

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Blida 1  
Faculté des sciences de la nature et de la vie  
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master  
Option : Bio-signalisation cellulaire et moléculaire, Génétique du cancer

**Thème**

**LE NEUROBLASTOME**  
**Etude anatomo-clinique**  
**et facteurs histo-pronostiques**

*Présenté par :*

**DRAI Fadhila      GUEDDOUD Wissam**

Soutenue le : 17 Septembre 2015 devant le jury composé de :

<b>Mme BENAZZOZ .F</b>	Maître assistante	Université de Blida	Présidente
<b>Mme MAMMERI S</b>	Professeur	CHU Mustapha	Examinatrice
<b>Mme HANNACHI. L</b>	Maître de conférences A	CHU Mustapha	Promotrice

2014 – 2015

## Remerciements

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à exprimer notre gratitude et remerciements à :

Notre promotrice **Mme le Pr Hannachi L.** Maître de conférence, au service d'anatomie pathologique du CHU Mustapha Pacha, d'avoir accepté de nous encadrer, et pour son assistance, sa disponibilité et ses encouragements.

Nous remercions **Mme le Dr Benazzouz F.** Maître assistante, à la faculté de biologie, université Blida 1, d'avoir accepté d'assurer la présidence de jury de notre mémoire.

Nous tenons à remercier **Mme le Pr Mammeri.** Maître de conférence, au service d'anatomie pathologique du CHU Mustapha Pacha, d'avoir accepté d'examiner notre mémoire.

Nos sincères remerciements pour **Mme le Pr Amir ZC,** Chef de service d'anatomie pathologique de CHU Mustapha de nous avoir bien accueilli au sein du service.

Nous tenons à remercier **Mme Bouchemla M, Mme Bettioui, Mme Gali** et **Mme Bekhouche** pour nous avoir aidé au sein du laboratoire ainsi que tous les membres de l'équipe et sans oublier les médecins résidents pour leur amabilité et gentillesse.

Un remerciement spécial pour **Mme le Dr Saadi L,** Maître assistante, Chef de département et chef d'option de notre spécialité pour son aide, sa serviabilité et sa sympathie.

## Résumé

Le neuroblastome (NB) est une tumeur maligne primitive pédiatrique, qui touche le système nerveux sympathique. Ce travail est réalisé par deux (02) études : Etude prospective de 6 mois (du 1<sup>er</sup> Janvier 2015 au 30 Juin 2015) sur 7 patients et une Etude rétrospective de 07 ans (1<sup>er</sup> Janvier 2008 à 31 Décembre 2014) sur 45 patients.

Nous avons réalisé une étude épidémiologique, anatomopathologique et étude immunohistochimique pour le marquage de Protéine 53 (suppresseur de tumeur), Ki67, neurone spécifique éolase (NSE) et Protéine S100.

Les résultats obtenus d'immunohistochimie sur 02 patients montrent une expression de Ki67, NSE et PS100 et absence d'expression de P53.

Mots clés : Neuroblastome, Système nerveux sympathique, épidémiologique, anatomopathologique, immunohistochimique.

## **Abstract**

Neuroblastoma (NB) is a pediatric primary malignancy that affects the sympathetic nervous system. This work is carried through two studies: Prospective study of 6 months (January 2015 – June 2015) on 7 patients and a retrospective 7 year study (January 2008 - December 2014) on 45 patients.

Three studies were conducted as follow: an epidemiological examination, an anatomopathological examination, and an immunohistochemical study for the labeling of the protein 53 (tumor suppressor), Ki67 antibodies, neuronal specific enolase (NSE) and the protein S100.

The results of immunohistochemistry from 02 patients show expression of Ki67 antibodies, NSE and PS100 and absence of expression of P53.

**Keywords:** neuroblastoma, sympathetic nervous system, epidemiological, anatomopathological, immunohistochemistry.

## ملخص

المرض الأرومي العصبي وهو ورم ابتدائي يصيب الجملة العصبية الودية عند الأطفال. تم هذا العمل من خلال دراستين: دراسة استطلاعية استمرت ستة أشهر (من جانفي 2015 الى جوان 2015) أجريت على 7 حالات، ودراسة رجعية لـ 7 سنوات (من جانفي 2008 إلى ديسمبر 2014) أجريت على 45 حالة.

أجريت ثلاث تحاليل على النحو التالي: فحص وبائي، فحص باثولوجي تشريحي ودراسة كيموهيستولوجية مناعية لوسم البروتين 53 (الكابت للأورام)، الأجسام المضادة Ki67، إنزيم الإينولاز العصبي والبروتين S100.

النتائج الدارسة كيموهيستولوجية مناعية لمريضين تظهر صياغة للأجسام المضادة Ki67، أيضاً لأنزيم الإينولاز العصبي وغياب لصياغة البروتين P53.

**الكلمات الدالة:** الجملة العصبية الودية. دراسة كيموهيستولوجية مناعية، دراسة نسيجية، فحص باثولوجي تشريحي، المرض الأرومي العصبي.

## Abréviations

- ❖ ACCIS : Automatic Childhood Cancer Information System.
- ❖ AKT : V-akt murine thymoma viral oncogene homolog
- ❖ ALK : Napslastic Lymphoma receptor tyrosine Kinase
- ❖ ATM : Ataxia-Telangiectasia Mutated gene
- ❖ BID : BH3 interacting-domain death agonist
- ❖ BMP : Bone Morphogenetic Proteins
- ❖ CDK : Cyclin – Dependent Kinase
- ❖ CHK2 : Checkpoint kinase 2
- ❖ CKI : Cyclin-dependent kinase inhibitor
- ❖ FGF : Fibroblast Growth Factor (Facteur de croissance des fibroblaste)
- ❖ GN : Ganglioneurome
- ❖ GNB : Ganglioneuroblastome
- ❖ HD : Histologie Défavorable
- ❖ HF : Histologie Favorable
- ❖ IRM : Imagerie par Résonance Magnétique
- ❖ LDH : Lactate Déshydrogénase
- ❖ MAPK : Mitogen – Activated Protein Kinase
- ❖ MAX : Myc Associated factor X
- ❖ MDM2 : Mouse Double Minute 2 homolog
- ❖ MIBG : Scintigraphie à Métaiodobenzyl Guanidine
- ❖ NB : Neuroblastome
- ❖ NGF : Nerve Growth Factor
- ❖ N-MYC : Neuroblastoma-MYC
- ❖ NSE : Neurone Spécifique Enolase
- ❖ P21 : Protéine 21
- ❖ P53 : Tumor Protein 53 kDa
- ❖ PHOX2B : Paired-like Homeobox 2b
- ❖ PUMA : p53 Upregulated Modulator of Apoptosis
- ❖ STAT : Signal Transducer and Activator of Transcription
- ❖ VIP : Vasoactive Intestinal Polypeptide
- ❖ VMA : Acide vanillylmandélique
- ❖ WNT : Wingless-int

## Liste des figures

Figure 1.....	3
Figure 2.....	4
Figure 3.....	4
Figure 4.....	5
Figure 5.....	6
Figure 6.....	8
Figure 7.....	12
Figure 8.....	13
Figure 9.....	14
Figure 10.....	14
Figure 11.....	15
Figure 12.....	17
Figure 13.....	18
Figure 14.....	19
Figure 15.....	20
Figure 16.....	21
Figure 17.....	21
Figure 18.....	22
Figure 19.....	23
Figure 20.....	27
Figure 21.....	27
Figure 22.....	28
Figure 23.....	29
Figure 24.....	30
Figure 25.....	31

Figure 26.....	31
Figure 27.....	32
Figure 28.....	33
Figure 29.....	34
Figure 30.....	35
Figure 31.....	36
Figure 32.....	36
Figure 33.....	37
Figure 34.....	37
Figure 35.....	38
Figure 36.....	39
Figure 37.....	39
Figure 38.....	39
Figure 39.....	40

## Liste de tableaux

Tableau I.....	18
Tableau II.....	26
Tableau III.....	27
Tableau IV.....	28
Tableau V.....	29
Tableau VI.....	29
Tableau VII.....	30
Tableau VIII.....	31
Tableau IX.....	32
Tableau X.....	33
Tableau XI.....	33
Tableau XII.....	38

# Sommaire

## Chapitre I : Données bibliographiques

Introduction .....	1
I- Tumeur neuroblastique .....	2
I- 1. Historique .....	2
I- 2. Epidémiologie .....	2
I- 3. Origine embryonnaire .....	2
I- 4. Carcinogénèse .....	5
I- 5. Localisation .....	5
I- 6. Critères histologiques .....	6
I- 7. Classification .....	6
I- 8. Classification histopronostic .....	6
I- 9. Les manifestations cliniques .....	8
I- 10. Les examens complémentaires .....	9
I- 11. Traitement .....	11
II- Aspect moléculaire du neuroblastome .....	11
II- 1. Amplification de N-Myc .....	11
II- 2. Mutation de ALK .....	13
II- 3. Les gènes du cycle cellulaire.....	15

## Chapitre II : Matériel et méthodes

I- Population d'étude .....	19
II- Matériels non biologiques .....	19
III- Etude anatomopathologique .....	19
IV- Etude immunohistochimique .....	24

## Chapitre III : Résultats et discussion

I- Paramètres épidémiologiques .....	26
II- Paramètres cliniques .....	34
III- Etude anatomopathologique .....	35
VI- Etude immunohistochimique .....	38
Discussion .....	41
Conclusion .....	46

## Références bibliographiques

## Annexes

# Introduction

Le cancer est la première cause de mortalité dans le monde, dépassé depuis peu les maladies cardio-vasculaires. Cependant les tumeurs pédiatriques sont des tumeurs rares qui touchent approximativement 1 enfant sur 600 sur le territoire français. Les tumeurs les plus fréquentes chez les enfants sont représentés par les leucémies 30% suivi des tumeurs du système nerveux central 20%, des lymphomes et maladie de Hodgkin, des sarcomes, des neuroblastomes, et des néphroblastomes (Loriot et Mordant, 2011).

Le neuroblastome représente 8 à 10% des tumeurs pédiatriques et c'est la tumeur la plus commune dans le monde chez les nourrissons de moins de 1 an. Chaque année 2200 nouveaux cas sont diagnostiqués en Europe, Aux USA et au Canada (Heck et *al.*, 2009) mais plus rare en Afrique sub-saharienne ou en Asie (Izbicki et *al.*, 2003). L'âge de diagnostic se situe essentiellement entre 1 an et 6 ans avec un pic maximal qui se situe à 2 ans (Loriot et Mordant, 2011). Les progrès de la médecine dans le diagnostic et la prise en charge de cette pathologie ont considérablement augmenté la survie des enfants.

Pr. Fatiha Gachi-Bey, Service oncologie-pédiatrie, au Centre Pierre et Marie Curie (CPMC) du CHU Mustapha Pacha d'Alger déclare que selon l'étude multicentrique, pratiquée en 2005, par la Société Algérienne d'Oncologie Pédiatrique, sur une période de 10 ans, a recensé 345 cas de neuroblastomes, dans les différents services de pédiatrie (Ait, 2013).

L'objectif de notre travail est d'étudier les aspects anatomo-cliniques et les facteurs histo-pronostiques du neuroblastome, ainsi que maîtriser la technique d'immunohistochimie et des techniques d'histologie, à travers une étude rétrospective et prospective.

C'est dans cet objectif que nous avons choisi de mener une étude épidémiologique et une étude immunohistochimique sur 02 patients par la révélation de l'expression de gène suppresseur de tumeur P53, de proliférations tumorales Ki67, NSE et PS100.

**I-Tumeur neuroblastique****I- 1.Historique**

En 1864, le médecin allemand Rudolf Virchow a été le premier à décrire une tumeur abdominale chez l'enfant qu'il qualifia alors de « gliome ». Les caractéristiques des tumeurs du système nerveux sympathique et de la médullo-surrénale ont été décrites en 1891 par le pathologiste allemand Félix Marchand. En 1901, la présentation particulière des stades 4S chez le nourrisson a été décrite par William Pepper, ce qui lui vaut le nom de « Syndrome de Pepper ». En 1910, James Homer Wright comprenait que la tumeur dérive des cellules neurales primitives, et la rebaptise « neuroblastome ». (Wright, 1910).

**I- 2. Epidémiologie**

Le neuroblastome (NB) est parmi les tumeurs solides extra crâniennes pédiatriques les plus fréquemment retrouvées (Arndt et *al.*, 2007).

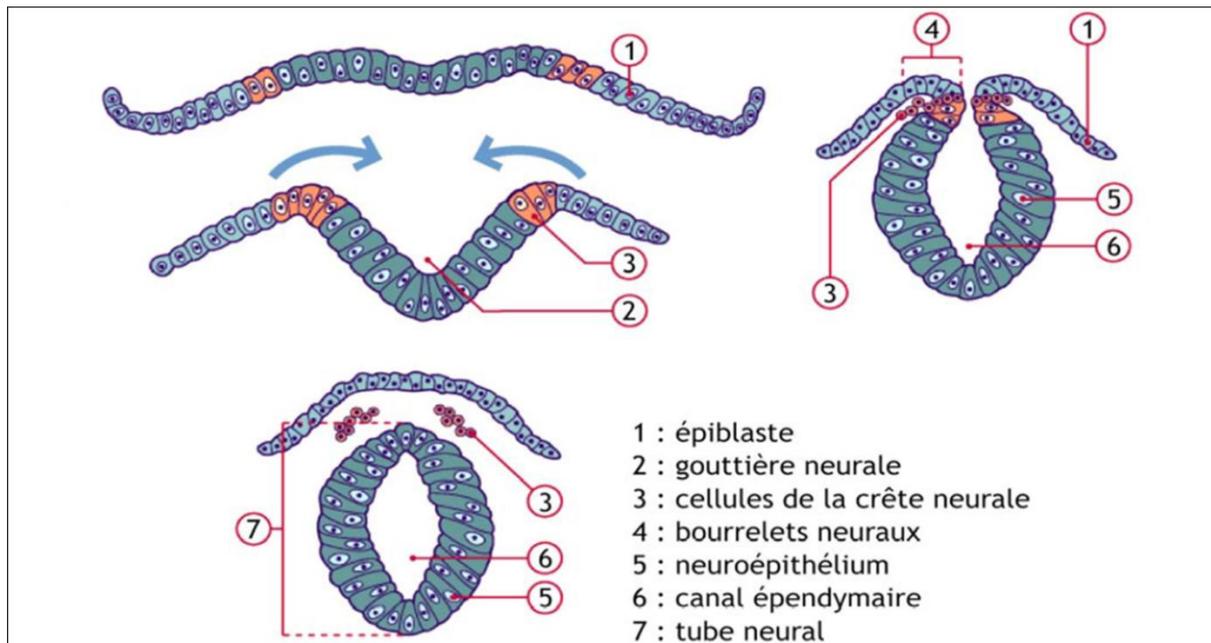
Malgré une augmentation de l'incidence de ces tumeurs, leur pronostic s'est amélioré ces dernières années. La survie à 10 ans est de 66 % dans l'« Automatic Childhood Cancer Information System (ACCIS) » (Steliarova-Foucher et *al.*, 2004) , qui regroupe 98% des européens. Le NB est la tumeur la plus fréquente chez les moins de 1 an (28% des tumeurs). L'âge moyen au diagnostic est de 2 ans. Il représente environ 10 % des cancers des enfants de moins de 15 ans. L'incidence annuelle est d'environ 1 /70000 enfants de cette tranche d'âge et 90 % des NB sont diagnostiqués avant l'âge de 5 ans (Schell et Bergeron, 2003).

**I- 3. Origine embryonnaire des neuroblastomes**

Les tumeurs d'origine neuro-ectodermique regroupent les tumeurs des systèmes nerveux central et périphérique. Leur classification se fonde sur le type cellulaire prédominant dans la tumeur (neuronal, astrocytaire, schwannien). Trois grands types de tumeurs neuro-ectodermiques dérivent des cellules des crêtes neurales : les schwannomes, les neurofibromes et les tumeurs neuro-ectodermiques primitives périphériques, incluant les NB (Zhu and Parada, 2002).

Dans l'embryogenèse humaine, au 17ème jour de la gestation, le système nerveux se met en place lors de la neurulation. La région dorsale de l'embryon s'épaissit pour former la plaque neurale, qui va s'invaginer « stade de la gouttière neurale », puis se refermer pour former le tube neural, dont est issu le système nerveux central. Avant la fermeture du tube neural, des groupes de cellules acquièrent des capacités migratoires et se détachent de la zone

où les bords se raccordent à l'ectoderme et forment les crêtes neurales. A la fermeture, les crêtes se séparent à la fois de l'ectoderme et du tube neural néoformé « étape de délamination » (Figure 1) (LaBonne and Bronner-Fraser, 1998). Ces deux étapes cruciales sont induites par les facteurs de signalisation moléculaires des familles WNT, FGF et BMP qui sont exprimés par le mésoderme et l'ectoderme non-neural environnant (Meulemans and Bronner-Fraser, 2004).



