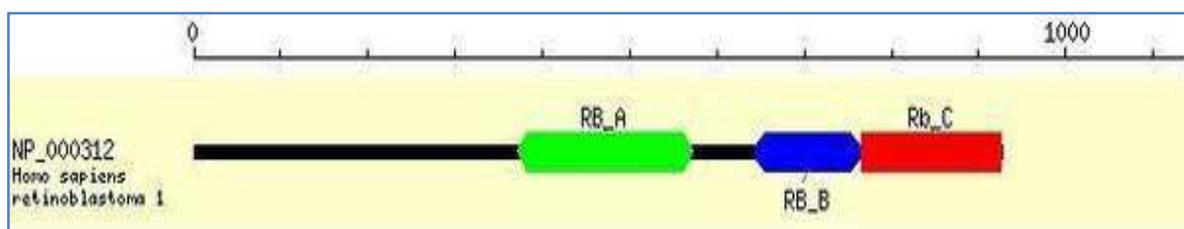
#### Structure

Chez l'homme pRB est une protéine de 928 acides aminés et comporte 3 domaines:

pRB\_A : Site de liaison de la cycline,

pRB\_B : Domaine de liaison. Site d'interaction avec des protéines virales,

pRB\_C : Domaine carboxyl-terminal. Site de liaison requis pour lier la protéine E2F. Site de phosphorylation des CDK4 et CDK6.(Abouzeid H et al, 2007)



**Figure 5 :** Location des domaines en fonctions de la séquence des 928 acides aminés

### **II-5-2-Fonction biologique de la protéine Rb**

pRB a un mécanisme de suppression tumorale, qui bloque le cycle cellulaire en phase G1 via la séquestration du facteur de transcription E2F. Ce « frein » moléculaire est essentiel, car sans lui, la cellule serait toujours en division cellulaire. Dans la majorité des cellules somatiques d'un organisme adulte, pRB n'est pas phosphorylée, car les cellules de l'organisme adulte n'ont presque jamais besoin de se diviser. pRB n'étant pas phosphorylée, la libération du complexe E2F/DP est inhibée. Cette inhibition stoppe le cycle cellulaire en phase G1. Lorsque la cellule est en division active, des complexes cycline/CDK (cyclindependent kinases) viennent phosphoryler pRB au niveau du domaine C. Cette phosphorylation amène un changement de conformation protéique permettant le relâchement du complexe E2F/DP. Par la suite, le facteur de transcription E2F libre peut aller transcrire d'autres gènes responsables de l'avancement subséquent du cycle cellulaire à la phase S. **(Griffiths et al, 2006)**

### **II-5-3-RB et contrôle du cycle cellulaire**

Sous l'influence de facteurs mitogènes (par exemple PDGF) les cellules parviennent à lever le frein biologique posé par la présence de pRB hypophosphorylé et ainsi continuer la progression du cycle cellulaire vers la mitose. **(AlbertsB, 2004)**

Suite à la liaison du facteur mitogène et de son ligand, une cascade de signalisation est enclenchée. Cette cascade de signalisation utilise des kinases pour phosphoryler le substrat suivant de la cascade jusqu'à l'activation du facteur de transcription. Une fois le facteur de transcription activé, cela enclenche la production de protéines nommées cyclines et CDKs, nécessaires pour démarrer le cycle cellulaire.

Les cyclines et CDKs nécessaires pour la phase G1, ce qui veut dire qu'ils sont essentiels pour arriver à la phase S, sont les cyclines D et E et les CDKs 2/4/6. Cependant, la cycline D et CDKs 4 et 6 sont produites et activées au tout début de la phase G1, mais ne sont pas capables d'induire la libération du complexe E2F/DP. En effet, on doit attendre à la fin de la phase G1 pour voir la production de cycline E activer CDK 2 qui, à son tour phosphorylera le domaine carboxyl-terminal de pRB. Cette phosphorylation en chaîne par les trois CDKs entraîne un changement de conformation dans la structure de pRB, ce qui l'empêche alors de lier le complexe E2F/DP. Ce complexe étant maintenant libre, le facteur de transcription E2F peut alors aller déclencher la transcription d'ARNm nécessaires à la phase S du cycle cellulaire.

## CHAPITRE I : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

Cependant, il peut aussi y avoir une régulation négative de pRB. En effet, s'il y a des dommages à l'ADN lorsque la cellule veut entrer en mitose, la protéine p53 se trouve phosphorylée et induit la production de protéine p21. p21 se lie aux complexes cycline/CDK de la phase G1, inhibant ainsi leur activité kinase pour pRB. Il y a donc inhibition de la libération du complexe E2F/DP. (Griffiths Et Al., 2006)

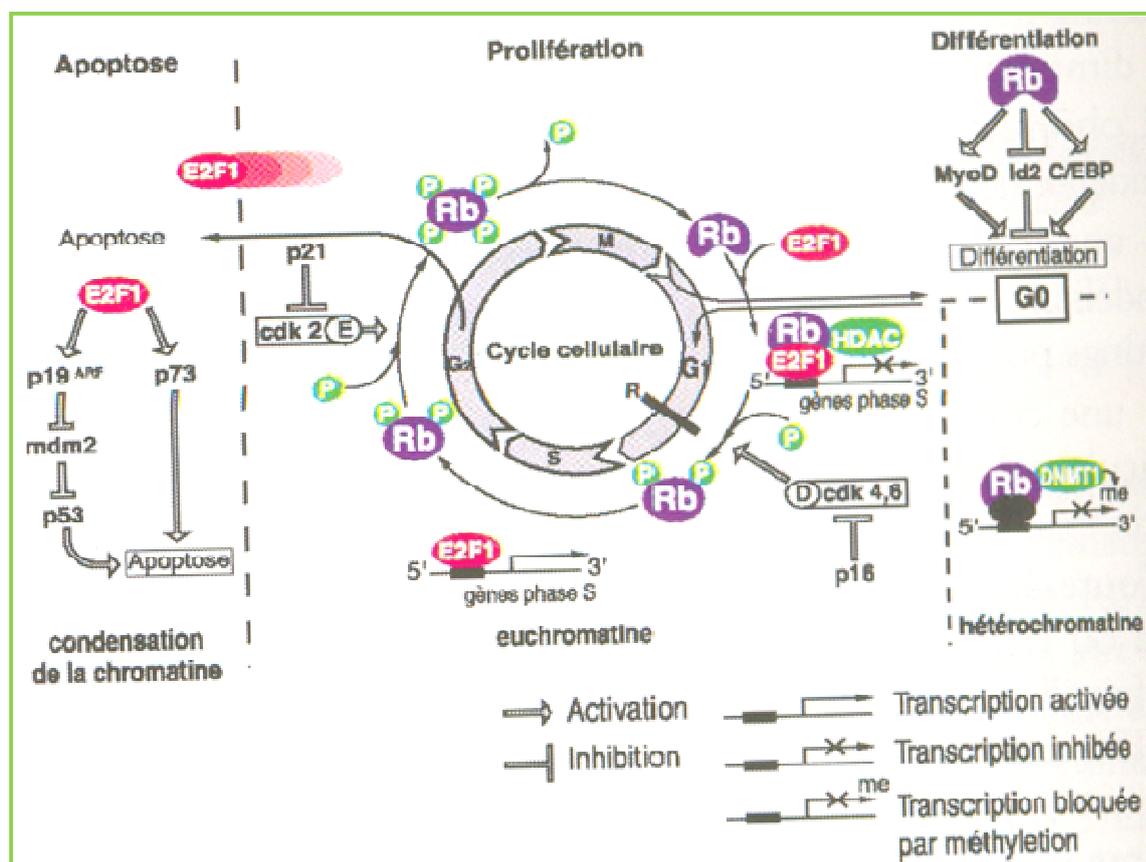


Figure 6 : voie de signalisation de la protéine Rb.