**Figure 1** : Induction de la plaque neurale - Neurulation (Newgreen DF et *al.*, 1993)

Les cellules des crêtes neurales migrent pour rejoindre différentes régions de l'embryon où elles se différencient en un grand nombre de structures : cellules pigmentaires, cellules de tissu conjonctives, squelette et os, neurones des ganglions sensitifs du système nerveux autonome... (Figure 2) (Dupin et *al.*, 2007).

La sécrétion de facteurs de croissance de la famille des Bone Morphogenetic proteins (BMP), fibroblast growth factor (FGF) et nerve growth factor (NGF) et plusieurs gènes de transcription sont indispensable pour cette différenciation (Figure 3) (Huber et *al.*, 2009).

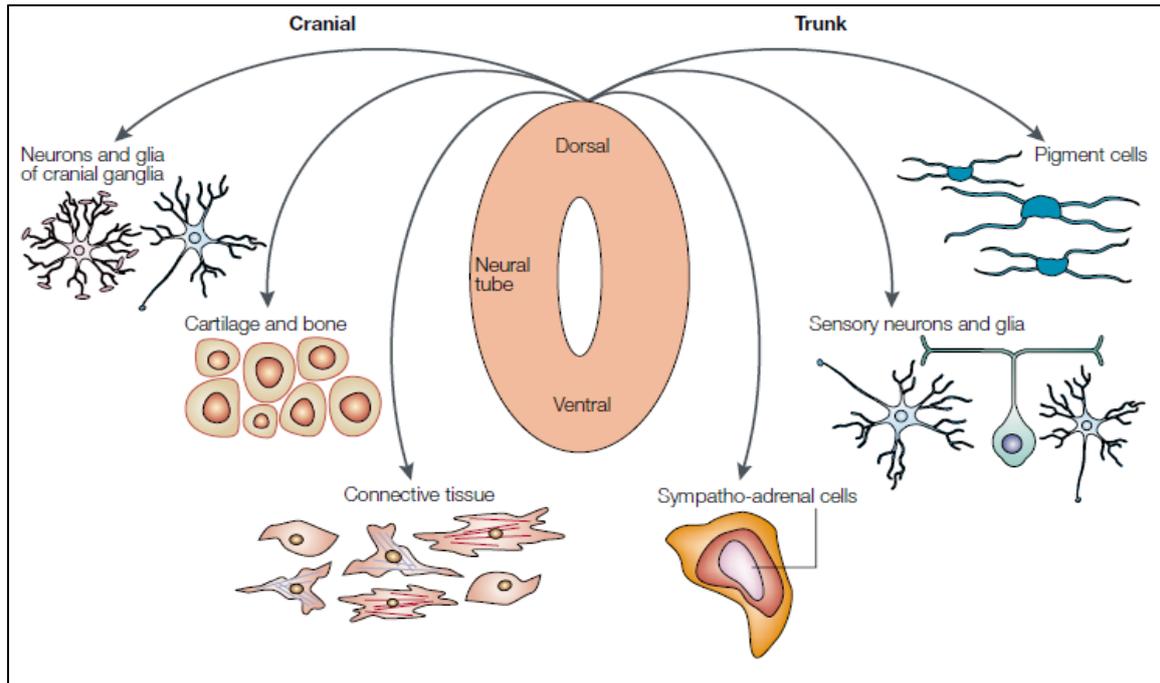


Figure 2 : Les principales structures issues de la crête neurale (Knecht, 2002)

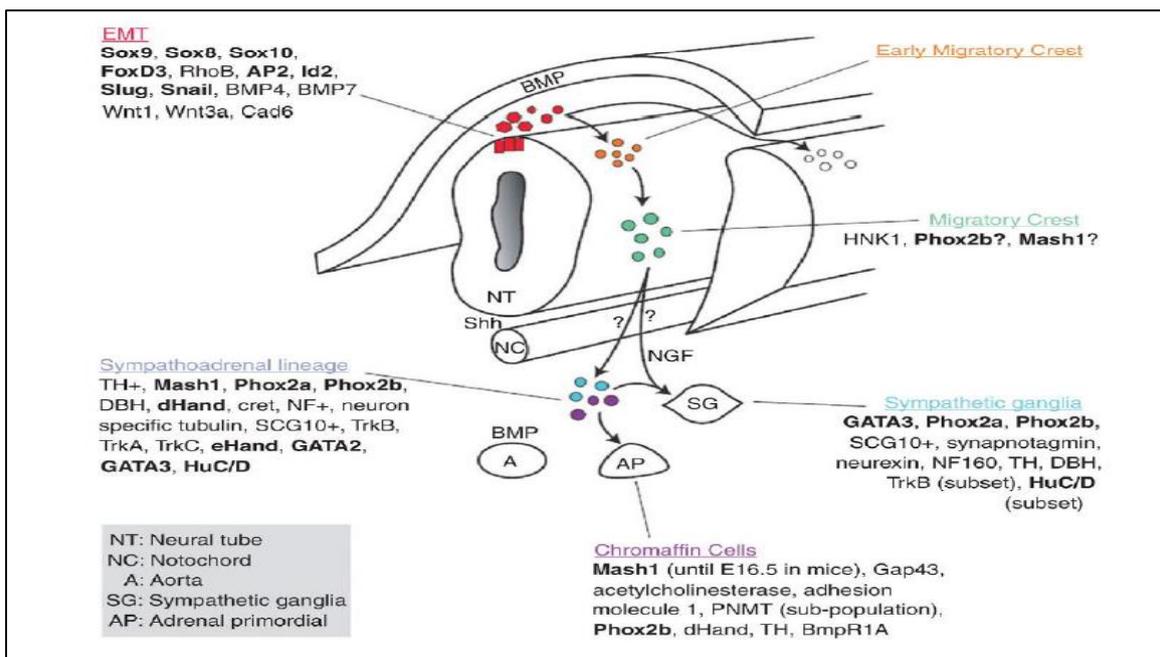


Figure 3 : Migration des cellules de la crête neurale au cours du développement (Jiang et al., Curr Top Dev Biol, 2013)

Les cellules de la crête neurale migrent vers l'aorte (A) afin de former soit un ganglion sympathique (SG) soit des cellules de la médullosurrénale (AP). Différents facteurs influencent leur migration et leur différenciation.

### I- 4. Carcinogénèse

Sous l'influence de N-Myc et les BMP, les cellules de la crête neurale migrent et connaissent une différenciation en plusieurs structures comme les cellules ganglionnaires sympathiques.

En premier lieu, ces dernières subissent des mutations de ALK et de PHOX2b et amplification de N-Myc. Le facteur de croissance NGF détermine si une cellule normale peut murir ou meurt par apoptose. Mais un état pathologique est la survie postnatale des cellules neuroblastiques précancéreuses qui résistent, se transforment et deviennent des cellules malignes, c'est le NB (figure 4) (Glenn, 2014).

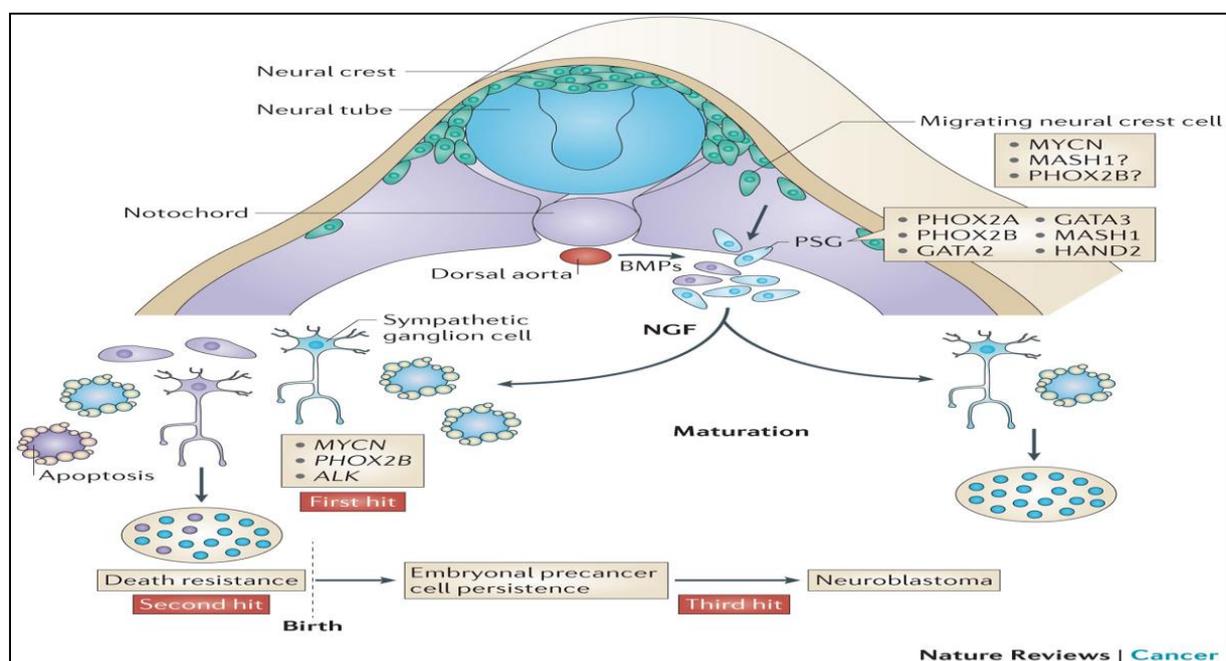


Figure 4 : Développement du neuroblastome (Glenn, 2014)

### I-5. Localisation

Le NB est caractérisé par une grande variabilité clinique et évolutive. Alors que certaines tumeurs disséminent et conduisent au décès du patient malgré une chimiothérapie intensive, d'autres, initialement agressives, vont être capables de régresser spontanément ou de mûrir. La présentation clinique au diagnostic est métastatique dans 60% des cas avec une dissémination au niveau des ganglions lymphatiques, de la moelle osseuse, des os et du foie (D'Andon et al., 2004). Dans 40% des cas il s'agit de formes dites localisées. Les tumeurs sont principalement abdominales (65%) ou thoraciques (20%). Des tumeurs primaires cervicales (5%), pelviennes (5%) ainsi qu'à d'autres localisations sont aussi observées (figure 5) (Maris et al., 2007).

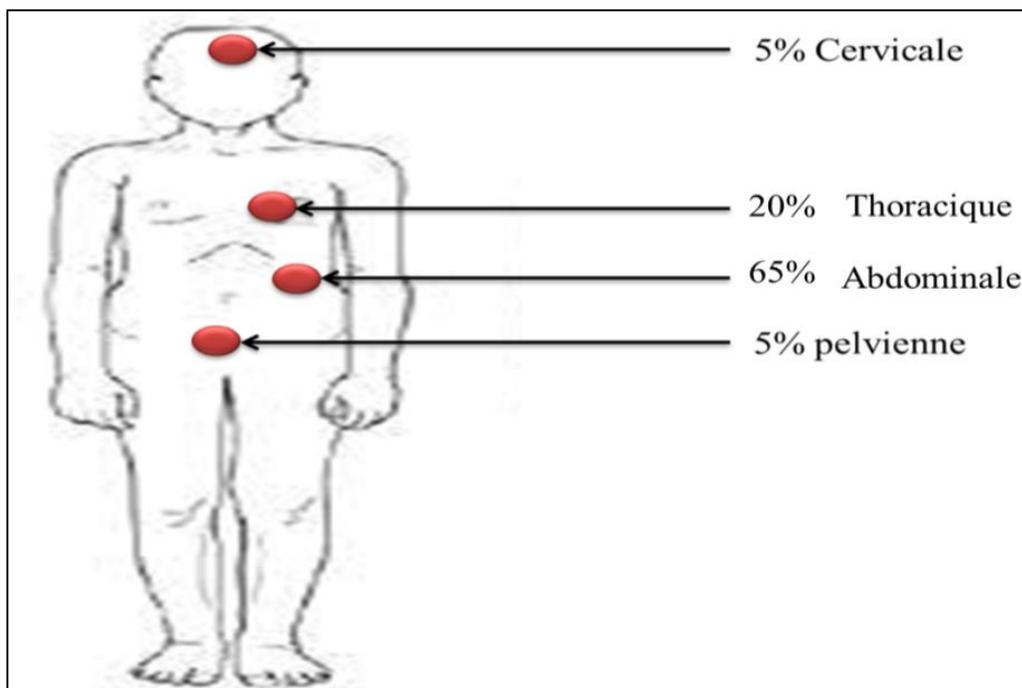


Figure 5 : Localisation du neuroblastome (IGR, 2004)

## I- 6. Critères histologiques

Le nombre de cellules de Schwann est quantifié par rapport aux cellules tumorales. On sépare ainsi les tumeurs à stroma pauvre, composées de cellules neuroblastiques formant des groupes ou des nids séparés par des septa stromaux avec ou sans prolifération schwannienne, des tumeurs à stroma dominant ou riche qui ont une apparence ganglioneuromateuse avec des cellules ganglionnaires mûrissant ou mûres éparpillées au sein d'un stroma schwannien bien développé. La différenciation des cellules tumorales neurales et l'index mitotique et caryorrhexique (pour rappel, la caryorrhexie est l'éclatement du noyau de la cellule en débris basophiles et aboutit à la caryolyse) (Bertron, 2012).

## I- 7. Classification (Annexe 1)

## I- 8. Classification histo-pronostique (figure 6)

Il existe deux sous-groupes donnant le pronostic et corrélés à la survie :

- celui d'histologie favorable (HF), dont la survie est de l'ordre de 80% à 5 ans,
- et celui d'histologie défavorable (HD) dont la survie est de l'ordre de 40% à 5 ans (Bertron, 2012).

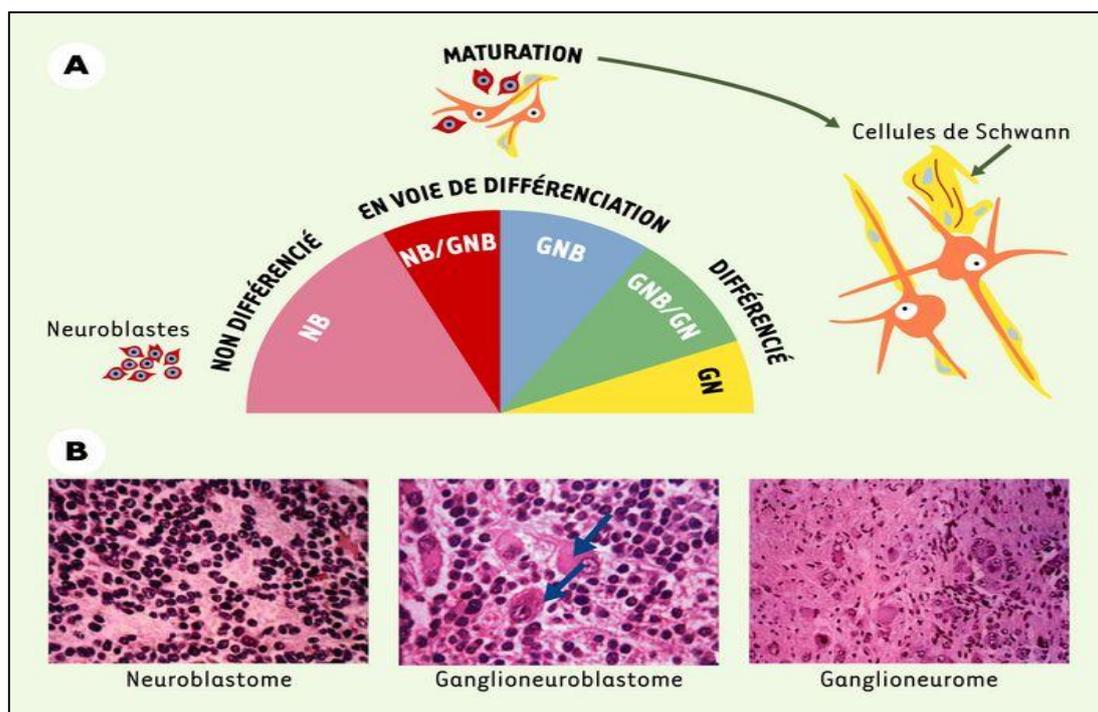
**1-Le NB (stroma pauvre)** est classé en trois sous types : le NB indifférencié (toujours HD), composé de cellules tumorales neurales sans aucun prolongement neuro-fibrillaire (neuropiles), le NB peu différencié (HD ou HF) lorsqu'il existe des neuropiles et le NB se

différenciant (HF ou HD) lorsqu'au moins de 5 % des cellules tumorales sont de type ganglionnaire.

**2-Le ganglioneurome (GN)** (stroma dominant, toujours HF) est classé en deux sous types : maturant ou mature. Il est composé essentiellement de cellules ganglionnaires matures, avec éventuellement une composante éparsée de neuroblastes se différenciant et / ou de cellules ganglionnaires en cours de maturation.

**3-Le ganglioneuroblastome (GNB) mélangé** (Stroma composite : riche et pauvre, toujours HF) est une forme transitionnelle entre le NB et le GN. La tumeur est en cours de différenciation mais le processus est incomplet. Elle est composée de groupes neuroblastomateux épars, contenant un nombre variable de cellules neuroblastiques avec différents stades de maturation (neuroblaste, neuroblastes se différenciant et cellules ganglionnaires).

**4-Le GNB nodulaire (stroma composite : riche, dominant et pauvre)** est composé de nodules macroscopiques de stroma pauvre, coexistant avec des zones de stroma riche (GNB mélangé) ou des zones de stroma dominant (GN). La proportion de nodules varie en fonction des cas. La classification histopronostique (en HF ou HD) est faite selon l'évaluation histopathologique des parties nodulaires qui ne sont pas toujours agressives. Le GNB nodulaire peut être classique lorsqu'il est composé d'un nodule macroscopique (indifférencié ou peu différencié, rarement se différenciant) séparé du reste de manière abrupte, avec ou sans capsule. Il peut aussi être variant lorsqu'il est composé de nodules multiples (deux ou plus), ou lorsqu'il n'y a pas de nodule visible macroscopiquement. Il peut aussi exister un nodule dans une métastase alors que la tumeur primitive ne contient pas de composante neuroblastomateuse (Bertron, 2012).



**Figure 6 :** Classification histologique des tumeurs neuroblastiques (Douc-Rasy et al., 2004).

## I- 9. Les manifestations cliniques

### I- 9.1. Symptômes liés à la tumeur

L'ensemble de ces symptômes cliniques font du neuroblastome une maladie difficile à diagnostiquer et nécessite la mise en place d'examen complémentaires. Les symptômes cliniques de cette pathologie sont directement liés aux sites d'implantation de la maladie.

Les signes cliniques révélateurs sont soit en rapport avec la tumeur primitive, le plus souvent abdominale, explorée par échographie et scanner soit en rapport avec les métastases, qui sont le plus souvent hépatiques chez les nourrissons et ostéomédullaires chez l'enfant de plus d'un an (IGR, 2004).

Les patients avec un site de développement de la tumeur au niveau abdominal sont susceptibles de développer des distensions, des douleurs et même des occlusions intestinales les patients présentant une compression des vaisseaux sanguins rénaux par la tumeur ou une hypersécrétion de catécholamines, peuvent développer une hypertension artérielle vasculaire.

### I- 9.2. Symptômes liés aux métastases

Douleurs localisées, une démarche douloureuse, des enflures périorbitaires et des ecchymoses provenant de l'infiltration de la tumeur dans les tissus sains et l'os (Muller et Matthay, 2009). Les patients ayant un neuroblastome au niveau du cou peuvent présenter des

difficultés pour avaler et respirer. L'hépatomégalie est le symptôme dominant pour certaines formes métastatiques observées chez le nourrisson (IGR, 2004).

### **I- 9.3. Le neuroblastome en sablier**

Le NB en sablier est une lésion para-vertébrale touchant essentiellement les enfants de moins de un an. Il comprime la moelle épinière, ce qui entraîne une paralysie des membres inférieurs et des troubles de la sensibilité mais également des troubles plus discrets comme les troubles de la miction et de la défécation qui sont plus difficiles à interpréter chez ces jeunes enfants (IGR, 2004).

### **I- 9.4. Les syndromes associés**

- **Le syndrome de Pepper**

Ce syndrome est essentiellement observé chez les enfants atteints d'un neuroblastome à un stade IV S, présentant des métastases hépatiques. Le syndrome de Pepper est marqué par l'installation rapide d'une hépatomégalie masquant ainsi la tumeur primitive. Cette hépatomégalie peut générer des troubles respiratoires compressifs (IGR, 2004).

- **Le syndrome de Kerner-Morrison**

Le syndrome de Kerner Morrison se traduit par des diarrhées prolongées, avec une déshydratation et des pertes en potassium dû à la sécrétion du vasoactine intestinal peptide (VIP) par la tumeur (Chu et *al.*, 2011).

- **Le syndrome d'Horner**

C'est un trouble neurologique lié à la compression du ganglion cervical sympathique par la tumeur. Il entraîne diverses symptômes comme un ptosis homolatéral (paupières tombantes), un myosis ou encore une incapacité à transpirer du côté affecté du visage (Gagan E et *al.*, 2010).

## **I- 10. Les examens complémentaires**

### **I- 10.1. Dosages des marqueurs**

- **Catécholamine**

Chez l'enfant atteint d'un neuroblastome, l'élévation des catécholamines (Dopamine) et de leurs dérivés : acide vanillylmandélique (VMA) et d'acide homovallinique (HVA) dans les urines est d'une très grande valeur diagnostique et permet de suivre l'évolution de la tumeur (D'Andon, 2004).

- **Les marqueurs sériques**

De nombreux marqueurs dans le NB ont été identifiés. Ils ont soit un potentiel prédictif important permettant d'évaluer l'issue de la maladie au moment du diagnostic, soit une corrélation avec le risque de rechute évalué lors du suivi de la pathologie. L'apparition de signes cliniques de mauvais pronostic, associés à une élévation de marqueurs sériques au moment de diagnostic, incluant la ferritine sérique, Vasoactive Intestinal Polypeptide (VIP), la lactate déshydrogénase (LDH), et la neurone spécifique éolase (NSE) conduit à un pronostic défavorable du patient (Shustter et *al.*, 1992 ; Berthold et *al.*, 1991). Ces marqueurs ne sont toutefois non spécifique du NB et aucun d'eux n'est utilisé pour la classification initiale du risque est la sélection des traitements (Mueller et Matthay, 2009).

### **I- 10.2. Echographie abdominale**

Quand la tumeur est abdominale ou pelvienne, on l'explore d'abord par une échographie. Cet examen permet de voir et mesurer la tumeur, d'analyser ses relations avec les organes de voisinage et d'identifier des ganglions proches. De plus, l'échographie permet de guider une biopsie à l'aiguille fine indispensable pour l'étude de la biologie tumorale (IRG, 2006).

### **I- 10.3. L'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)**

L'IRM est complémentaire du couple échographie-scanner. Elle est surtout très performante pour visualiser les tumeurs en sablier. Cette extension est fréquente si la tumeur est développée le long de la colonne vertébrale, en particulier au niveau du thorax (IRG, 2006). L'IRM présente l'avantage de ne pas irradier le patient et permet de confirmer une atteinte médullaire localisée. L'analyse du scanner ou l'IRM permettra de décider de l'opérabilité de la tumeur. Une tumeur est opérable quand une exérèse complète peut être faite sans risque de complication grave, ni sacrifice d'organe (IRG, 2004).

### **I- 10.4. La radiographie**

Pour le NB thoracique, la radiographie du thorax de face et de profil détecte la masse tumorale et la localisé dans la partie postérieure du thorax. Il est exceptionnel qu'il existe des métastases pulmonaires (IRG, 2006).

**I- 10.5. Scanner**

Le scanner, avec injection de produit de contraste, permet de localiser avec précision la tumeur primitive. Il donne une vision globale de l'espace anatomique concerné : cavité abdominale, thorax, région cervico – thoracique ou pelvis. On peut ainsi apprécier l'extension et l'opérabilité (IRG, 2004).

**I- 10.6. Scintigraphie à métaiodobenzylguanidine (MIBG)**

La scintigraphie à MIBG est utilisée pour sa sensibilité et sa spécificité supérieure aux autres techniques aussi bien pour l'identification du stade initial de la tumeur que pour la surveillance de la maladie et la réponse des cellules tumorales aux traitements, plus particulièrement chez les enfants ayant un risque élevé (Leung et *al.*, 1997 ; Katzenstein et *al.*, 2004).

**I- 11. Traitement**

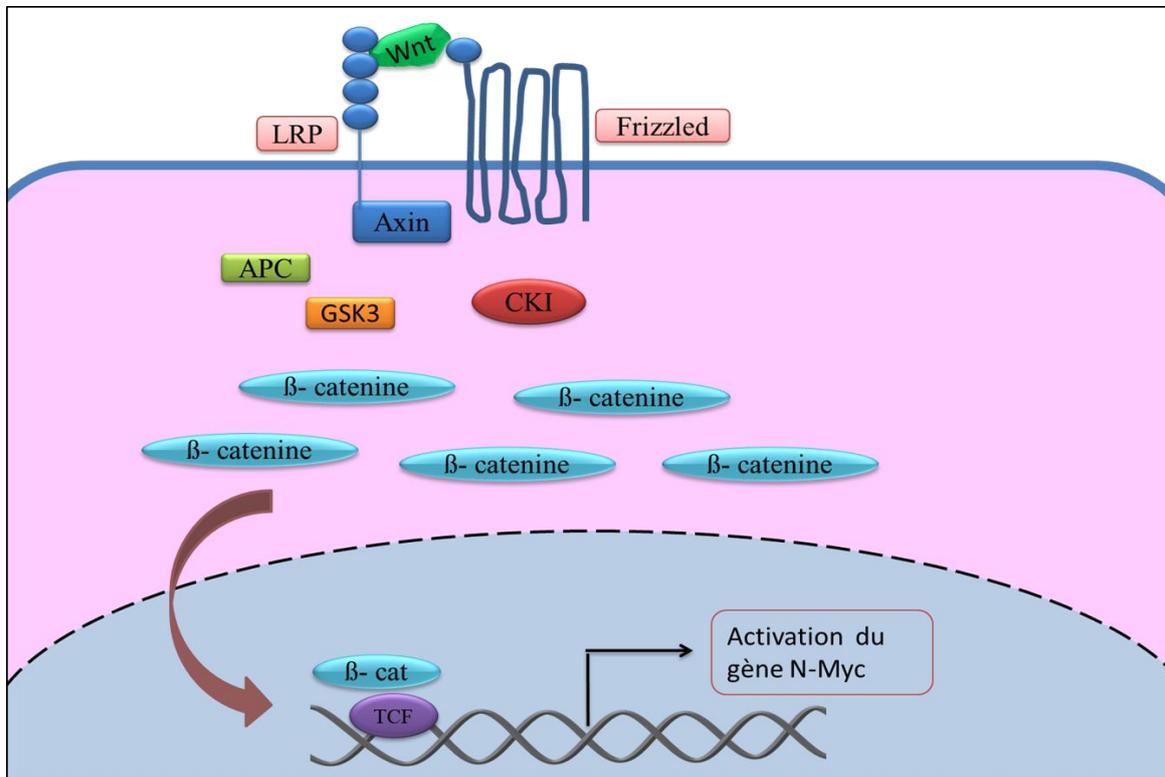
Le traitement dépend de quatre critères principaux : l'âge de l'enfant au diagnostic, le stade d'extension, la possibilité d'une chirurgie de la tumeur primitive, ainsi que l'amplification du gène N-myc. Pour les tumeurs opérables d'emblée, une chirurgie seule sera le plus souvent suffisante; pour les tumeurs non opérables d'emblée, une chimiothérapie pré-chirurgicale est nécessaire avant la chirurgie. Dans les formes métastatiques et/ou en cas d'amplification l'oncogène N-Myc, une consolidation par une chimiothérapie intensive avec greffe de cellules souches est le plus souvent indiquée. La radiothérapie locale reste réservée pronostic. (Giustranti, 2014).

**II-Aspect moléculaire et voies de signalisation****II-1. Amplification de N-Myc**

Une signalisation complexe entre les protéines de la famille Hedgehog et Wnt est importante pour la formation de la crête neurale. Cette signalisation va induire l'expression de N-myc (figure 7) (Wakamatsu et *al.*, 1997).

En présence d'un ligand WNT sur le récepteur Frizzled, la protéine DSL est recrutée, sans doute *via* l'activation d'une protéine G, ce qui permet la phosphorylation du corécepteur LRP5/6 par la CK1 $\gamma$  et la GSK3 $\beta$ , et le recrutement de l'axine à la membrane. Le complexe de destruction est dissocié et la  $\beta$ -caténine non phosphorylée peut entrer dans le noyau où elle s'associe à un ensemble de molécules impliquées dans la répression de la transcription, en

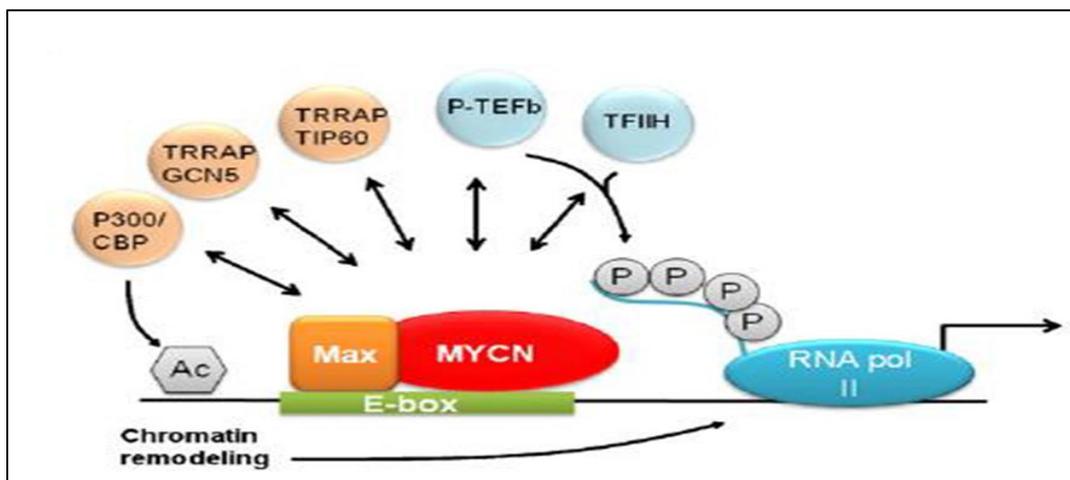
particulier les facteurs TCF/LEF. La levée de la répression permet la transcription de nombreux gènes de prolifération, dont le gène N-MYC. (Jacques, 2010).



**Figure 7 :** L'activation du gène N-Myc par la voie wnt. (Jacques, 2010)

Le gène N-Myc est un proto-oncogène codant pour un facteur de transcription de la famille MYC comprenant aussi C-Myc et L-Myc. Le gène N-Myc a été identifié suite à la découverte de son amplification dans des échantillons de neuroblastome (Kohl et *al.*, 1983; Schwab et *al.*, 1983). Il est exprimé préférentiellement durant l'embryogenèse dans le système nerveux central et périphérique, la rate, le rein et le poumon.

La protéine N-Myc contrôle l'expression de nombreux gènes et régule ainsi de nombreux processus cellulaires fondamentaux tels que le métabolisme, la prolifération et la différenciation cellulaire, l'apoptose et la synthèse protéique (figure 8) (Westermarck et *al.*, 2011).



**Figure 8 :** Structure et activité des protéines MYCN et MAX. (Westermarck, 2011).

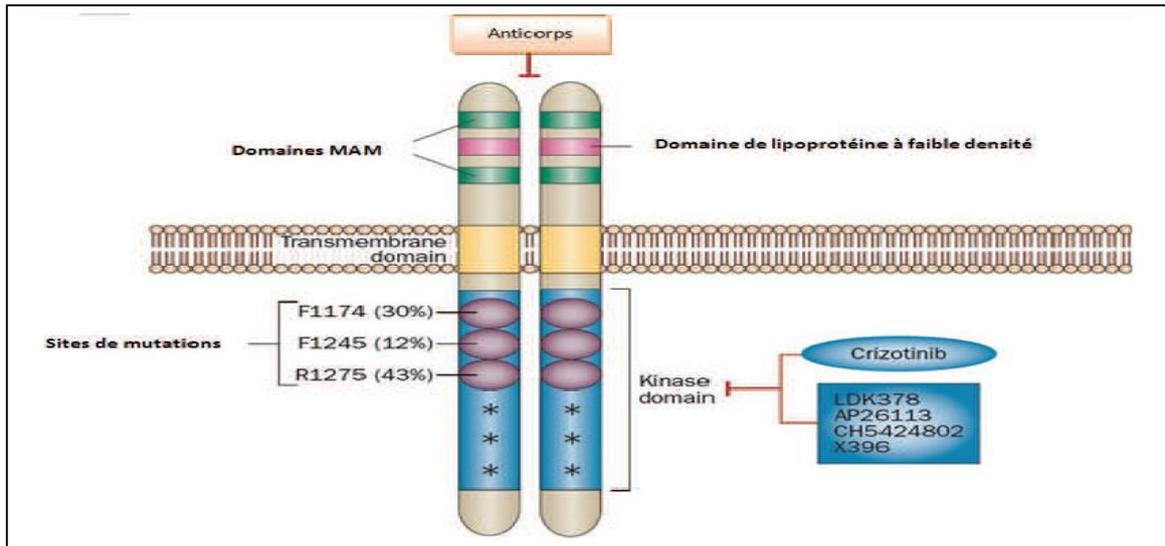
L'hétérodimère MYCNMAX va pouvoir se fixer sur les régions E-box (Enhancer-box) en amont de gènes et y recruter des cofacteurs, ce qui conduira à la transcription du gène (Westermarck, 2011).

L'amplification de N-Myc est le premier événement génétique identifié dans le NB (Schwab *et al.*, 1984). Cette amplification est présente dans 20% des tumeurs primaires. Elle est associée à l'agressivité tumorale et constitue un facteur majeur de mauvais pronostic (Brodeur *et al.*, 1984).