### II-5-4-RB 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 (DuWet Searle J. S, 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)

## CHAPITRE I : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

---

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 paraît donc essentiel dans le maintien de l'homéostasie cellulaire. En conséquence, la situation du rétinoblastome où *RBI* est inactivé sur ces deux allèles, implique la participation d'événements complémentaires nécessaires au développement tumoral.

### **II-5-5-Rb 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 rétinienne qui se divisent et/ou se différencient en cellules rétinienne transitoires. A la naissance, les cellules progénitrices rétinienne sont rares et les cellules rétinienne transitoires migrent et se différencient en bâtonnets, cônes, cellules horizontales, cellules bipolaires, cellules de Müller, cellules amacrine 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 rétinoblastome, d'autant que, ces cellules seraient programmées pour être résistantes à l'apoptose. (Pacal, M et Bremner R, 2006)

### **II-5-6-Rétinoblastome et inhibition de la voie p53**

Une surexpression tumorale des protéines MDM2 et MDMX (également appelée MDM4), qui sont des membres de la famille Murine-Double Minute, a été décrite dans 10% et 65% des rétinoblastomes. MDM2 et MDM4, sont des régulateurs négatifs clés de la voie p53 (pour revue MDM2 est une protéine ubiquitine-ligase du type RING finger qui entraîne la dégradation de p53 par le protéasome de manière ubiquitine dépendante. L'ubiquitination des lysines en C-terminal par MDM2 entraîne le catabolisme de p53. MDM2 inhibe également les capacités transactivatrices de p53 en empêchant le recrutement de protéines co-activatrices. En dehors de tout stress cellulaire, p53 est maintenue inactive principalement grâce à l'action de MDM2. En condition de stress cellulaire p53 est phosphorylée avec pour conséquence une diminution de l'affinité de MDM2 sur p53. L'accumulation de p53 sous forme de tétramère dans les noyaux cellulaires permet à p53 de se stabiliser et de jouer son rôle

## CHAPITRE I : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

---

de-transactivateur. La protéine p53 active alors de nombreux partenaires tel que p21, impliqués dans l'arrêt du cycle cellulaire, des protéines pro-apoptotiques (PUMA, BAX), des protéines impliquées dans la réparation de l'ADN, et dans la sénescence. De manière intéressante, p53 active la transcription de MDM2 créant ainsi une boucle de régulation négative de l'activité de p53. (Shvarts A, 1997) MDM4 est également un inhibiteur de p53. Il se fixe au domaine de-transactivation de p53 et limite l'accès aux co-activateurs de p53. Les rôles respectifs de MDM2 et MDM4 semblent non redondants et MDM2 aurait un rôle principal de contrôle de l'apoptose induite par p53 alors que MDM4 aurait un rôle de régulation de la prolifération cellulaire. Néanmoins, la participation respective de chacun des partenaires dans l'atténuation de la voie p53 reste à élucider. Il semble par contre assez clair que MDM2 module l'activité de p53 en contrôlant principalement sa stabilité et que MDM4 joue un rôle d'antagoniste de l'activité transcriptionnelle de p53.

MDM2 et MDM4 sont deux importants oncogènes retrouvés amplifiés chacun dans 10% des tumeurs et leur surexpression est corrélée avec une inhibition de la voie de p53. Dans ce contexte, la participation des membres de la famille des Murine-Double Minute a été suspectée dans la tumorigénèse du rétinoblastome où les clones tumoraux n'ont jamais été trouvés invalidés pour TP53. L'amplification de MDM4 a été montrée comme facilitant la transformation des cellules rétinienne ayant perdu les deux copies de RB1 vers un stade plus immature (Laurie, N. A et al, 2007)

L'inhibition de la voie p53, pourrait donc être un événement essentiel dans le développement tumoral. Des événements supplémentaires à la perte de RB1, mettant en jeu différents partenaires tels que MDM2 et MDM4, semblent donc nécessaires au développement tumoral. Il est donc probable que ces partenaires soient capables de moduler le développement tumoral et ainsi avoir une action sur le phénotype observé chez les patients, phénotype caractérisé par le nombre de rétinoblastomes.

### II-6-Conseil génétique

Le risque de récurrences tardives, de complications thérapeutiques, ou d'un deuxième cancer dans les formes bilatérales impose une surveillance à long terme.

## CHAPITRE I : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

---

La surveillance ophtalmologique comporte la surveillance des yeux traités, le contrôle systématique des yeux controlatéraux pour les rétinoblastomes unilatéraux et la surveillance des sujets à risque.

Le conseil génétique a pour but d'informer les sujets atteints et leurs apparentés du risque pour leur descendance de développer une tumeur, et de déterminer les enfants qui doivent être surveillés pour permettre un traitement précoce.

Le calcul de risque repose sur les règles de la dominance autosomique avec pénétrance du gène de 90%.

### **II-6-1- Formes familiales :**

- Sujet atteint, ayant un parent ou un premier enfant atteint : le risque pour sa descendance de développer une tumeur est de 45%.
- Sujet non atteint, ayant un parent et un germain atteint : la probabilité d'être porteur asymptomatique étant de 9%, le risque global pour sa descendance est d'environ 4%.

### **II-6-2- Formes sporadiques bilatérales :**

- Sujet atteint, le risque pour sa descendance sera de 45%.
- Parent ayant un 1er enfant atteint : il y a un risque pour qu'un des parents soit porteur d'une mutation non exprimée avec un risque pour une grossesse ultérieure de 5%.

### **II-6-3- Formes sporadiques unilatérales :**

- Sujet atteint : le risque pour la descendance est estimé à 5%.
- Pour les parents : le risque d'avoir un RB pourrait être de l'ordre de 1%. (Chefchaoui MC. et al, 2004).

## CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

### II-1-Population d'étude

Notre travail a été réalisé durant notre stage effectué au Service d'Anatomie Pathologique du CHU Mustapha sur une période de cinq (05) mois allant de mai 2014 à Aout 2014. Ce travail consiste en une étude rétrospective s'étendant sur 3 années (2011 – 2013) et prospective sur une année (2014). Les patients proviennent de tout le territoire national.

La population d'étude était constituée de 48 globes oculaires, dont 25 garçons et 23 filles, provenant des différents services de CHU Mustapha.

### II-2-Matériels non biologiques

Appareillage	Matériel et verreries	Réactifs	Kit d'immunohistochimie
<ul style="list-style-type: none"> <li>– Bain-marie</li> <li>– Microtome</li> <li>– Agitateur (AGIMATIC-S)</li> <li>– Etuve</li> <li>– Appareil d'inclusion</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Lame d'étalement</li> <li>– Lames silanisées</li> <li>– Panier de lames</li> <li>– Micropipettes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Formol a 10%</li> <li>– Ethanol a 80, 90 et 100 %</li> <li>– Eau distillée et eau de robinet</li> <li>– Paraffine</li> <li>– Hématoxyline</li> <li>– Eosine</li> <li>– Xylène</li> <li>– Eukitt</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Solution de PH (9, 6)</li> <li>– Eau oxygénée</li> <li>– Solution d'anticorps Iaire (spécifique) :</li> <li>– AC anti P53, AC anti ki67, AC Anti pS100, AC anti CD 43.</li> <li>– Solution PBS (phosphate buffered saline): chlorure de sodium, phosphate disodique, phosphate monopotassique et un peu de chlorure de potassium.</li> <li>– Solution d'anticorps C secondaire</li> <li>– Solution DAB chromogène</li> <li>– Hémalin</li> <li>– Ammoniaque</li> </ul>

**Tableau 3 :** Matériel non biologique

### **II-3- Etude anatomopathologique**

#### **II-3-1- examen macroscopique**

Les pièces sont reçues fixées au formol afin d'éviter l'autolyse du tissu. D'abord, on commence par la description du globe oculaire : aspect externe, la taille du globe, les remaniements (calcification,...) puis on passe au prélèvement.