## II-2. Mutation de ALK

En 2008, ALK a été décrit comme oncogène majeur du NB. Plusieurs groupes ont rapporté la présence de mutations et d'amplifications de ALK dans environ 10% et 2% des cas de NB (Chen *et al.* 2008 ; Janoueix-Lerosey *et al.*, 2008 ; George *et al.*, 2008 ; Mosse *et al.*, 2008 ; De Brouwer *et al.*, 2010).

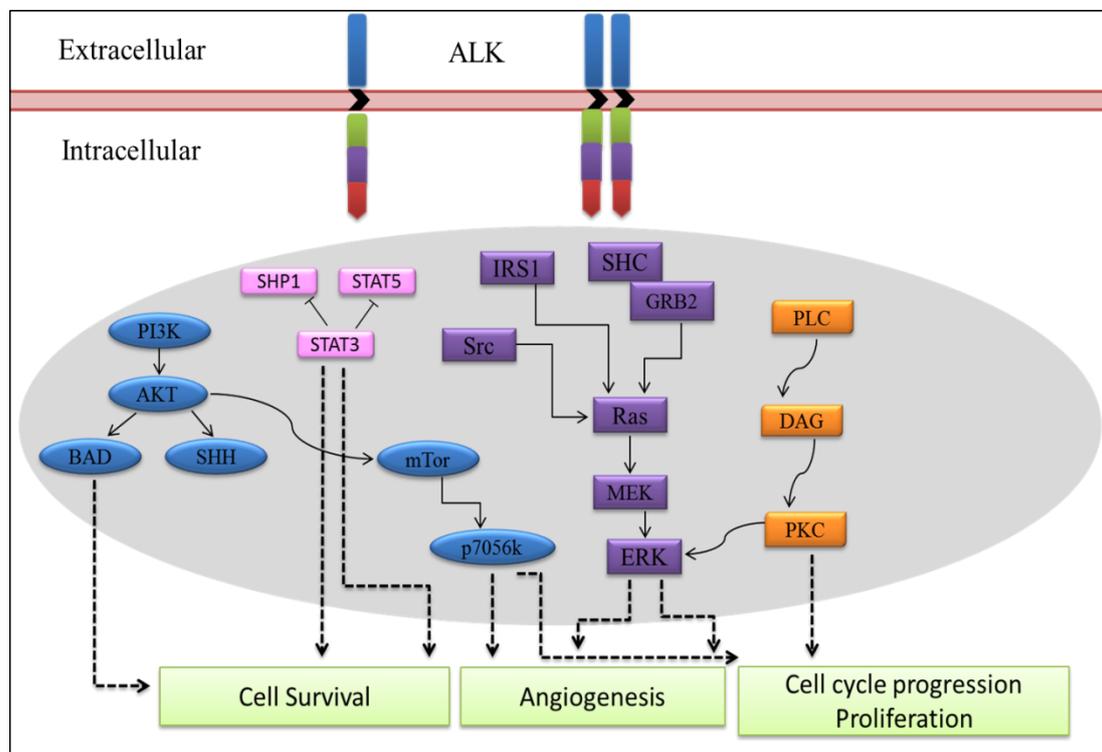
La majorité des mutations décrites est localisée dans le domaine tyrosine kinase du récepteur et entraîne une activation/phosphorylation constitutive du récepteur et de ses effecteurs d'aval (figure 9) (Grande *et al.* 2011).



**Figure 9 :** Structure de la protéine ALK et mutations retrouvées dans le neuroblastome (Carpenter et Mossé, 2012)

ALK est capable d’activer un grand nombre de voie de signalisation, principalement AKT, STAT3 et MAPK, formant un réseau de signaux complexes (Figure 10).

L’activation d’AKT va induire principalement la survie cellulaire alors que les voies STAT3 et MAPK sont également impliquées dans la prolifération cellulaire et l’angiogénèse (Grande et *al.*, 2011).



**Figure 10 :** Représentation de la signalisation du récepteur ALK (Grande et *al.*, 2011).

II- 3. Les gènes du cycle cellulaire

• P53 et MDM2

La protéine CHK2 est également capable d’activer par phosphorylation le facteur de transcription p53, qui est ainsi au carrefour entre l’information reçue sur l’état de l’ADN et la mise en route de moyens visant à empêcher la propagation de lésions mutagènes. En effet, p53 est ordinairement présente à très faible concentration en raison de sa liaison avec son ubiquitine ligase, MDM2, qui l’entraîne vers le protéasome. Son activation par phosphorylation la libère de MDM2 et lui permet de jouer, après homo-tétramérisation, son rôle de facteur de transcription. Plus d’une centaine de gènes sont activables par p53 : cette protéine est capable d’induire p21, que nous avons vu jouer un rôle de CKI au niveau des complexes cycline D-CDK4/6 ; elle est également capable d’induire l’apoptose, *via* les protéines pro-apoptotiques *BID* que sont PUMA et NOXA; elle est enfin capable, *via* p14, d’inhiber sa propre destruction dans le protéasome vers lequel l’entraîne MDM2. Signalons enfin que MDM2 est elle-même inactivée directement par phosphorylation par ATM, ce qui facilite la mise en oeuvre de l’action de p53 (figure 11) (Jacques, 2010).

Dans le cadre du NB, tout comme N-MYC, MDM2 peut être amplifié jusqu’à 40 copies dans certaines tumeurs (Corvi et al., 1994). La protéine MDM2 peut être surexprimée et se retrouver en excès par rapport à p53. Et, comme MDM2 se lie à p53 et induit sa dégradation, la protéine p53 se retrouve ainsi inactivée (Slack and Shoheit, 2005).

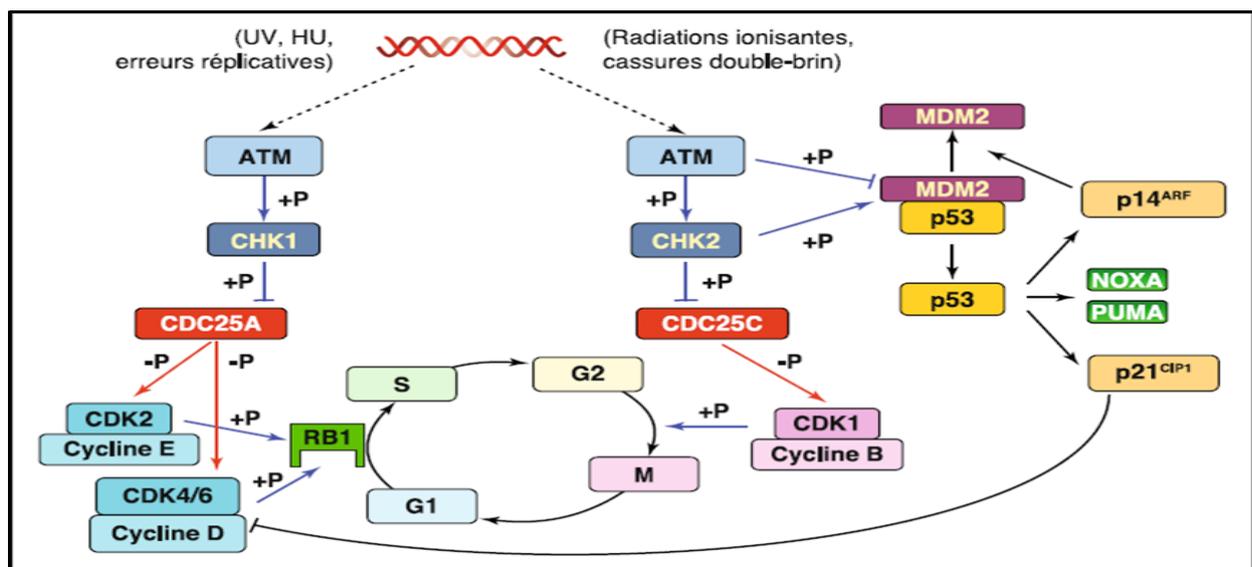


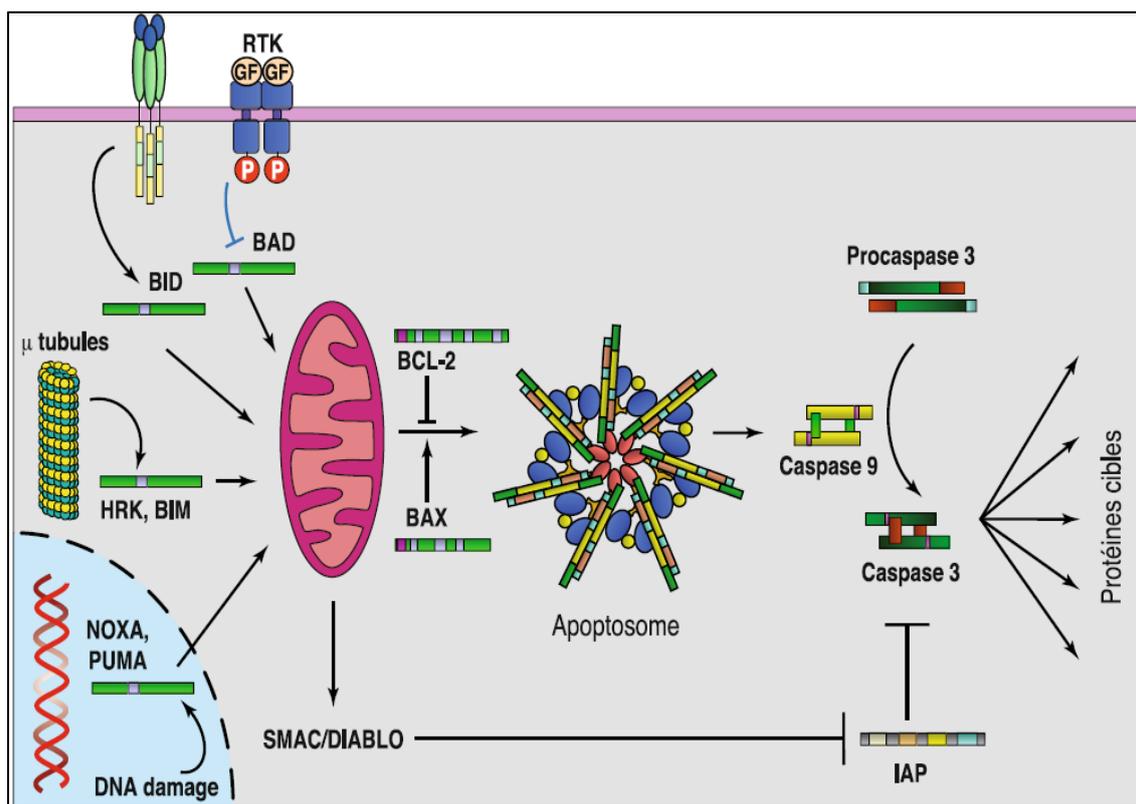
Figure 11: Les points de contrôle du cycle cellulaire (Jacques, 2010).

L'inactivation de p53 par le changement d'un seul acide aminé contribue au phénotype néoplasique et confère une résistance aux traitements de chimiothérapie. En revanche les mutations de p53 sont très rares dans les NB puisqu'elles n'affectent qu'environ 2% des cas (Imamura et al., 1993 ; Vogon et al., 1993).

- **Bcl-2 (La voie de l'apoptose intrinsèque)**

La protéine anti-apoptotique mitochondriale Bcl-2 a pour fonction essentielle d'empêcher le déclenchement de l'apoptose induit par le relargage du cytochrome c. Dans les neuroblastomes, Bcl-2 est hyper-exprimé et semble associé à une diminution de l'apoptose (Ikeda et al., 1995; Ikegaki et al., 1995). Même si quelques études ont montré que l'augmentation de Bcl-2 semble être associée avec des facteurs de mauvais pronostic comme l'amplification de N-Myc et les tumeurs de haut risque (Castle et al., 1993).

Divers signaux induits par des stress intracellulaires ou d'origine extracellulaire sont apportés à la mitochondrie par des protéines *BID* et interagissent avec les protéines mitochondriales de la famille *BCL2*, en favorisant l'ouverture du pore de transition. La sortie du cytochrome c de la mitochondrie lui permet d'interagir avec la protéine APAF1, pour former l'apoptosome et de recruter les molécules de procaspase9. Ces dernières vont s'activer en caspase 9 par protéolyse selon un processus autocatalytique et activer à leur tour la procaspase3 en caspase 3 par protéolyse. La caspase 3 pourra alors détruire ses protéines cibles (figure 12) (Jacques, 2010).



**Figure 12 :** La voie de l'apoptose intrinsèque (mitochondriale) (Jacques, 2010).

- **Caspase 8 (La voie de l'apoptose extrinsèque)**

L'analyse des gènes liés à l'apoptose dans les lignées cellulaires de NB a permis d'observer des anomalies dans un des plus importants gènes suppresseurs de tumeur : Caspase 8. En fait, une baisse ou une absence d'expression de la caspase 8 a été détectée dans une série de lignées cellulaires de NB. Dans ces lignées, l'expression du gène de CASP8 était inhibée par méthylation. Les mutations ponctuelles du gène de CASP8 dans les neuroblastomes sont rares, indiquant que l'inactivation a lieu principalement par délétion et méthylation (Teitz, 2000).

Divers signaux apportés par des ligands de mort cellulaire (FASL, TNF, TRAIL) activent des récepteurs membranaires (FAS, TNFR, TRAILR) en provoquant leur trimérisation. La partie cytoplasmique de ces récepteurs contient un domaine DD qui leur permet de recruter une protéine adaptatrice (FADD, TRADD) pourvue d'un domaine analogue ainsi que d'un domaine DED. Des molécules de caspase 8, pourvues elles aussi de domaines DED, sont alors recrutées pour constituer, avec le récepteur trimérisé et les protéines adaptatrices, un édifice supramoléculaire, le DISC. La caspase 8, activée par protéolyse selon un processus autocatalytique, est alors capable d'activer la procaspase 3 en caspase 3 par protéolyse, cette dernière pouvant alors détruire ses protéines cibles. La caspase

8 est également capable, dans certaines cellules, d'activer par protéolyse la protéine BID (protéine de type *BH3 only*) qui, sous sa forme tronquée t-BID, agira au niveau de la mitochondrie pour favoriser l'ouverture du pore de transition, amplifiant ainsi le message apoptotique intrinsèque (figure 13) (Jacques, 2010).

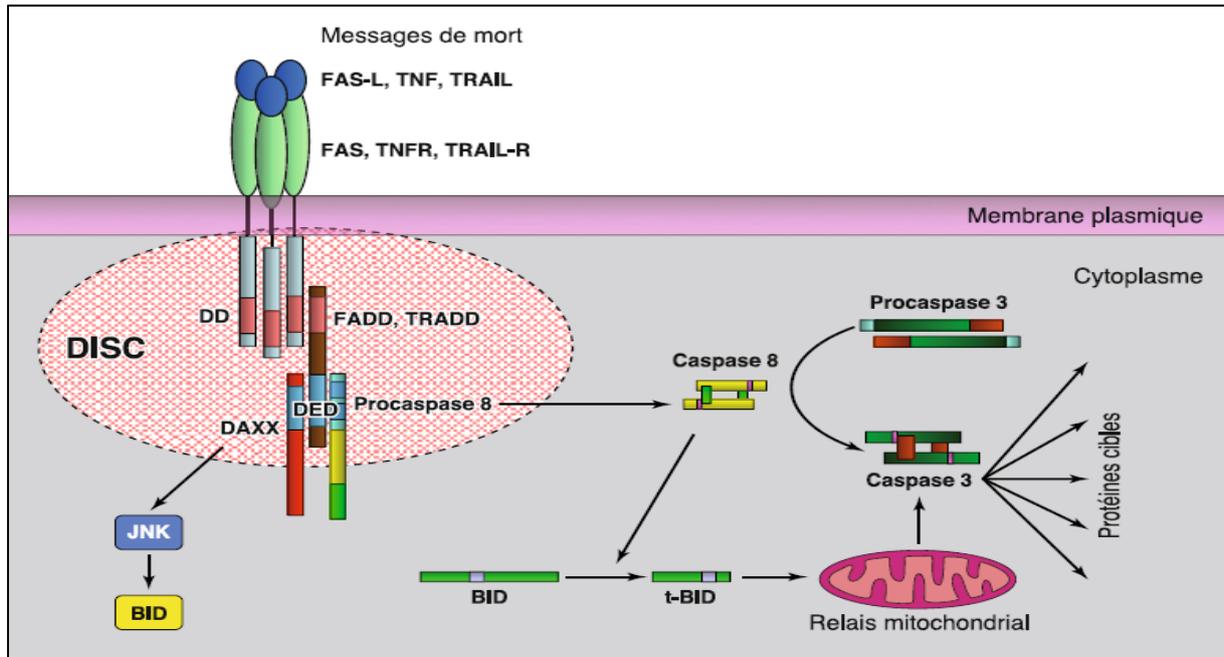


Figure 13 : La voie de l'apoptose extrinsèque (Jacques, 2010).

**I- Population d'étude**

Nous avons mené une double étude :

-la 1<sup>ère</sup> Prospective sur 06 mois (du 1<sup>er</sup> Janvier 2015 au 30 Juin 2015)

-la 2<sup>ème</sup> Rétrospective sur 07 ans (du 1<sup>er</sup> Janvier 2008 au 31 Décembre 2014). (**Annexe 2**)

Nous avons effectué une étude immunohistochimique sur 2 patients.

**II- . Matériels non biologiques (Annexe 3)**

<b>Appareillage</b>	<b>Matériel et verreries</b>	<b>Réactifs</b>	<b>Kit d'immunohistochimie</b>
- Plaque chauffante - Circulateur - microtome - Etuve - Appareil d'inclusion	- Lames d'étalement - Lames silanisées - Une pince - panier de lames - micropipettes - Cassettes	- Formol à 10% - Alcool à 80, 90 et 100% - Xylène - Eau distillée et eau de robinet - Paraffine - Hématoxyline - Eosine - Eukitt	- Eau oxygénée - Solution PH (9 et 6) - Solution d'Anticorps I aire (AC anti P53, AC anti PS100, AC anti NSE et AC anti KI67). - Solution PBS (Phosphate Buffered Saline) - Solution d'Anticorps II aire - Solution DAB chromogène - Hémalin - Ammoniaque

**Tableau I : Matériel non biologique**

**III- Etude anatomopathologique****III- 1. Identification des échantillons**

Les échantillons sont reçus au niveau du laboratoire d'anatomie pathologie, fixés au formol afin d'éviter l'autolyse du tissu. Chaque échantillon est accompagné par une fiche de renseignement du patient contenant le nom, le prénom, l'âge et les renseignements cliniques et radiologiques.

**III- 2. Examen macroscopique**

Cet examen débute par la description des pièces : aspect externe, les remaniements hémorragiques et calciques...Les instruments utilisés sont bien tranchants, afin de ne pas écraser les tissus et donc d'éviter la formation d'artefacts.

Les biopsies doivent être incluses en totalité.

Les prélèvements sont mis dans des cassettes numérotées pour chaque patient.

**III- 3. Etude histologique (étapes pré-analytique)****III- 3.1. Fixation**

Réalisée grâce à un agent fixateur : le formol. La fixation a pour but la conservation des structures et le durcissement des pièces. Elle doit se faire immédiatement après le prélèvement, par immersion des échantillons de 12h à 48h dans le formol à 10% (9 volumes d'eau distillé pour 1 volume de formol).

**III- 3.2. Circulation**

Cette procédure est réalisée grâce à un circulateur automatique (Leica TP 10 20) (**Figure 14**) comportant 12 bacs disposés en cercle, ce qui permet un transfert automatique du panier qui contient les cassettes, ceci se fait chaque 2h, d'un bain à un autre.

Cette technique dure 24h et comporte 3 étapes importantes :

- Déshydratation : C'est l'élimination de l'eau emprisonnée à l'intérieur de la cellule, en utilisant 6 bacs d'alcool de degré croissant 70° → 100°.
- Eclaircissement : Cette étape se fait à l'aide de 4 bacs de xylène qui permet de faire le « claring » (Lavage des cellules). C'est ce qui permet une miscibilité entre l'alcool et la paraffine.
- Imprégnation : C'est la pénétration de la paraffine à l'intérieur de la cellule pour remplacer l'eau à partir de 2 bacs chauffée à 60° C.



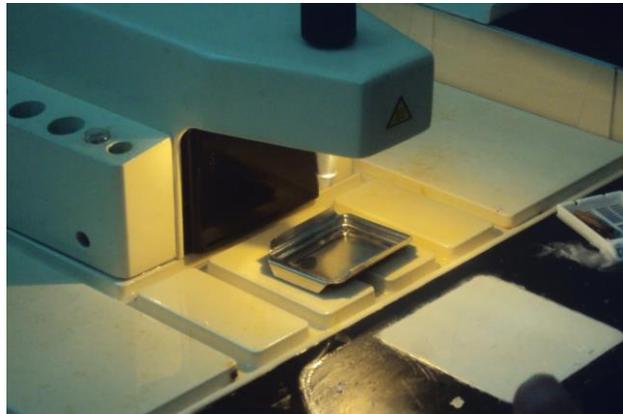
**Figure 14:** Circulateur (Leica TP 10 20)

**III- 3.3. L'inclusion**

Son but est de permettre la réalisation des coupes fines et régulières, elle consiste à infiltrer et à enrober les tissus à examiner avec de la paraffine grâce à un appareil (Thermo) (**Figure 15**).

La paraffine fondue est placée dans de petits moules, à température ambiante, ce qui provoque son durcissement et donc la rigidification des fragments tissulaires prélevés. On procède alors au démoulage : on obtient des fragments tissulaires inclus dans un bloc de paraffine.

La dernière étape consiste à classer ces blocs par ordre et vérifier leurs numérotations par rapport aux fiches.



**Figure 15:** Appareil d'inclusion

**III- 3.4. Microtomie**

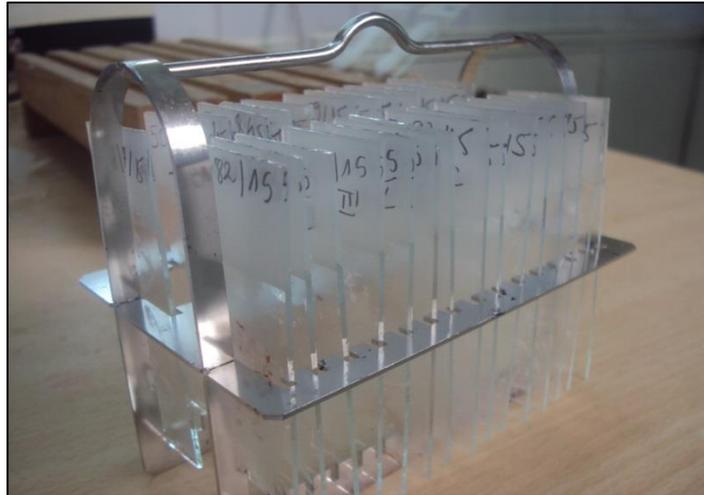
L'appareil utilisé : un microtome (Leica) (**Figure 16**), fait avancer le bloc sur un rasoir pour avoir des coupes fines de 25  $\mu$ . L'ensemble des tranches va former un ruban dans lequel on retrouve des coupes sériées de prélèvement tissulaire.



**Figure 16:** Microtomie

**III- 3.5. Etalement**

Après avoir choisi le bon ruban (Fragment tissulaire clair et sans plis), L'étalement de ce dernier se fait sur une plaque chauffante à 60°C et sur des lames qui contiennent le numéro du patient. Ces lames sont placées par la suite dans un panier (**Figure 17**) et séchées à 70°C dans une étuve pendant 1h.



**Figure 17:** Panier de lames

**III- 3.6. Préparation à la coloration**

Cette étape consiste à préparer les lames blanches pour recevoir les colorants. Pour cela, on doit faire le déparaffinage et l'hydratation. Le déparaffinage sert à retirer la paraffine du tissu à l'aide du xylène et l'hydratation a pour objectif de retirer le xylène pour que l'eau pénètre dans le tissu.

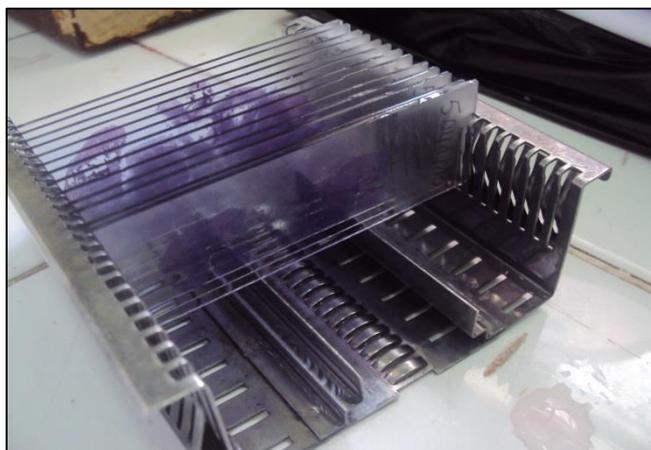
Dans l'étuve, la paraffine est fondue, les lames sont plongées immédiatement dans un bac de xylène pendant 15 minutes pour retirer le reste de paraffine et faciliter l'entrée de l'eau, elles sont ensuite immergées dans 3 bains d'alcool de concentration décroissante et, rincées avec l'eau du robinet.

**III- 3.7. Coloration à l'Hématoxyline et à l'Eosine (HE)**

C'est une coloration de routine où l'Hématoxyline colore les noyaux en violet et, l'Eosine colore le cytoplasme en rose. Pour cela les produits utilisés sont : hématoxyline de Harris, eau acidifiée (Eau + Quelques gouttes de HCL), eau ammoniacale (Eau + Quelques gouttes de l'ammoniaque), éosine, alcool et xylène.

Les lames sont d'abord plongées dans un bac de l'Hématoxyline pendant 5 minutes, rincées avec de l'eau du robinet, puis plongées dans un bac d'eau acidifiée et rincées avec de l'eau. Elles sont ensuite plongées dans un bac d'eau d'ammoniacale puis rincées encore avec de l'eau. Les lames sont colorées à l'éosine pendant 1 à 2 minutes puis rincées avec de l'eau

du robinet. Ensuite, elles sont déshydratées dans un bac d'alcool d'une concentration de 100° puis rincées encore une fois avec de l'eau, enfin, elles sont plongées dans un bac de xylène pour donner un éclaircissement. Les lames sont séchées sur une plaque chauffante (Figure 18).



**Figure 18:** Lames colorées

### III- 3.8. Montage

C'est la fixation de la lamelle sur la lame colorée, en utilisant quelques gouttes d'une colle synthétique (EUKITT), ce qui confère une protection chimique, mécanique et physique (Figure 19).



**Figure 19 :** Montage

**III- 3.9. Préparation histologique**

La lecture des lames est effectuée au grossissement (X 100, X 400, et X 1000) à l'aide de notre promotrice.

**IV- 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 méthode colorimétrique, l'intensité de la coloration étant proportionnelle au niveau d'expression de la protéine étudiée (KI67, PS100, P53, NSE).

**IV- 1. Principe**

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

- La préparation du tissu contenant l'antigène à étudier.
- 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'immuno réaction (**Boumad, 2010**).

**IV- 2. Mode opératoire**

Le marquage immunohistochimique est effectué en plusieurs étapes :

**1- Préparation des lames**

-Dans le laboratoire d'immunohistochimie, On débute par la collecte des blocs inclus en paraffine puis la réalisation des coupes fines de 3 à 4 µm par le microtome et l'étalement sur des lames silanisées. Ces lames sont mises dans l'étuve pour la fixation de l'image sur les lames.

- Les lames sont imprégnées dans 4 bains de xylènes (5 minutes pour chacun) pour déparaffinage puis la réhydratation dans 4 bains d'alcool d'ordre décroissant (5 minutes pour chacun) et enfin le lavage par de l'eau distillé pendant 5 minutes.

- Le démasquage antigénique par l'utilisation d'un tampon PH, 6 ou 9 selon la fiche technique de l'AC et son milieu ambiant, en utilisant l'étui qui porte 5 lames. Ensuite l'incuber dans un bain marie de 98° C pendant 35 à 40 minutes. Le refroidissement des lames se fait petit à petit en ouvrant l'étui pour éviter le choc thermique. Par la suite, les lames sont posées sur une chambre humide (plateau+ compresse mouillée) pour éviter le dessèchement du tissu.

**2- Immunomarquage**

- Les prélèvements sont encerclés par un gel hydrophobe« Dakopen »pour éviter la sortie des anticorps sur la paroi de lames, puis des gouttes de l'eau oxygénée sont ajoutées pendant 5 à 10 minutes.
- Application suffisante des gouttes des anticorps primaires pendant 45 minutes à 1 heure, puis immersion dans 3 bains de PBS (2 minutes pour chacun).
- Le dépôt de l'anticorps secondaire pendant 30 minutes, ensuite pour la 2eme fois immersion dans 3 bains de PBS (2 minutes chaque bain).
- L'application d'un substrat chromogène DAB pour révéler la tumeur par coloration marron puis le rinçage avec de l'eau de robinet.
- La coloration des noyaux par l'Hématoxyline de Mayer et rinçage avec de l'eau de robinet.
- La fixation de la lamelle sur la lame colorée, en utilisant quelques gouttes d'une colle synthétique (EUKITT).

**I- Paramètres épidémiologiques****I- 1. Etude prospective**

Du 1<sup>er</sup> Janvier 2015 au 30 Juin 2015, 07 cas de NB ont été colligé dans le service d'anatomie pathologique de CHU Mustapha Pacha.

Les 07 cas se répartissent en 3 filles et 4 garçons avec un âge qui varie entre 1 an et 26 ans. Le siège prédominant est Abdominal (surrénale).

04 patients présentent un ganglioneurome et 3 un NB.

**I- 2. Etude rétrospective****1- Répartition selon les années**

Du 1<sup>er</sup> Janvier 2008 au 31 décembre 2014, 45 cas de NB ont été colligé.

<b>Les années</b>	<b>N cas</b>	<b>%</b>
[2008 - 2009[	1	2
[2009 - 2010[	0	0
[2010 - 2011[	2	4
[2011 - 2012[	7	16
[2012 - 2013[	14	31
[2013 - 2014[	17	38
[2014 – 2015[	4	9
<b>Total</b>	45	

**Tableau II** : Répartition de NB selon les années.

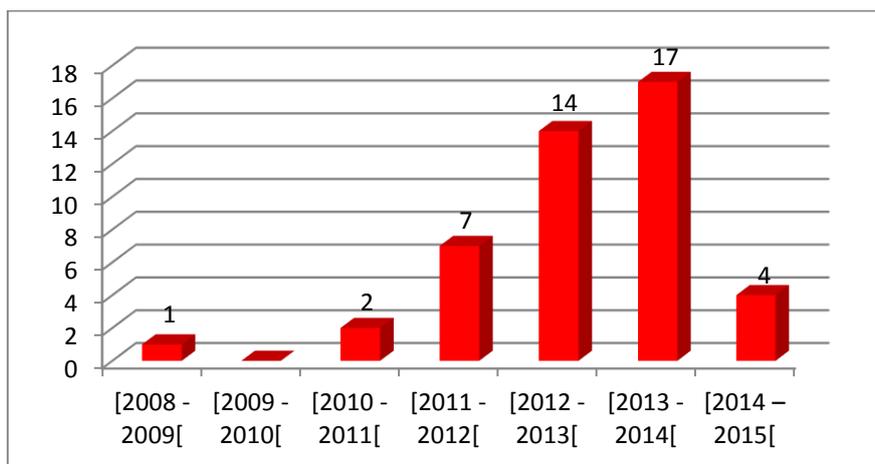


Figure 20 : Répartition de NB selon les années

2- répartition selon le sexe

Parmi les 45 cas étudiés, nous constatons qu’il y a 25 garçons et 20 filles. Le sexe ratio M/F est de 1.25.

Sexe	N cas	%
Garçons	25	56
Filles	20	44
Total	45	

Tableau III : Répartition de NB selon de sexe

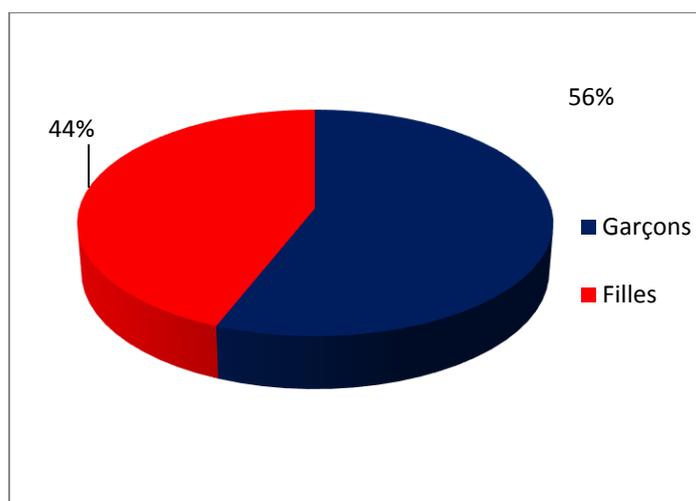


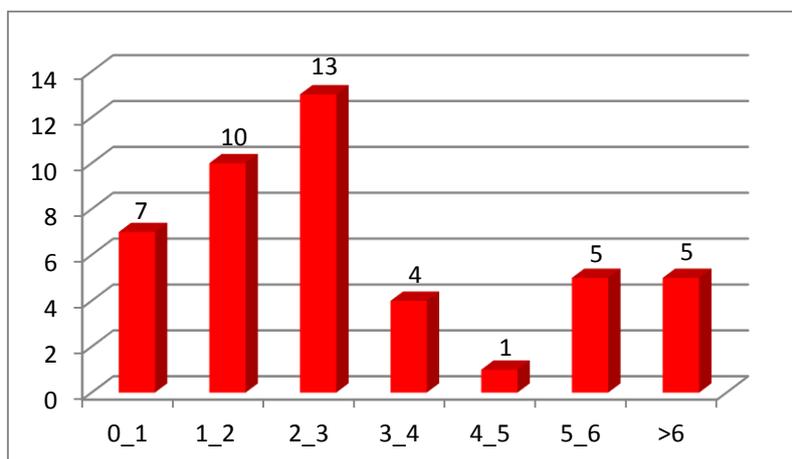
Figure 21: Répartition de NB selon le sexe

**3-Répartition selon l'âge**

L'âge des patients varie entre 4 mois et 16 ans, avec un âge moyen de 10 ans. La tranche d'âge comprise entre 2 – 3 ans était la plus touchée, soit 29% des cas.