#### **II-3-2-prelevement**

Le globe oculaire doit être inclus en totalité. La coupe macroscopique doit passer par la papille. Les prélèvements sont mis dans des cassettes numérotées pour chaque patient.(Annexe 2,figure 43)

#### **II-3-3-Etude histologique ( étapes pré-analytique)**

##### **II-3-3-1- Fixation**

Réalisée grâce à un agent fixateur, le formol, qui préserve les tissus en immobilisant leurs structures, inhibe l'autolyse tissulaire et donc leur altération et entraîne un durcissement des tissus permettant la confection des coupes. La fixation est effectuée par immersion des échantillons durant 48h, dans du formol à 10% (9 volumes d'eau distillé pour 1 volume de formol à 37%).

##### **II-3-3-2-Circulation**

La fixation permet d'obtenir une rigidité au prélèvement, mais qui demeure insuffisante, pour les durcir davantage, l'imprégnation par de la paraffine est nécessaire.

La paraffine liquide n'est pas miscible à l'eau dont les tissus sont imprégnés et ne pourra donc pas les pénétrer. Pour y remédier, les tissus doivent passer dans des liquides intermédiaires miscibles entre eux, à l'eau et à la paraffine. Ce passage dans des liquides intermédiaires constitue l'étape appelée circulation qui dure 24h. La circulation est réalisée en 3 phases : la déshydratation, l'éclaircissement et l'imprégnation.

Toutes ces étapes sont réalisées grâce à un circulateur automatique (LIECA TP 10 20) (**figure 7**) appelé « autotechnicon » qui comporte un ensemble de 12 bains disposés en cercle qui permet

## CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

---

un transfert automatique toutes les 2h, d'un bain à un autre avec agitation constante du panier contenant les cassettes de prélèvements.

Les cassettes sont plongées tout d'abord dans 5 bains d'alcool (agent déshydratant) de concentration croissante de 70% à 100% pour éviter l'apparition trop rapide d'une distorsion des structures du tissu. Ainsi l'alcool miscible à l'eau va pénétrer dans les tissus tout en chassant l'eau tissulaire. Les cassettes sont ensuite immergées dans 4 bains de xylène (agent éclaircissant) pour éclaircissement. Le xylène miscible dans l'alcool, mais également dans la paraffine, va remplacer dans un premier temps l'alcool dans le tissu, le rendant transparent et dans un second temps, laisser place à la paraffine. Enfin, les prélèvements sont trempés dans 2 derniers bains de paraffine chauffés à 60°C, point de fusion de la paraffine. Les prélèvements sont alors imprégnés par la paraffine liquide.



**Figure 7 :** circulateur automatique (LIECA TP 10 20)

### **II-3-3-3- Inclusion (enrobage)**

Elle consiste à inclure notre prélèvement imprégné dans un bloc de paraffine qui facilite la manipulation, l'entreposage de notre pièce et lui fournit un support externe (forme adaptée à la pince à objet du microtome). Les étapes de l'enrobage sont réalisées grâce à un appareil (leica) (**figure 8**) constitué d'un ensemble modulaire intégré comportant, un circuit chauffé (à 60°C) se terminant par un distributeur d'où s'écoule la paraffine liquide, et une plaque froide. De la

## CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

---

paraffine liquide est versée dans un moule en acier inoxydable. La pièce à inclure est saisie à l'aide d'une pincette et déposée, sur sa surface de coupe, dans le moule puis la paraffine liquide est réservée sur la cassette afin qu'elle adhère à la pièce. Enfin, le moule est remis sur la plaque froide pour que la paraffine durcisse (15 min). Le bloc obtenu est démoulé puis congelé pour accélérer le durcissement de la paraffine.



**Figure 8** : Appareil d'inclusion

### II-3-3-4- Microtomie

Elle consiste en la confection à partir d'un bloc, de coupes minces de 3  $\mu\text{m}$  d'épaisseur à l'aide d'un microtome (**figure9**).

Le bloc est introduit par son support, dans la pince à objet du microtome (LEICA 2135) est immobilisé grâce à la vis de blocage. La surface du bloc doit être verticale, parallèle et ajustée au rasoir (jetable). L'échelle graduée est réglée à 20  $\mu\text{m}$  et la roue motrice est tournée à l'aide d'une manivelle, ce qui entraîne un déplacement vertical du bloc pour le mettre en contact avec le rasoir. Cela permet d'enlever l'excès de paraffine qui recouvre le tissu. Cette opération nécessaire pour la confection des coupes minces est appelée rabotage.

## CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

---

Une fois le rabotage terminé, la coupe débute, après avoir réajusté l'échelle à 3 $\mu$ m. la paraffine fond légèrement sous l'action de la chaleur produite par le frottement avec le rasoir ce qui permet aux coupes d'adhérer les unes aux autres et de former un ruban.



**Figure9:**Microtome

### II-3-3-5- 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 sur des lames mouillées comportant le numéro de la pièce puis sont mises sur une plaque chauffante réglée à 60°C(**figure 10**) et les plis sont enlevés grâce à des aiguilles. Les lames sont par la suite placées dans un panier pour lames et séchées à 60°C dans une étuve pendant 20minutes.



**Figure 10 :** Plaque chauffante.

### **II-3-3-6- Etapes préparatoires à la coloration**

Elles servent à préparer la coupe et à recevoir les colorants qu'on veut lui imprégner ; ce sont le déparaffinage et l'hydratation. Le déparaffinage sert à retirer la paraffine des tissus ; pour cela, le xylène dissout le mieux la paraffine. L'hydratation a pour objectif de retirer le xylène du tissu et de la remplacer par l'eau.

Dans l'étuve, la paraffine fond complètement, ce qui facilite le déparaffinage. Une fois la paraffine fondue, les lames sont immédiatement plongées dans un bain de xylène pendant 15 min. elles sont ensuite immergées dans 4 bains d'alcool (2min chacun) de concentrations décroissantes. Après le dernier bain d'alcool, les lames sont rincées dans un bain d'eau du robinet.

### **II-3-3-7- Coloration à l'Hématoxyline et à l'Eosine**

Suivant les recommandations du technicien expérimenté du laboratoire, quelques modifications ont été apportées au protocole de coloration.

Pour la coloration, une batterie de colorants et de réactifs est utilisée, 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.

## CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

---

**II-3-3-8- Montage :**Opération qui consiste à fixer une lamelle sur une coupe histologique en imprégnant celle-ci d'une colle synthétique, ce qui confère une protection contre les bris mécaniques et la dégradation chimique des colorants.