Classe d'âge (ans)	N cas	%
[0-1[	7	16
[1-2[	10	22
[2-3[	13	29
[3-4[	4	9
[4-5[	1	2
[5-6[	5	11
>6	5	11
<b>Total</b>	45	

**Tableau VI :** Répartition de NB selon l'âge



**Figure 22:** Répartition de NB selon l'âge

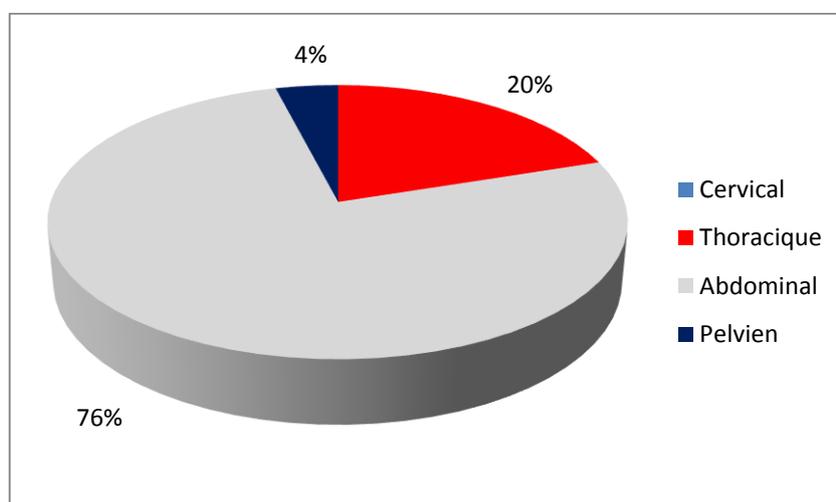
**4-Répartition des patients selon le siège**

Le siège abdominal est le plus fréquent (76%).

35 % des cas sont métastatiques au diagnostic.

Siège	N cas	%
Cervical	0	0
Thoracique	9	20
Abdominal	34	76
Pelvien	2	4
<b>Total</b>	<b>45</b>	

**Tableau V :** Répartition de NB selon le siège.



**Figure 23 :** Répartition de NB selon le siège.

**5-Répartition des patients selon le type histologique**

La plupart des patients sont atteints de NB avec un pourcentage de 58%.

Types	N. cas	%
NB	26	58
GNB Nodulaire	7	15
GNB Mélangé	9	20
Ganglioneurome	3	7
<b>Total</b>	<b>45</b>	

**Tableau VI:** Répartition de NB selon le type histologique

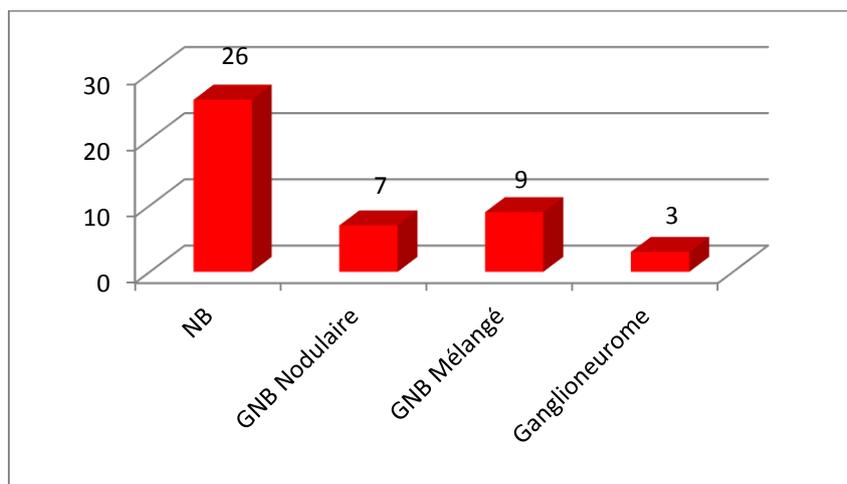


Figure 24 : Répartition de NB selon le type histologique

### I- 3.Etude globale

#### 1-Répartition selon les années

Du 1<sup>er</sup> Janvier 2008 au 30 Juin 2015, 52 cas de NB ont été identifiés dans le service d'anatomie pathologique de CHU Mustapha Pacha.

Les années	N cas	%
[2008 - 2009[	1	2
[2009 - 2010[	-	-
[2010 - 2011[	2	4
[2011 - 2012[	7	13.5
[2012 - 2013[	14	27
[2013 - 2014[	17	32.5
[2014 - 2015]	4	7.5
2015	7	13.5
<b>Total</b>	<b>52</b>	

Tableau VII : Répartition des NB selon les années.

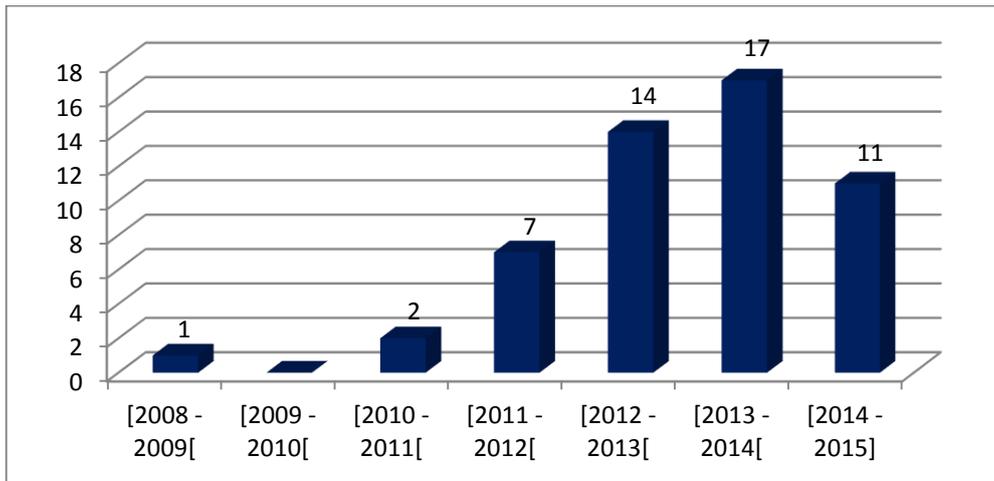


Figure 25 : Répartition des NB selon les années

2-Répartition selon le sexe

Parmi les 52 cas étudiés, il y a 29 garçons et 23 filles. Le sexe ratio M/F est de 1.26.

Sexe	N cas	%
Garçons	29	56
Filles	23	44
Total	52	

Tableau VIII : Répartition des NB selon de sexe

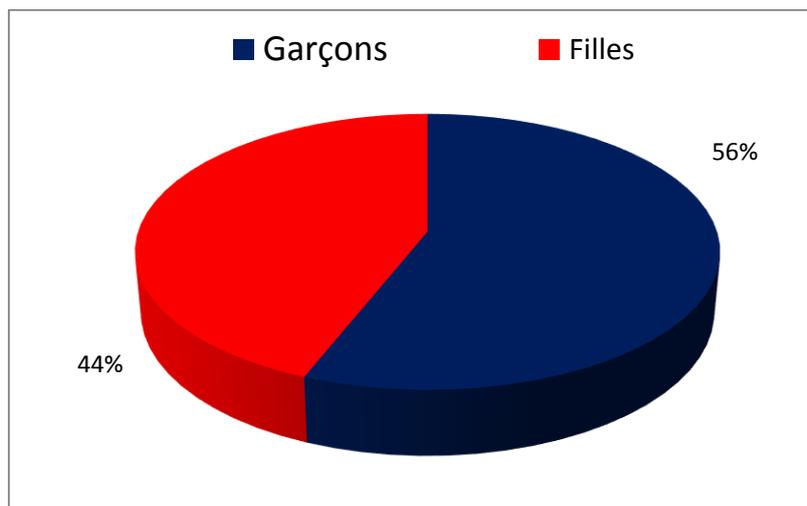


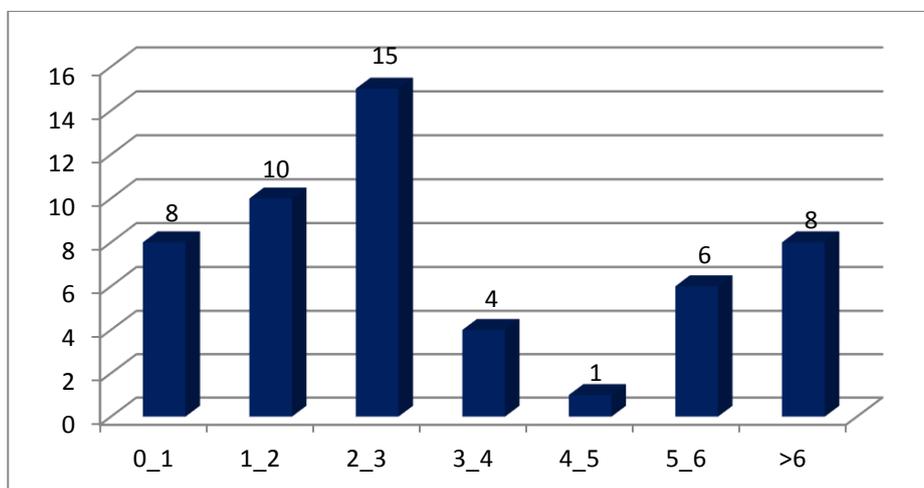
Figure 26 : Répartition des NB selon le sexe

**3-Répartition selon l'âge**

L'âge des patients varie entre 4 mois et 26 ans, avec un âge moyen de 15 ans. La tranche d'âge comprise entre 2 – 3 ans était la plus touchée, soit 28% des cas.

Classe d'âge (ans)	N cas	%
0-1	8	15
1-2	10	19
2-3	15	29
3-4	4	8
4-5	1	2
5-6	6	12
>6	8	15

**Tableau IX :** Répartition des NB selon l'âge



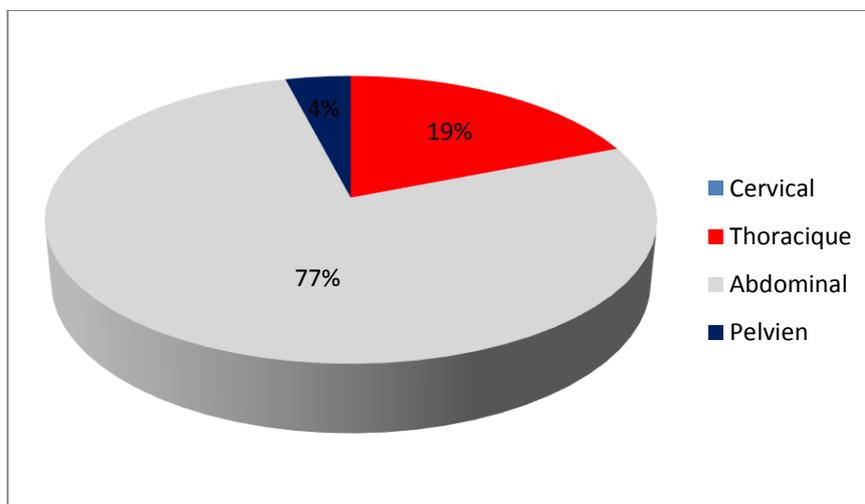
**Figure 27 :** Répartition des NB selon l'âge

**4-Répartition des patients selon le siège**

Le siège le plus fréquent est : Abdominal (77%). Parmi les 52 cas, 35% sont métastatiques.

Siege	N cas	%
Cervical	0	0
Thoracique	10	19
Abdominal	40	77
Pelvien	2	4
Total	52	

**Tableau X** : Répartition des NB selon le siège.



**Figure 28** : Répartition des NB selon le siège.

**5-Répartition des patients selon le type histologique**

La plupart des patients sont atteints de NB avec un pourcentage de 56%.

Types	N. cas	%
NB	29	56
GNB Nodulaire	7	13
GNB Mélangé	9	18
Ganglioneurome	7	13

**Tableau XI** : Répartition des NB selon le type histologique

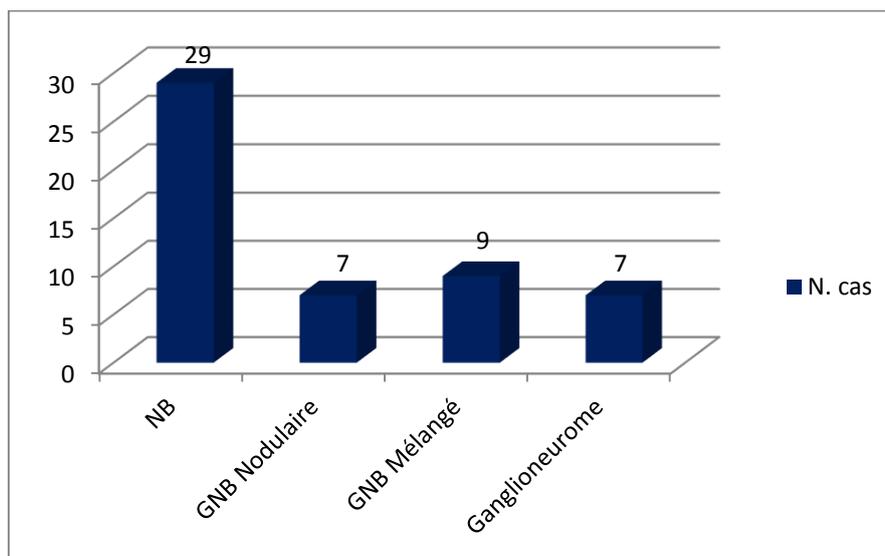


Figure 29 : Répartition des NB selon le type histologique

## II- Paramètres cliniques

### 1- Signes cliniques

Les patients présentent tous une masse / formation tumorale, avec une localisation différente (Thoracique, Abdominale et pelvienne), Des douleurs thoraciques ou abdominales et 35% des présentent des métastases.

### 2- Biologie

Parmi les 52 patients, 17 cas ont un taux de VMA élevé, 4 cas avec NSE (+).

### 3- Chimiothérapie

26 patients ont été traités par chimiothérapie avec des cures différentes.

### 4- Données radiographiques

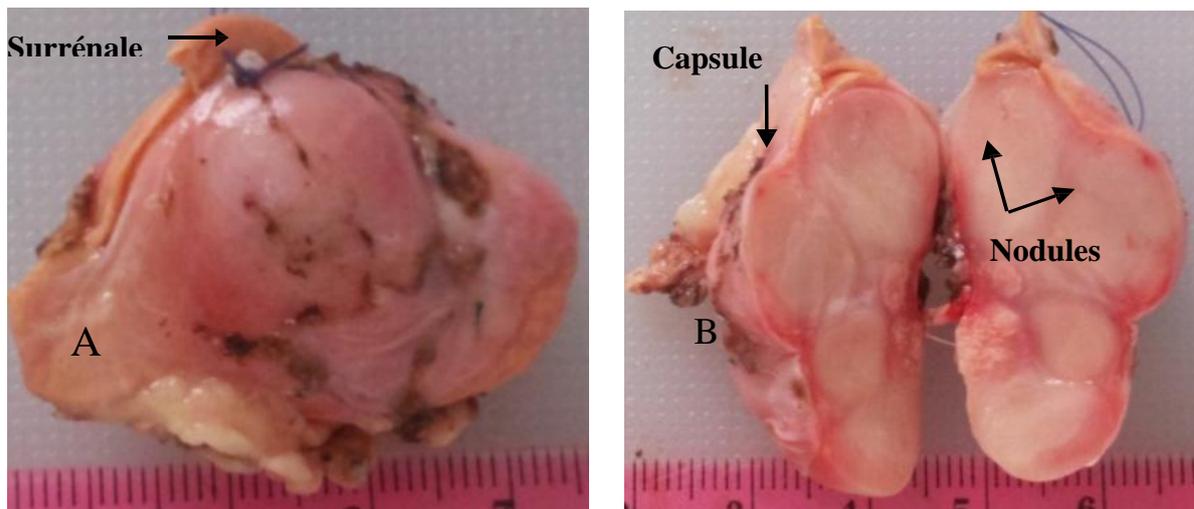
- L'échographie permet de voir et mesurer la tumeur quand elle se trouve au niveau abdominal et pelvien.
- L'imagerie par TDM est utile pour localiser avec précision la tumeur primitive.
- La scintigraphie permet la localisation des tumeurs. 15 patients ont un résultat positif ou fixant.

### III- Etude anatomopathologique

#### III- 1. Macroscopiquement

76% des patients ont un NB surrénalien.

La glande surrénale mesure 4 cm de grand axe. (Figure 30).



**Figure 30** : NB multi nodulaire bien encapsulé surmonté d'un surrénal jaune chamois (A et B). La tranche de section (B) montre un aspect multi nodulaire blanchâtre.

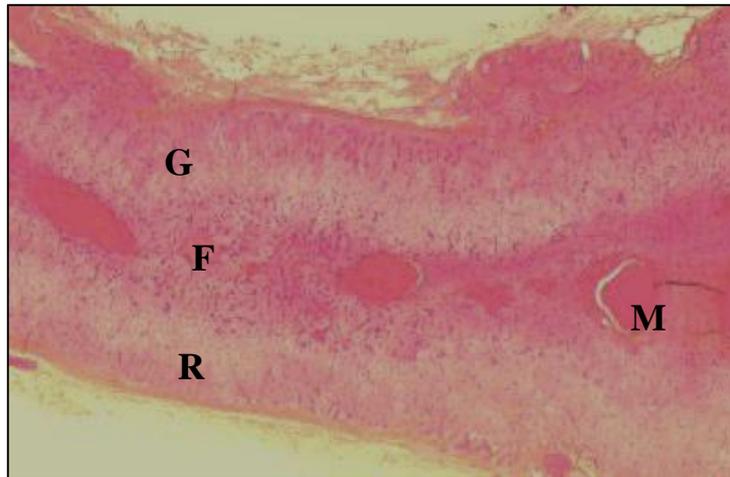
#### III- 2. Microscopiquement

##### III- 2.1. Etude histologique

##### 1- La glande surrénale

Elle est constituée de deux zones: la corticosurrénale et la médullosurrénale

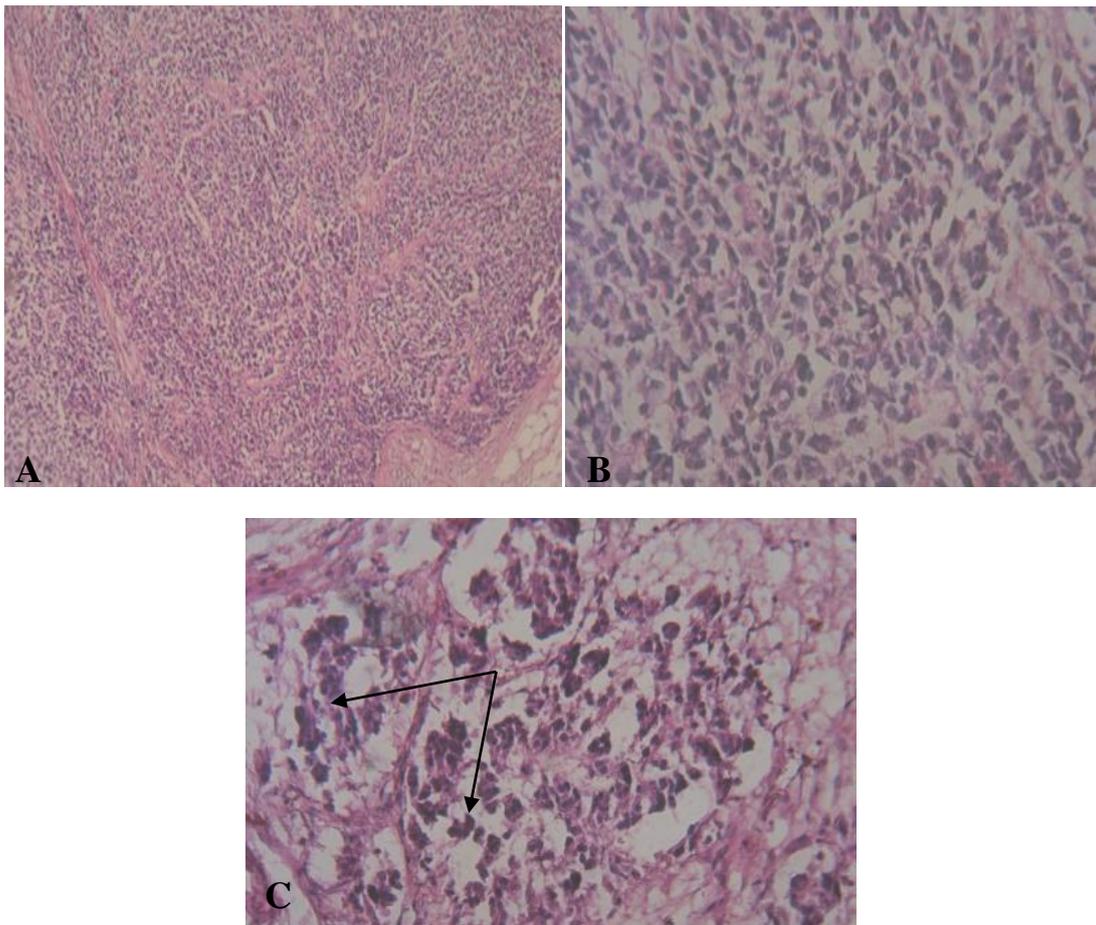
- La corticosurrénale externe qui comporte de la périphérie vers le centre:
  - la zone glomérulée (G) synthétisant les minéralo corticoïdes.
  - la zone fasciculée (F) synthétisant les glucocorticoïdes. Elle comporte 80% de cellules de grande taille au cytoplasme vacuolaire, clair agencées en cordons.
  - La zone réticulée (R) synthétisant les androgènes: 5à10%. Elle est faite de cellules compactes (éosinophiles, sans vacuoles).
- La médullosurrénale (M) centrale provient de la crête neurale. Elle est constituée de cellules neuroendocrines qui synthétisent les catécholamines (adrénaline et noradrénaline) (Figure 31).



**Figure 31:** Coupe histologique architecture de la surrénale saine.  
Coloration HE Gr X 20.

## 2- Neuroblastome

Il est constitué de petites cellules rondes monomorphes dotées de gros noyaux (**figure 32**).

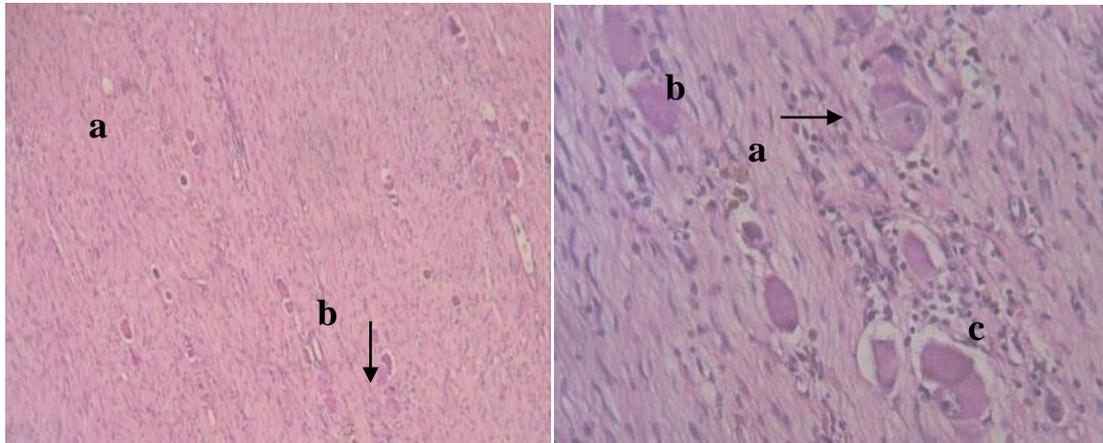


**Figure 32:** Coupe histologique de neuroblastome. Coloration HEGr X 20et 40.

**A:**indifférencié; **B:**peudifférencié; **C:**différenciation en rosettes.

### 3- Ganglioneurome

C'est une tumeur bénigne avec stroma Schwannien dominant (**figure 33**).

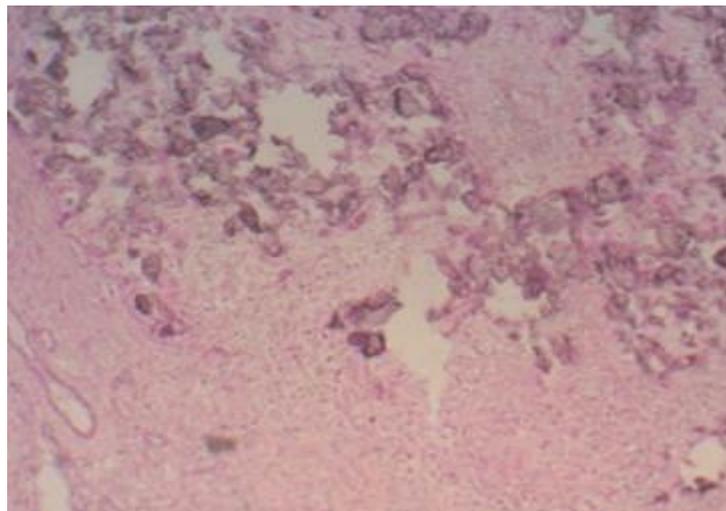


**Figure 33 :** Coupe histologique de ganglioneurome. Coloration HEGr X 20et 40.

Ganglioneurome: fond fibrillaire à stroma schwannien dominant; les cellules tumorales sont de type ganglionnaire (**a**); cellules ganglionnaires (**b**); et lymphocytes (**c**).

### 3- Calcifications

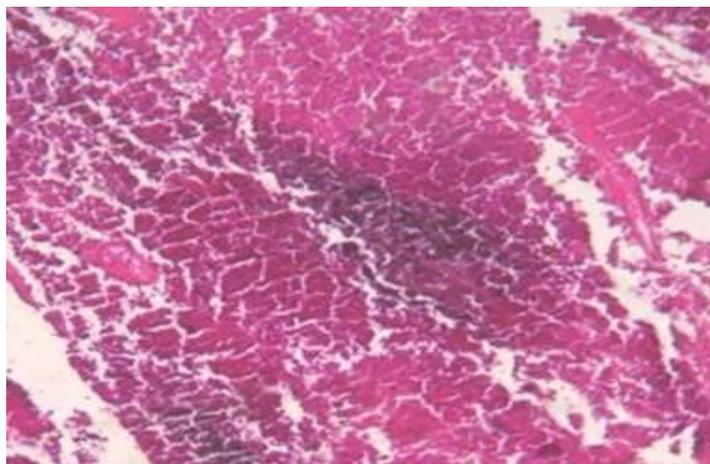
C'est un dépôt de calcium dans un tissu en voie de destruction (nécrose) ou en voie de dégénérescence (**Figure 34**).



**Figure 34 :** Calcifications

**- Nécrose**

La nécrose peut également toucher un ensemble de cellules, ou un tissu, alors que les autres parties de voisinage restent vivantes. La transformation qui en résulte est une mortification des cellules ou des tissus.



**Figure 35 : Nécrose tumorale**

**IV- Etude immunohistochimique**

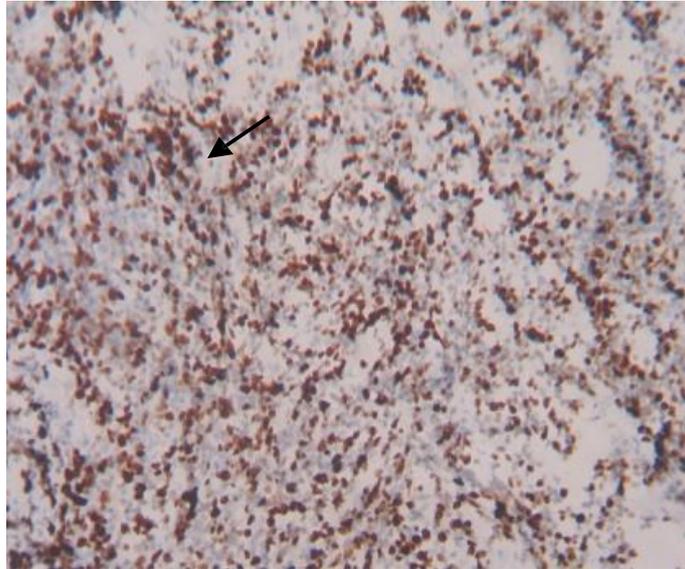
Quelques marqueurs des anomalies moléculaires ont été réalisés afin de réaliser des marquages immunohistochimiques sur 2 cas à savoir : KI67, P53, PS100, NSE.

Marqueurs N°	Ki67	P53	PS100	NSE
1	Expression intranucléaire intense et diffuse	Absence d'expression nucléaire	Expression plasmatique	Expression intracytoplasmique
2	Expression intranucléaire intense et diffuse	Absence d'expression nucléaire	Expression plasmatique	Expression intracytoplasmique

**Tableau XII : Expression des différents marqueurs sur les 2 cas étudiés**

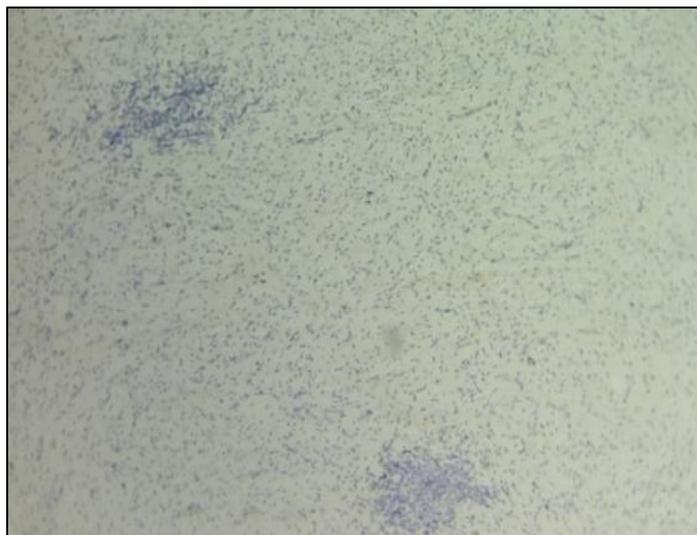
**1. Immunomarquage par Ki67**

Le ki67 est un antigène nucléaire dont l'expression est associée à la prolifération cellulaire. (Figure 36).



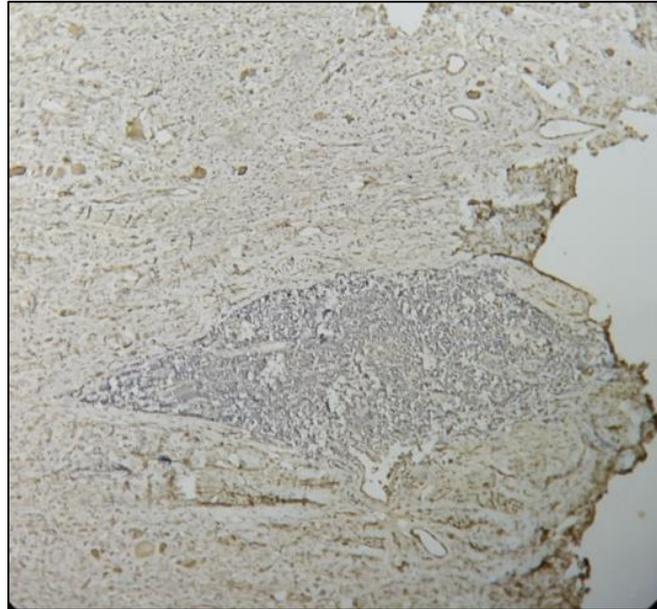
**Figure 36 :** Ki67 : Gx10 Une expression intranucléaire intense et diffuse.

**2. Immunomarquage par p53 (suppresseur de tumeur) (Figure 37)**



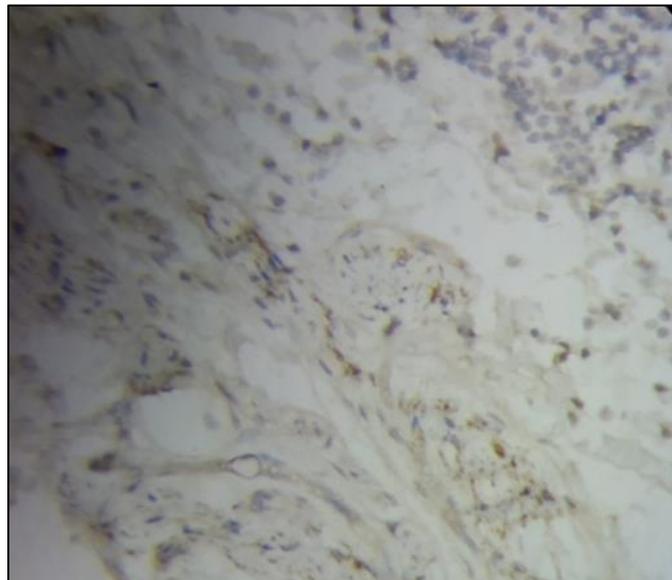
**Figure 37 :** P53 : Gx 10. Absence de marquage

**3. Immunomarquage par PS100 (Figure 38)**



**Figure 38 :** PS100 : Gx10 Une expression plasmatique apparait sur la figure avec une couleur marron (le fond fibrillaire).

**4. Immunomarquage par NSE (Figure 39)**



**Figure 39 :** NSE : Gx10 Expression intracytoplasmique

## Discussion

Le NB est une tumeur maligne de type embryonnaire dérivant des crêtes neurales, spécifique à l'enfant (Reyes, 2011).