Une lamelle (24 x 40mm, 24 x 50 mm, 24 x 60) est fixée sur la coupe histologique en appliquant une goutte de colle (EUKITT) et quelques gouttes de xylène pour aider à la diffusion de la colle sur toute la surface que recouvre la lamelle. A l'aide d'une pincette, les bulles d'air emprisonnées entre lame et lamelle sont chassées. Les lames sont ensuite séchées à l'air libre.

### **II-3-3-9- Préparation histologique**

La lecture des lames est effectuée au grossissement (X 100, X 400, et X 1000). L'Hématoxyline colore les noyaux en bleu. L'éosine colore le cytoplasme en rose.

### **II-3-4-Etude immunohistochimique**

C'est une technique d'analyse permettant de détecter et quantifier une protéine par l'utilisation d'un anticorps spécifique de l'antigène que l'on étudie.

La révélation se fait en générale par méthodecolorimétrique, l'intensité de la coloration étant proportionnelle au niveau d'expression de la protéine étudiée. ( Ki 67 ; P53 ; CD34 ; PS100).

#### **II-3-4-1- Principe** (Annexe 2, figure 44)

Le principe d'une réaction immune histochimique repose sur quatre éléments essentiels :

- La préparation du tissu contenant l'antigène a étudié.
- Un anticorps primaire dirigé contre l'antigène recherché
- Un anticorps secondaire couplé à la biotine.
- Le système révélateur représenté par le complexe streptavidine-biotine couplée à une enzyme, la peroxydase qui sera révélée par le substrat chromogène ; la DAB qui donne la coloration marron ce qui permet de visualiser l'immunoréaction (**Boumad 2010**)

## CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

---

### II-3-4-2-Mode opératoire

Le marquage immunohistochimique est effectué par plusieurs étapes :

#### 1- Préparation des lames :

- Déparaffinage des lames par passage dans 2 bains de xylène (5 minutes chacun), puis dans 3 bains d'alcool 96°-80°-70° (5 minutes chacun) puis laver dans l'eau distillé pendant 5 minutes.

-Démasquage antigénique : les lames sont immergées dans du tampon Tris-EDTA buffer, pH 9.0 et incuber dans un bain marie pendant 40 minutes.

- refroidissement sur paillasse pendant 20 minutes.

- Transfère du portoir dans un bac d'eau distillé (5 minutes) puis on effectue undeuxième lavage par l'eau distillé (5 minutes).

- Lavage en TBS (5 minutes)

#### 2-Immunomarquage

-les fragments déposés sur les lames ont été encerclés par un gel hydrophobe (Dakopen) pour empêcher les anticorps de diffuser sur toute la lame.

- Le blocage des peroxydases endogènes par incubation dans du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 30% pendant 10 minutes.

- Rinçage à l'eau distillée.

- Application suffisante des gouttes des anticorps pendant 30 minutes dans une chambre humide à température inférieure à 25°C.

- Immersion ensuite dans le PBS pendant 5 minutes.

- Application suffisante des gouttes de l'anticorps secondaire, BIOTINYLATED-LINK.

- Rinçage dans un bain PBS à pH= 7.4 pendant 5 minutes.

- Application suffisante des gouttes de réactif (STREPTAVIDINE –HRP) pendant 10 minutes.

- Application suffisante du substrat chromogène DAB (3,3 diamino-benzidine).

## CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

---

- Apres le virage de la couleur brune entre 3 et 5 minutes, la coloration a été stoppée par immersion des lames dans un bac contenant de l'eau distillé pendant 5 minutes.

### **3-La contre coloration à l'hématoxyline**

Les lames ont été incubées dans une solution d'hématoxyline de Mayer pendant 5 minutes, puis elles ont été rincées dans un bain d'eau distillée.

- Trempage à dix reprises dans un bain ammoniacé (0.037mol/l).

- Rinçage à l'eau courante pendant 5 minutes.

- Trempage dans l'alcool à 90° puis à 100° puis dans le xylène.

- Montage entre lames et lamelles se fait avec le milieu de montage identique à celui de la technique histologique de routine.

- Observation à la microscopie optique.

### **4-Lecture**

L'intensité de la coloration brune a été évaluée comme indicateur de l'expression Ki 67 ; P53 ; CD 34 ; PS100.

# DISCUSSION

---

Le RB est une tumeur embryonnaire d'origine neuro –ectodermique hautement maligne touchant essentiellement le nourrisson et le jeune enfant.

Son pronostic est favorable si un diagnostic précoce et une prise en charge adéquate ont été adoptés. Ceci est rendu possible grâce aux nouvelles méthodes thérapeutiques (**Desjardins 2004**), et aux recherches génétiques essentiellement dans les formes familiales.

Dans ce travail, nous étudions les différents facteurs pouvant influencer le pronostic, à travers une analyse rétrospective et prospective de 48 dossiers de patients atteints de RB.

## **I- Paramètres épidémiologiques**

### **1-Fréquence**

Le RB avec 33,1% occupait le 2ème rang après les lymphomes (39,1%) parmi les tumeurs solides malignes diagnostiquées dans la série de Sidibe H du Mali 2009.

Dans une étude réalisée par J.F. Peko, parmi les tumeurs solides malignes de l'enfant, diagnostiquées dans le service d'anatomie pathologique du CHU de Brazzaville, le RB occupait également le 2ème rang après les lymphomes. (**Peko F, 2004**)

Kargougou. R au Burkina Faso, dans sa série le rétinoblastome occupait le 2ème rang après le carcinome (31,5%) (**Kargougou R, 1998**)

A. Kansaye dans son étude le rétinoblastome a été la tumeur maligne la plus fréquente avec 28 cas soit 21,54% (**Aïssata. K, 2002**)

Dans notre série on remarque une augmentation importante du nombre des malades chaque année.

Ces résultats témoignent de la fréquence élevée du rétinoblastome dans les pays en voie de développement.

### **2- le Sexe et l'âge**

Une presque égalité entre filles et garçons est notée dans notre série avec une prédominance légèrement masculine (sexe ratio est de 1.08). L'âge, il varie de 1 mois à 5 ans avec une moyenne de 1 année et une médiane de 2 ans. La tranche d'âge comprise entre 1-2 ans était la plus touchée, soit 45,83% des cas.

# DISCUSSION

---

Aska, avait trouvé une prédominance masculine nette (sexe ratio à 2,2) et l'âge moyen était de 2,5 ans (3 mois à 60 mois) (Aska, 2003) et Kargougoua trouvé des extrêmes d'âge allant de 1 à 7 ans avec une prédominance du sexemasculin (sexe ratio a 1.4), ce qui concorde avec nos résultats.

Delage cependant dans son étude sur 20 rétinoblastomes n'adiagnostiqué 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. Alors que Aziz et al (2012) aux États Unis rapportent que 79% de leurs patients étaient diagnostiqués avant l'âge de six mois. (Aziz HA, 2012), ce fait est dû en effet, à la précocité du diagnostic dans les pays développés.

L'âge moyen à la première consultation était de 40 mois avec des extrêmes de 3 mois à 5 ans. Il s'agissait de 40 filles (70,2%) et 17 garçons (29,8%). dans la série de Giles K du Cameroun 2013.

L'âge moyen était de 36 mois pour Hassan en Egypte et Kaye au Congo, 38 mois pour Daghfous en Tunisie et 48 mois pour Zomahoun en Côte d'Ivoire. Il en résulte que les enfants sont vus à un âge plus tardif en Afrique. Ce qui contribue à l'évolution fatale de la maladie.

### 3-Siège de la tumeur

Dans notre série, on a trouvé une prédominance unilatérale avec 92% dont l'œil droit est atteint dans 20 cas (42%), et l'œil gauche est atteint dans 24 cas (50%). contre 8% des cas bilatéraux, comme cela a été rapporté dans les séries suivantes :

C. Doutetien, avait trouvé 62,5% de forme unilatérale (l'œil gauche et droite) dans leur étude.

L'observation de 32 enfants ont été incluses dans l'étude de A. El Kettania et al : 18 rétinoblastomes unilatéraux (56 %) et 14 rétinoblastomes bilatéraux (44 %).

L'atteinte était unilatérale chez 50 patients (87,7%) et bilatérale chez 7 patients (12,3%) dans la série de Giles K du Cameroun.

Sidibe H du Mali avait trouvé que l'œil gauche était le plus atteint avec 49,1% contre 40% de l'œil droit, 10,9% de forme bilatérale.

## II- Paramètres cliniques

# DISCUSSION

---

Parmi les signes cliniques du rétinoblastome, la leucocorie a été retrouvée chez tous les patients alors que le strabisme a été noté chez deux patients seulement. Ceci se rapproche des données des séries publiées dans la littérature. En effet, N. Oussedi K, décrit la leucocorie comme signe le plus fréquent avec 68%. Pour Giles Camerone, la leucocorie représente 67.2% des cas et le strabisme 8.7%. Par contre, C. Doutetien, au C.N.H.U de Cotonou l'exophtalmie était la plus fréquemment rencontrée, soit 54,5% des cas, suivie de la leucocorie (38,2%), du strabisme (5,5%), et de la buphtalmie (1,8%). Comme cela a été rapporté dans l'étude de A.S.Ka, au Sénégal où l'exophtalmie a été le signe d'appel le plus fréquent (1/2 cas).

Dans notre série, le RB est découvert à un stade avancé, (stade V de la classification de Reese Ellsworth.) le seul rencontré soit 100% de cas, ceci se rapproche des données des séries publiées soit la série de Sidibe H du Mali avec 95,7% de cas, et la série de C. Doutetien, au C.N.H.U de Cotonou avec 63,6% des cas.

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, et à l'habitude de consulter d'abord le tradithérapeute.

### **III-Etude anatomopathologique**

Dans notre étude la choroïde est atteinte chez 42% des patients, alors que dans l'étude de H. Bouguila 2001 tunisie la choroïde est atteinte chez 30%, La sclère est touchée chez 13% de nos patients, parmi eux seulement un patient a eu une extension extra sclérale. ce qui concorde à la série de Giles K du Cameroun avec une invasion scléro-orbitaire de 14,3%. Et la série de H. Bouguila 2001 avec 11% des cas.

La chambre antérieure de la majorité de nos 48 cas est saine, elle est atteinte chez 4% seulement. La cavité vitrée est touchée chez 19% des patients.

Dans notre série 32(67%) patients ont un nerf optique sain et 13(27%) ont un nerf optique atteint dont 15% invasion pré laminaire, 3% d'invasion rétro laminaire, 6% d'invasion de tranche de section et 6% coupé au ras, ce qui concorde à la série de Giles K du Cameroun qui a trouvé 85.7% d'invasion du nerf optique. Et ce qui ne concorde pas avec la série de H. Bouguila 2001 tunisie soit 27,7%.

# DISCUSSION

---

La calcification est présente chez 27 % de nos patients. Et la vascularisation est présente seulement chez 4 patients.

Le degré de différenciation est peu à moyennement élevée chez notre série, alors que dans l'étude de Giles K du Cameroun il a trouvé 92% de tumeur non différenciée

L'extension tumorale intra oculaire était majoritaire avec 98% des cas dans notre étude, comme cela a été rapporté dans la série de Sidibe H du Mali avec 94.5% et dans la série de Giles K du Cameroun avec 73.7%.

La technique d'immunohistochimie a été réalisée chez 4 patients seulement dont on a trouvée tous les marqueurs (Ki67, P53, PS100, CD34) positifs.

Quand le KI67 est exprimé de façon intense et diffuse et la P53 est faiblement positive il y'aura donc une absence d'apoptose et une progression tumorale.

## VI-Définition des critères de risque histologiques(SIOP 2001)

### 1. Critères de risque élevé

Certains critères histologiques sont uniformément admis comme exposant à un haut risque de récurrence:

- envahissement de la tranche de section du nerf optique et/ou de ses gaines méningées (**Stannard et al, 2001**)
- envahissement microscopique des tissus mous de l'orbite par franchissement de la sclère.

Ces deux critères de risque soulignent l'importance d'une énucléation effectuée par un chirurgien entraîné avec une section suffisamment postérieure du nerf optique intraorbitaire et l'absence de point perforant du globe oculaire.

### 2. Critères de risque moyen ou faible

Les autres critères de risque ne font pas l'unanimité. L'envahissement de la choroïde même minime a pu être décrit comme exposant à un haut risque de récurrence (**Shields,1993**) alors que, pour d'autres auteurs, un envahissement choroïdien même massif ne doit pas faire indiquer de traitement adjuvant .

De plus, la définition et la quantification de l'envahissement choroïdien sont difficilement reproductibles d'une étude à l'autre et justifient une relecture centralisée des données lors de l'inclusion dans une étude prospective multicentrique. L'expérience rapportée de l'Institut Curie (**Khelifaoui F, 1996**) est en faveur de l'absence de traitement adjuvant en cas d'envahissement choroïdien minime et d'une chimiothérapie adjuvante exclusive en cas d'envahissement choroïdien massif avec ou sans envahissement intrascléral, ou du segment antérieur.

La chimiothérapie adjuvante paraît indiquée dans ce cas, incluant aussi les atteintes intralaminaires (Khelifaoui). Par contre, l'atteinte prélaminaire du nerf optique ne paraît pas être un facteur de risque de récurrence (Khelifaoui).

## DISCUSSION

---

Il faut noter que l'ensemble des auteurs signale que l'association d'un envahissement choroïdien et d'un envahissement rétrolaminaire du nerf optique constitue incontestablement un facteur de risque justifiant un traitement adjuvant (**Hungerford J, 1993**), (**Khelfaoui F, 1996**), (**Shields,1993**).

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

# CONCLUSION

Le rétinoblastome est une maladie rare mais dont le diagnostic doit être reconnu dès les premiers symptômes (leucocorie, strabisme). C'est le 8ème cancer de l'enfant. C'est une tumeur cancéreuse de l'oeil qui touche les cellules de la rétine.

Relativement simple, le diagnostic reste parfois encore trop tardif. Les signes sont bien connus (reflet blanc dans la pupille ou présence d'un strabisme) et doivent impliquer un examen ophtalmologique dans les meilleurs délais.

Son diagnostic précoce permet de prendre en charge au stade limité à l'atteinte rétinienne et de poser les indications du traitement le plus souvent conservateur.

Les formes graves avec atteinte extra rétinienne et même extra oculaires bénéficient de traitements chimio et radiothérapies qui permettent d'améliorer le pronostic.

Ainsi les atteintes orbitaires et/ou métastatiques par voie hématogène peuvent-elles être aujourd'hui accessibles au traitement

L'objectif de notre travail a été atteint d'une part pour la recherche des facteurs histopronostiques et d'autre part pour la maîtrise de la technique d'immunohistochimie.

Notre étude de 48 cas de rétinoblastome a montré des résultats assez similaires à la plupart des études rapportées dans la littérature. La tranche d'âge comprise entre 1-2 ans était la plus touchée, soit 45,83% des cas, avec une prédominance légèrement masculine (sexe ratio est de 1.08), la localisation unilatérale était majoritaire avec 92% des cas.

La leucocorie est le principal signe d'alarme du rétinoblastome. Bien que les signes d'appel soient identifiables précocement par les parents et le personnel de santé, le diagnostic du rétinoblastome s'est fait tardivement dans notre milieu. L'éducation de la population sur l'importance de ces signes revêt un intérêt capital pour la précocité du diagnostic et de la prise en charge de cette tumeur. Tout strabisme congénital et la leucocorie doivent faire suspecter un rétinoblastome jusqu'à preuve du contraire.

Le pronostic vital du rétinoblastome dépend essentiellement de l'extension extra rétinienne. Il peut être amélioré par un diagnostic plus précoce et une meilleure prise en charge des formes extra rétiniennes qui doivent bénéficier d'un traitement complémentaire énergique (chimiothérapie et/ou radiothérapie). Enfin, l'ouverture d'un registre national du rétinoblastome est indispensable pour planifier et coordonner la prise en charge des patients.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Abouzeid H, Munier F.L, Thonney F, Schorderet D.F, 2007:** Ten novel RB1 gene mutations in patients with retinoblastoma. *Molecular vision*; 13:1740-5; PMID 17960112
- Aïssata. K, 2002 :** Tumeurs orbito-oculaire à l'institut d'ophtalmologie tropicale del'Afrique. Thèse de médecine, Bamako P55-56.
- Alberts B, Bray D, Hopkin K, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P., 2004 :** *Essential cellbiology*. Ch. 18, Cell-cycle control and cell death. P. 629-631
- Aska, P.Imbert, C.Morevia, A.Niang, G.Banjant, M.N.Seye, P.Guyon, 2003:**Rétinoblastome *Med Trop.*; 63: 521-526.
- Aziz HA, Lasenna CE, Vidoga M, Fernandes C, Feuer W, Aziz-Sultan MA, Murray TG, 2012:** Retinoblastoma treatment burden and economic cost: impact of age at diagnosis and selection of primary therapy: *ClinOphthalmol*; 6: 1601-6.
- Behar-Cohen F, Kowalczyk L, Keller N, Savoldelli M, Azan F, Jeanny J.-C, 2009** Elsevier
- MBlanquet Veronique, Jean de Grouchy, 1991.** Le rétinoblastome théorie de knudson in *biologie des cancers*, ellipsesasson SAS.
- Boubekour Amina, Lotfi Louhibi, Khadidja Mahmoudi, Abdallah Boudjema, Nadhira, 2012 :** Mehtar 1 Étude moléculaire du rétinoblastome dans la population algérienne. Recherche de mutations du gène Rb au niveau constitutionnel et tumoral Volume 99 • N° 2. *Bulletin du cancer*.
- Bouguila H. , I. Malek , C. Boujemâa, M. Mouelhi , F. Daghfous , L. Nacef , S. Ayed, 2001 :** Service du Pr S. Ayed, Institut Hédi Raïes d'Ophtalmologie de Tunis, Bab Saadoun, Tunis. Le pronostic du rétinoblastome À propos de 50 cas *Journal Français d'Ophtalmologie* Vol 24, N° 10 - décembre pp. 1053-1056
- Brooks, C. L., M. Li et GU W, 2007 :** Mechanistic studies of MDM2-mediated ubiquitination in p53 regulation. *J Biol Chem* 282(31): 22804-22815.
- Chefchaoui MC, Essissenf L, Sefe RL Aoui A, 2004 :** Prise en charge du rétinoblastome *Oncologie pédiatrique*, 80-84 . 30
- Chiesa C., 2005 :** Petite approche rédigée par Carlo Chiesa.
- Couf A, 2013 :** Collège des Ophtalmologistes Universitaires de France

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Daghfous M.T, Trikif, Matril, Ayeds, 1986:**Retinoblastomehérité.Bull societpanafr. Ophthalmol, 10, 31-37.
- Delage S, Grange J.D, al., 1993 :**Analyse rétrospective de 20 cas rétinoblastomes.Bull.Soc.Opht.France, 8-9, XCIII: 735-44
- Desjardins L, Couturier J,Doz F,Gauthiers-Villars M,Sastres X, 2004 :**Tumeurs de la rétine. Encyclopédie Médico-Chirurgicale 21-249-A-30
- Desjardins L. Putterman M.,1991 :**Tumeur de la rétine encyl.Med.Chir (Paris. France) ophtalmologie,21-246-A-30-8p.
- DoutetienC ,G.Oussa, M.Babagbeto, S.K Bassabi, 1999 :**Le rétinoblastome au C.N.H.U de Cotonou (à propos de 24 cas).Le Bénin Médical N°12-13 p106.
- Doz F., 2006 :**Rétinoblastome : aspects récents, archives de pédiatrie. 1329–1337
- Du, W. et. Searle J. S, 2009:"**The rb pathway and cancer therapeutics." Curr Drug Targets 10(7): 581-589.
- Jeff L, 2013:**Optic nerve - Definition
- Hassan S.A, Massoud A.A, Hussain G.H., 1992:**Rétinoblastome in upper Egypt (1981-1991)Sandi j ophthalmol; 6; 1. 32-38.
- Haye C. Desjardins.L, Schlienger.P, Zucker J, Laurent M, 1987 :**Rétinoblastomes bilatéraux stade V à l'institut curie (à propos de 33cas) ophtalmol, 2, 235-237.
- Hungerford J, 1993 :**factors influerencing metastasis in retinoblastoma. Br J Ophthalmol 77:541.
- Ismaili N.,1998 :**Retinoblastome A propos de 72 cas.Thèse de médecine n° 198,Rabat.
- GiustrantiCeline, 2010 :** Rétinoblastome.Découverte du premier gène « accélérateur » du développement tumoral.
- Griffiths, Wessler, Lewontin, Gelbart, Suzuki, Miller, 2006:**Introduction à l'analyse génétique. Ch. 17, La régulation génétique du nombre de cellules: les cellules normales et les cellules cancéreuses. P. 549-558 et 564 -565 .
- Kagmeni Giles, Nguefack Félicitée, MonebenimpFrancisca ,Kouogang GabrielNgounouFaustin, KengneKamga Sandrine, Moukouri Ernest,2013 :** Le

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

Rétinoblastome dans la Région de l'Ouest Cameroun : Aspects Cliniques, Histologiques et Thérapeutiques. HealthSci. Dis: Vol 14 (2)

**Kargougou R., 1998** :Les tumeurs orbito-oculaires au Burkina Faso :Aspects anatomopathologiques, épidémiocliniques et thérapeutiques (à propos de 169 cas colligés de 1983 à 1997),Thèse Mèd. Ouagadougou,45.

**Kaya, Gambe C, Agolet. Botakale.E, Ndamba G. 1989** : Recrudescence saisonnière du rétinoblastome au Congo (à propos de 34 cas).Bull. Societ.Panafr, ophtalmol; 2; 25-31.

**Khelfaoui F, Validire P, Auperin A, Michon J, Pacquement H, Desjardins L, Asselain B, Zucker JM, Doz F, 1996**:Histopathological risk factors in retinoblastoma: a retrospective study on 172 patients treated in single institution. Cancer, 77: 1206-1213.

**Laurie, N. AC, Schin-Shih et Dyer M. A, 2007**:"Targeting MDM2 and MDMX in retinoblastoma." Curr Cancer Drug Targets 7(7): 689-695. 29

**Laurie, N. A., S. L. Donovan, C. S. Shih, J. Zhang, 2006**:"Inactivation of the p53 pathway in retinoblastoma." Nature 444(7115): 61-66.

**Linn Murphree, A., 2005**: "Intraocular retinoblastoma: the case for a new group classification." OphthalmolClin North Am 18(1): 41-53,

**Lohmann, D. R., 1999**: "RB1 gene mutations in retinoblastoma."Hum Mutat 14(4): 283-288

**Oussedik N, N.Chemri, F.Gachi, El Haffaf, 2002** :Epidémiologie du rétinoblastome en Alger.Bull soc.pathol, Exot, 85, 3,115-120.

**Opticien Perrier, 2013** : Anatomie de L'œil et défauts visuels.

**Pacal, M. et Bremner R, 2006** : "Insights from animal models on the origins and progression of retinoblastoma." Curr Mol Med 6(7): 759-781.

**Peko J.F. , G.Moyen et C.GombeMbalawa, 2004** :Les tumeurs solides malignes de l'enfant à Brazzaville :Aspects épidémiologiques et anatomopathologiques.Bull soc.pathol.Exot, 97, 2, 117-118.

**Phelps, W. C., K. Munger, C. L. Yee, J. A. Barnes, 1992**: "Structure-function analysis of the human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein." J Virol66(4): 2418-2427.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Sadouki R et Sadouki I, 2002** : étude génétique du rétinoblastome. université des science et de la technologie houari boumediene .

**Shields CL, Shields JA, Baez K, Cater JR, Potter P , 1993**:choroidal invasion of retinoblastoma: metastatic and clinical risk factors. Br J Ophtalmo 77:544-548

**Shvarts A, BazuineM, DekkerP, RamosY. F, 1997**: "Isolation and identification of the human homolog of a new p53-binding protein, Mdmx." Genomics 43(1): 34-42.

**SidibHamadi, 2009** : Etude des aspects epidemio-climiques du rétinoblastome dans le service de pediatrie de CHU Gabriel toure pour l'obtention du grade de Docteur en Médecine. Faculté de Médecine. Mali

**Stannard, Zelter, Schwartzman, Howarth, Freeman, Rootman, Khelfaoui,2001** : evaluation d'une adaptation du protocole therapeutiquepostoperatoire aux facteurs de risqué histologique dans les retinoblastomesunilaterauxenuclees d'emblee. Essai RB SFOP.

**Urbietta M., 1999** :Nouvelles stratégies thérapeutiques du rétinoblastome. Mémoirepour l'obtention du diplôme universitaire d'oncologie pédiatrique, Université de paris XI.

**Valery Prevost, Bernard Richoux,2011**:Physique-Chimie 1re S, Nathan

**Zomahoun B., 1992** :Contribution à l'étude du rétinoblastome dans les servicesd'ophtalmologie du C.H.U de cocody (à propos de 19 cas). Mém. CESophtalmol.70p.

# Annexes

---

## Annexe 1

<b>Groupe I</b> a) tumeur unique, < 4 mm de diamètre, sur ou derrière l'équateur b) tumeurs multiples, >4 mm de diamètre, sur ou derrière l'équateur
<b>Groupe II</b> a) tumeur unique, 4–10 mm de diamètre, sur ou derrière l'équateur b) tumeurs multiples, 4–10 mm de diamètre, derrière l'équateur
<b>Groupe III</b> a) toute lésion antérieure à l'équateur b) tumeur unique >10 mm de diamètre derrière l'équateur
<b>Groupe V</b> a) tumeur massive s'étendant à plus de la moitié de la rétine b) dissémination vitréenne

**Tableau 1:** classification de ReeseEllworth.(Linn A, 2005)

## Annexes

---

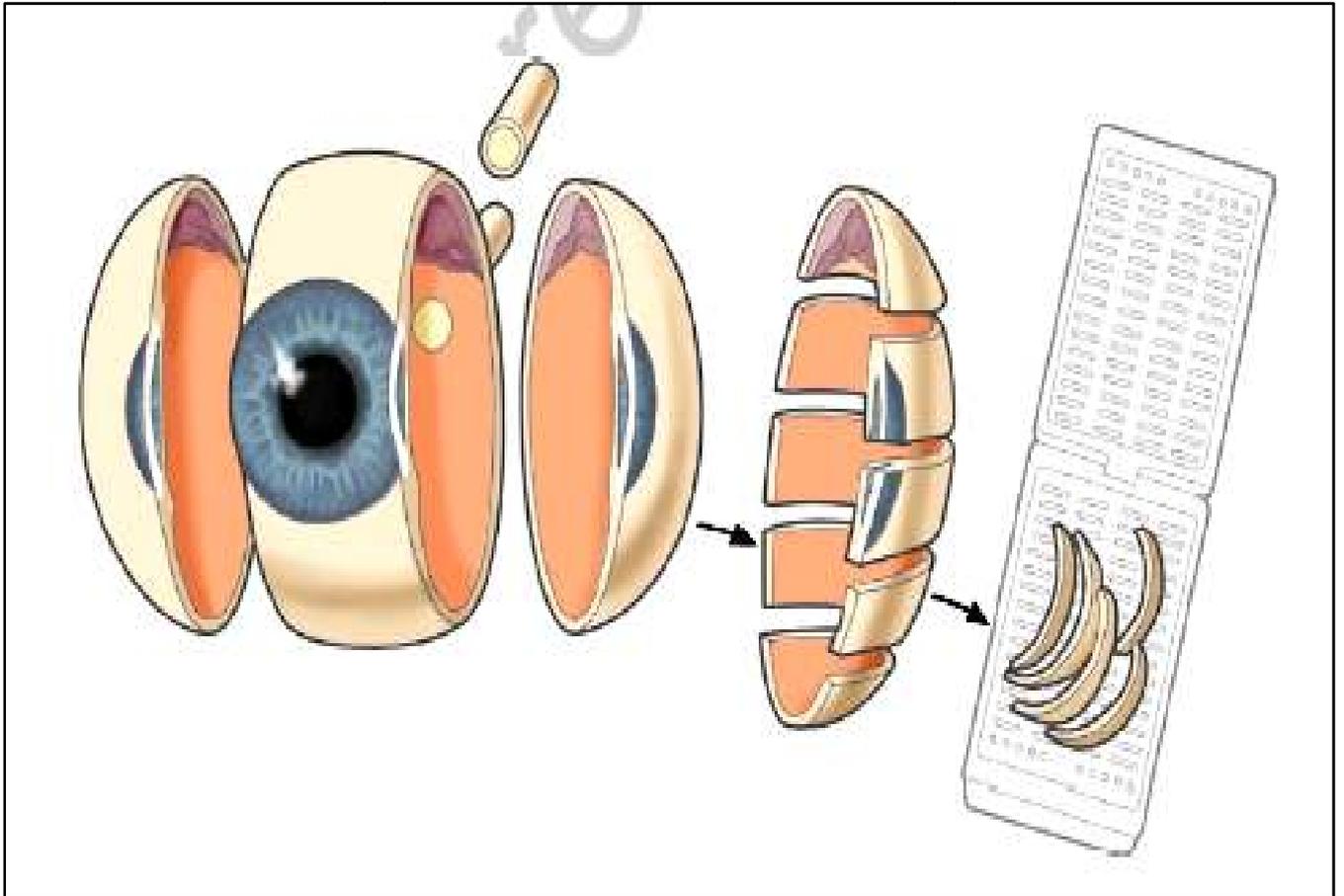
<p><b>Groupe A:</b> petites tumeurs loin de la fovéa et du disque optique</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• tumeurs &lt;3 mm confinées à la rétine</li><li>• localisées à au moins 3 mm de la fovéa et 1,5mm du disque optique</li></ul>
<p><b>Groupe B:</b> Toutes les tumeurs restantes limitées la rétine</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Toutes les autres tumeurs limitées à la rétine et non inclus dans le groupe A</li><li>• décollement séreux rétinien (sans prolifération sous rétinienne) &lt; 3 mm de la base de la tumeur</li></ul>
<p><b>Groupe C:</b> prolifération locale dans les fluides sous-rétiens ou dans la vitrée</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• décollement séreux rétinien seul &gt;3 mm and &lt; 6 mm de la tumeur</li><li>• prolifération vitréenne ou sous-réтинien à &lt; 3 mm de la tumeur</li></ul>
<p><b>Groupe D:</b> fluide sous rétinien diffus ou prolifération</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• fluide sous rétinien &gt; 6 mm de la tumeur</li><li>• prolifération vitréenne ou sous-réтинiens à &gt; 3 mm de la tumeur</li></ul>
<p><b>Groupe E:</b> présence d'au moins un ou plusieurs marqueurs de mauvais pronostic pour la conservation oculaire</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Plus des 2/3 du globe sont infiltrés par la tumeur</li><li>• Tumeur dans le segment antérieur ou antérieur à la vitrée</li><li>• tumeur dans ou sur le corps ciliaire</li><li>• Néovascularisation de l'Iris</li><li>• Glaucome néovasculaire</li><li>• Plage opaque hémorragique intravitréenne</li><li>• Tumeur nécrotique avec une cellulite orbitale aseptique</li><li>• phtise du globe</li></ul>

**Tableau 2:** classification ABC(Linn A, 2005)

# Annexes

---

## Annexe 2

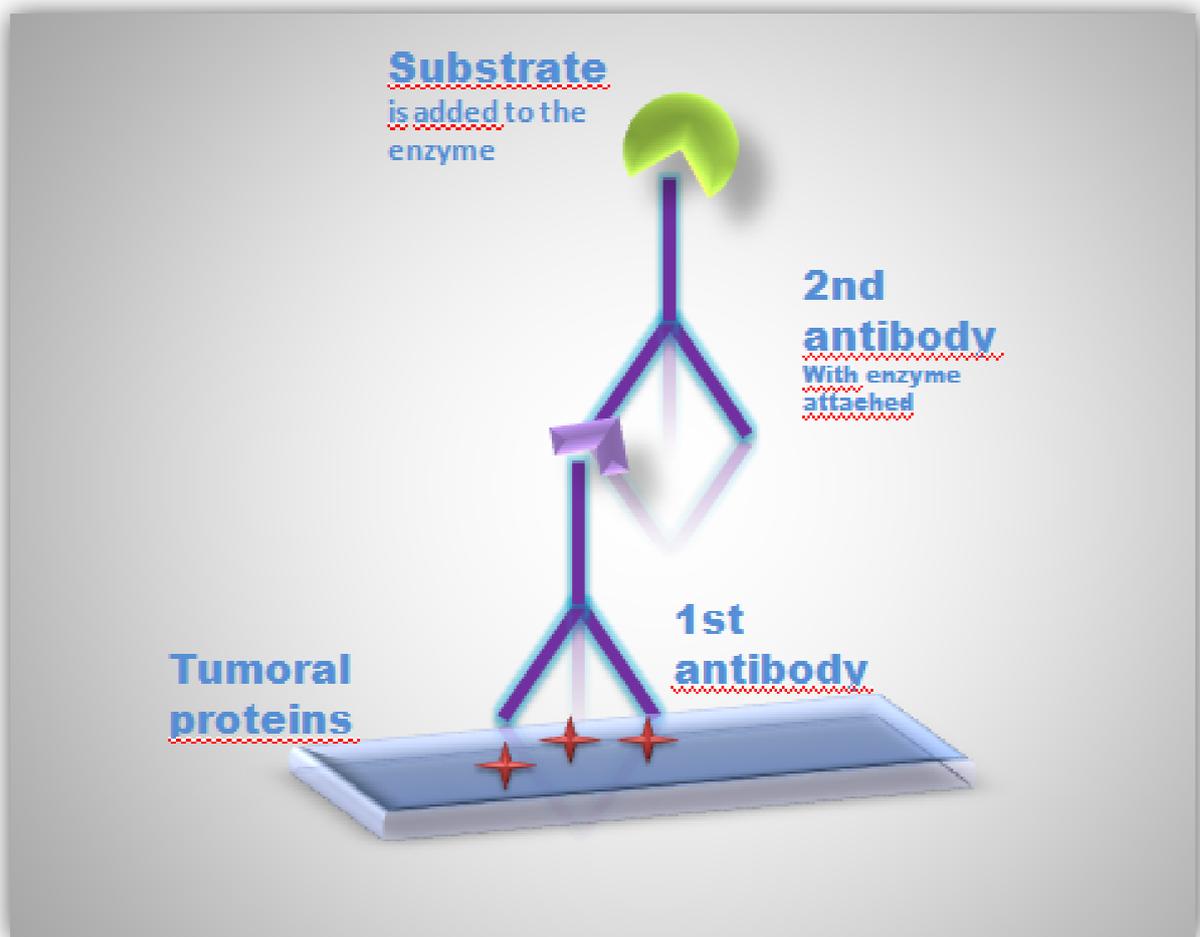


**Figure 43** :la coupe du globe oculaire.

# Annexes

---

## Annexe 2



**Figure 44** : Schéma présentant le principe de la technique d'immunohistochimie.

## ANNEXES 3

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	-	+	rétrolaminaire	-	+	-	-	Intermédiaire
9775/11	F	5 ans	+	-	prélaminaire	-	-	-	+	Intermédiaire

**Tableau23** : 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	+	+	rétrolaminaire	-	+	-	-	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 3

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

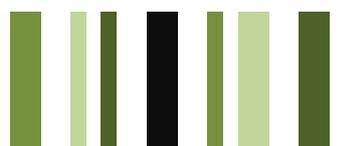
**Tableau23** : Facteurs de Risque histologiques en fonction du recrutement par année , de l'atteinte des tuniques oculaires et du nerf optique.

## ANNEXES 3

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

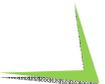
**Tableau23** : Facteurs de Risque histologiques en fonction du recrutement par année , de l'atteinte des tuniques oculaires et du nerf optique.

L 09 1 0 F N





## CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES





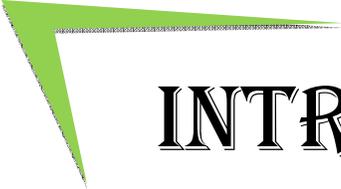
# CHAPITRE I : DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES



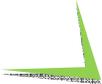


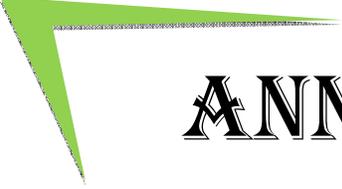
## CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS



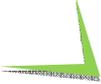


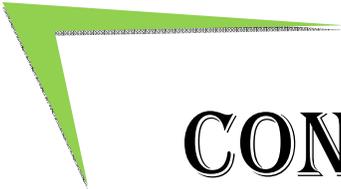
# INTRODUCTION





# ANNEXES





# CONCLUSION