Par de multiples aspects, il s'agit d'une maladie extrêmement hétérogène, stratifiée en plusieurs groupes de risques en fonction de facteurs pronostiques cliniques, histologiques et génétiques (Maris *et al.*, 2007).

Dans ce travail, nous étudions les différents facteurs pouvant influencer le pronostic, à travers une étude rétrospective et prospective de 52 dossiers de patients atteints de NB.

Le NB est situé au second rang des tumeurs solides extra crâniennes les plus fréquentes parmi les cancers pédiatriques après les tumeurs du système nerveux central. Elle représente environ 10 % des affections malignes pédiatriques et serait responsable de 15% des décès par cancer chez l'enfant (Gurney *et al.*, 1997).

Selon (Pearson AD, 2008), la tranche d'âge la plus touchée est de 2 à 3 ans .Ce qui est similaire à nos résultats.

Parmi nos patients, 2 étaient adolescents et ont présenté des NB différents. Cette particularité est souvent caractéristique des NB de l'adolescent comme l'ont précisé (Gaspar N *et al.*, en 2003).

D'après (D'Andon A *et al.*, 2004), il existe une prédominance masculine selon Pr. Chastagner P (CHU Nancy) et Dr. Doz F (Institut Curis), 2005), le sexe ratio global est de 1.13 M/F ce qui est similaire à nos résultats ; sexe ratio : 1.26 M/F.

Les signes cliniques sont extrêmement variables en fonction de la localisation, de la taille, de l'existence et de la localisation de métastases.

Selon (Plantaz D *et al.*, 2001), la localisation abdominale est plus fréquente dans 70% des cas, les formes thoraciques représentent 20% des cas et les formes pelviennes et cervicales 5% des cas environ, ce qui est en similitude avec nos résultats .

Selon (Sedrati S *et al.*, 2011), la localisation cervicale reste exceptionnelle. Les formes cervicales ne sont pas retrouvées dans cette étude.

D'après (Brisse H *et al.*, 2001), 50% des cas sont métastatiques, quant à nos résultats, les formes métastatiques sont de 35%.

Les NB abdominaux correspondent à 70% des cas et se développent dans l'espace rétropéritonéal (deux tiers au dépend de la glande surrénale et un tiers au dépend des chaînes ganglionnaires para-vertébrales).

Les signes cliniques révélateurs sont en général une masse abdominale fixée en profondeur, ferme, dure, irrégulière, parfois accompagnée d'une distension abdominale ou de signe de décompression digestive. (Maris, 2007 ; Bergeron, 1999).

Pour les NB thoraciques, Les patients présentent des manifestations respiratoires : compression trachéale ou œsophagienne, des douleurs radiculaires. (Maris, 2007 ; Bergeron, 1999).

Les métastases hépatiques ne se voient pratiquement que chez le très jeune enfant, il n'existe pratiquement jamais de métastases pulmonaires ou cérébrales. Un NB sur deux présente des métastases ostéomédullaires ou osseuses au moment du diagnostic. (Bernard, 2001).

Les tumeurs neuroblastiques périphériques peuvent sécréter des catécholamines en fonction de leur degré de différenciation. Ainsi, les Nb, tumeurs différenciées et peu différenciées, sécrètent des catécholamines, alors que les GNB n'en sécrètent que rarement. (Bertron, 2012).

La chimiothérapie initiale comprend des associations de Vincristine, Cyclophosphamide, avec ou sans Doxorubicine ou d'Epipodophyllotoxine, Cisplatine ou de Carboplatine. Les résultats sont améliorés si les doses sont élevées et les cycles de chimiothérapie rapprochés. (D'Andon et *al.*, 2004).

La scintigraphie à la MIBG est aussi utilisée dans le diagnostic du NB et peut même être positive dans les GNB et les GN. (Reyes, 2011).

La plupart des NB surviennent au niveau de la glande surrénale (dans notre étude, 76% des cas), selon (Stevens et Lowe, 1997), la tumeur est de petite taille ou constitue de volumineuses masses, elle envahit souvent les tissus voisins, la moelle osseuse et les os, 35% de nos cas sont métastatiques.

D'après (Tornoczky et *al.*, 2004), les neuroblastomes sont des tumeurs neuroblastiques pauvres en stroma (< 50% de stroma schwannien), pour nos cas de NB constituent de petites cellules rondes monomorphes dotées de gros noyaux.

· Forme indifférenciée : cellules petites à intermédiaires, indifférenciées à cytoplasme très peu abondant mal limité, noyaux arrondis, allongés, parfois nucléolés, absence de fond neurofibrillaire. Rarement composante de grandes cellules indifférenciées fusiformes ou pléomorphes.

· Forme peu différenciée : présence au moins focalement d'un fond neurofibrillaire, < 5% de cellules avec différenciation de type ganglionnaire, rosettes de Homer-Wright. Rarement composante focale ou diffuse de cellules indifférenciées, grandes, fusiformes ou pléomorphes, cette forme se caractérisant par un pléomorphisme marqué, de grands noyaux avec un ou plusieurs volumineux nucléoles, ces cellules ne doivent pas être confondues avec des cellules ganglionnaires.

· Forme différenciée : fond neurofibrillaire abondant, mais 6 à 49 % du volume tumoral, > 5% de cellules à différenciation ganglionnaire synchrone (noyau agrandi, excentré, vésiculaire à gros nucléole), cytoplasme abondant éosinophile ou amphophile. Ce n'est pas la quantité de fond neurofibrillaire, mais la proportion > 5% de cellules différenciées qui fait le diagnostic, présence de cellules de Schwann (stroma < 50% du volume tumoral), les 2 composantes sont intimement mêlées.

Ce qui est en similitude avec nos résultats.

Comme dans notre étude, le stroma peut présenter des remaniements nécrotiques, hémorragiques ou des calcifications fines. (Tornoczky et *al.*, 2004)

D'après (Weiss et Goldblum, 2001) ont constaté que le principal critère est la présence de cellules ganglionnaires entourées de cellules satellites celles-ci peuvent être soit localisées, soit réparties de façon diffuse, elles peuvent donc manquer sur certains plans de coupe, l'essentiel de la lésion est constitué par une prolifération de cellules de Schwann et d'axones, un fond fibrillaire à stroma schwannien dominant.

Ces aspects morphologiques ont également été notés dans ce travail

La NSE est une enzyme intracytoplasmique caractéristique des cellules nerveuses. Les neuroblastes de la tumeur ayant un taux de renouvellement rapide, les morts cellulaires sont nombreuses et ces cellules lysées larguent dans le sang circulant la NSE, que l'on peut marquer. Selon (Reyes, 2011) Son élévation est évocatrice et péjorative mais non spécifique du neuroblastome.

Pour (Pointillart V et *al.*, 2007), Une différenciation neuronale, en réalité peu spécifique mais néanmoins utile dans la mise en évidence de métastase de NB est recherchée par la NSE.

Nous constatons une expression intranucléaire intense et diffuse du Ki-67. Nos résultats sont en accord avec ceux de (Noriko et *al.*, 1994) qui ont corrélé l'augmentation de l'expression du Ki-67 à une progression tumorale intense.

La p53 n'est pas exprimé. (Moll et *al.*, 1995) ont rapporté que la plupart des NB indifférenciés (96%) présentait une accumulation anormale de p53 dans le cytoplasme des cellules. Cette incapacité à transloquer vers le noyau est due à l'amplification de N-MYC qui

induit la surexpression de MDM2. Cette protéine inhibe la p53 en la conduisant vers le protéasome pour être dégradé, ceci empêche probablement la p53 de fonctionner comme suppresseur de tumeur.

La protéine S-100 (PS-100) intervient dans le transport intracellulaire du calcium. Elle se trouve en concentration importante au niveau des cellules de Schwann (Beaudeau, 1999). La PS-100 est augmentée au niveau sérique dans certaines tumeurs tels que le gliome et le neuroblastome. (Brochez, 2000).

D'après (Fagnart et *al.*, 1988), Une élévation de la concentration plasmatique de la protéine S-100 a été retrouvée au cours de processus tumoraux en particulier d'origine neuroectodermique. L'apport de la protéine S-100 comme marqueur cellulaire de ces processus tumoraux est cependant trop faible pour être utilisé en pratique oncologique.

## Conclusion

Notre objectif était d'étudier les aspects anatomo-cliniques et les facteurs histopronostiques du NB. La technique d'immunohistochimie a été utilisée dans deux cas.

D'après les résultats obtenus dans le service d'anatomopathologie de l'hôpital Mustapha Pacha, nous avons constaté que :

Etude épidémiologique :

- Après les tumeurs du système nerveux central le NB est situé au second rang des tumeurs solides extra crâniennes les plus fréquentes parmi les cancers pédiatriques.
- La tranche d'âge la plus touchée de cette maladie est de 2 à 3 ans avec une discrète prédominance masculine.
- La localisation abdominale (76%) est plus fréquente dans la majorité des cas, suivie des formes thoraciques, pelviennes.

Etude anatomopathologique

- 76% des cas ont un neuroblastome surrenaliens.
- Neuroblastome (NB) est constitué de petites cellules rondes monomorphes dotées de gros noyaux, et il peut être différenciée, peu différenciée ou indifférenciée.
- Gonglioneurome (GN) qui constitue un fond fibrillaire à stroma schwannien dominant.
- Les calcifications et nécrose, deux phénomènes existant dans le NB, le 1<sup>er</sup> est un dépôt de calcium dans un tissu en voie de destruction (nécrose) ou en voie de dégénérescence, le second, correspond à une mortification des cellules ou des tissus.

Etude immunohistochimique

- Une expression intranucléaire intense et diffuse de Ki67
- Une expression intracytoplasmique de NSE.
- Absence d'expression nucléaire de P53.
- Une expression plasmatique de PS100.

La recherche sur le NB connaît actuellement de grandes avancées qui influencent le diagnostic et la prise en charge des patients. En effet, une thérapie ciblée est capable de bloquer la progression cancéreuse voire d'éliminer la tumeur chez certains enfants.

Dans les perspectives d'avenir, nous souhaiterions faire une étude en biologie moléculaire afin de détecter les anomalies génétiques comme l'amplification de N-Myc, mutation de ALK etc..

## Références bibliographiques

- **Ait Tanina (2013)**, Le neuroblastome est le 3ème cancer de l'enfant, après les hémopathies malignes et les tumeurs du système nerveux central. Santé-MAG N°22 - Septembre 2013.
- **Arndt V, Lacour B, Steliarova-foucher E, Spix C, Znaor A, Pastore G, et al., (2007)** ; Up to date monitoring of childhood cancer long term survival in europe : Tumors of the sympathetic nervous system, retinoblastom, renal and bone tumours, and soft tissue sarcomas. *Ann. Oncol* ; 18(10) : 1722-33.
- **Beaudeau J, Dequen L, Foglietti M. (1999)**. Pathophysiologic aspects of S-100 beta protein: a new biological marker of brain pathology. *Ann Biol Clin (Paris)* ; 57:261–72.
- **Bernard Jean-Louis, (2001)**. RHéOP - Réseau d'Hématologie et d'Oncologie Pédiatrique - PACA et Corse
- **Berthold F, Engelhardt fahrner U, Schneider A, Schumacher R and Zieschang J (1991)** « Age dependance and pronostic impact of neuron specific enolase (NSE) in children with neuroblastoma ». 5 :245 – 7.
- **Bertron Alice (2012)**, Thèse pour doctorat en medecine : les tumeurs composites surrenaliennes, phreochromocytome / gonglioneurome : caractéristiques cliniques et biologique d'une série de patients suivis aux CHU de Lille et de Rouen
- **Brochez L, Naeyaert JM. (2000)**. Serological markers for melanoma. *Br J Dermatol* ; 143:256–68.
- **Brodeur, G.M., Seeger, R.C., Schwab, M., Varmus, H.E., and Bishop, J.M. (1984)**. Amplification of N-myc in untreated human neuroblastomas correlates with advanced disease stage. *Science* 224, 1121–1124.
- **Carpenter EL, Mosse YP (2012)** Targeting ALK in neuroblastoma-preclinical and clinical advancements. *Nat Rev Clin Oncol*, 9(7):391-399.
- **Pr. Chastagner P (CHU Nancy) et Dr. Doz F (Institut Curie) (2005)**. Campus National de pédiatrie et chirurgie pédiatrique : Cancer de l'enfant, particularités épidémiologiques, diagnostiques et thérapeutiques.
- **Chen, Y., J. Takita, Y.L. Choi, M. Kato, M. Ohira, M. Sanada, L. Wang, M. Soda, A. Kikuchi, T. Igarashi, A. Nakagawara, Y. Hayashi, H. Mano, and S. Ogawa. (2008)**. Oncogenic mutations of ALK kinase in neuroblastoma. *Nature*. 455:971–4.
- **Chu CM, Rasalkar DD, Hu YJ, Cheng FW, Li CK, Chu WC. (2011)**. « Clinical presentations and imaging finding of neuroblastoma beyond abdominal mass and a review of imaging algorithm » 84 :81-91.
- **Corvi, R., Amler, L.C., Savelyeva, L., Gehring, M., and Schwab, M. (1994)**. MYCN is retained in single copy at chromosome 2 band p23-24 during amplification in human

neuroblastoma cells. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America *91*, 5523-5527.

- **D'Andon, A., Pein, F., Valteau-Couanet, D., and Hartmann, O. (2004).** Le neuroblastome.
- **De Brouwer, S., K. De Preter, C. Kumps, P. Zabrocki, M. Porcu, E.M. Westerhout, A. Lakeman, J. Vandesompele, J. Hoebeeck, T. Van Maerken, A. De Paepe, G. Laureys, J.H. Schulte, A. Schramm, C. Van Den Broecke, J. Vermeulen, N. Van Roy, K. Beiske, M. Renard, R. Noguera, O. Delattre, I. Janoueix-Lerosey, P. Kogner, T. Martinsson, A. Nakagawara, M. Ohira, H. Caron, A. Eggert, J. Cools, R. Versteeg, and F. Speleman. (2010).** Meta-analysis of neuroblastomas reveals a skewed ALK mutation spectrum in tumors with MYCN amplification. *Clin. Cancer Res.* 16:4353–4362.
- **Douc-Rasy, S., D. Goldschneider, K. Million, and J. Benard. (2004).** [Interrelations between p73 and p53: a model, neuroblastoma]. *Med Sci (Paris)*. 20:317–24.
- **Dupin, E., Calloni, G., Real, C., Goncalves-Trentin, A., and Le Douarin, N.M. (2007).** Neural crest progenitors and stem cells. *C.R.Biol.* 330, 521- 529.
- **Fagnart OC, Sindic CJM, Laterne C. (1988).** Particle counting immunoassay of S-100 protein in serum. Possible relevance in tumors and ischemic disorders of the central nervous system. *Clin Chem* ; 34 : 1387- 91.
- **George, R.E., T. Sanda, M. Hanna, S. Frohling, W. Luther, J. Zhang, Y. Ahn, W. Zhou, W.B. London, P. McGrady, L. Xue, S. Zozulya, V.E. Gregor, T.R. Webb, N.S. Gray, D.G. Gilliland, L. Diller, H. Greulich, S.W. Morris, M. Meyerson, and A.T. Look. (2008).** Activating mutations in ALK provide a therapeutic target in neuroblastoma. *Nature*. 455:975–8.
- **Glenn M. Marshall, Daniel R. Carter, Belamy B. Cheung, Tao Liu, Marion K. Mateos, Justin G. Meyerowitz & William A. Weiss. (2014).** The prenatal origins of cancer *Nature Reviews Cancer* 14, 277–289
- **Grande, E., M.-V. Bolós, and E. Arriola. (2011).** Targeting oncogenic ALK: a promising strategy for cancer treatment. *Mol. Cancer Ther.* 10:569–579.
- **Huber, K., C. Kalcheim, and K. Unsicker. (2009).** The development of the chromaffin cell lineage from the neural crest. *Auton Neurosci.* 151:10–6.
- **IGR (2004),** [http://www.igr.fr/service.php?p\\_m=download&p\\_file=pediatricsite/neuro/neuroblastome\\_pro.pdf](http://www.igr.fr/service.php?p_m=download&p_file=pediatricsite/neuro/neuroblastome_pro.pdf).
- **IGR (2006),** [http://www.igr.fr/?p\\_m=pediatrie&p\\_id=2907](http://www.igr.fr/?p_m=pediatrie&p_id=2907)
- **Ikeda, H., Hirato, J., Akami, M., Matsuyama, S., Suzuki, N., Takahashi, A., and Kuroiwa, M. (1995).** Bcl-2 oncoprotein expression and apoptosis in neuroblastoma. *Journal of pediatric surgery* 30, 805-808.

- **Ikegaki, N., Katsumata, M., Tsujimoto, Y., Nakagawara, A., and Brodeur, G.M. (1995).** Relationship between bcl-2 and myc gene expression in human neuroblastoma. *Cancer letters* 91, 161-168.
- **Imamura, J., Bartram, C.R., Berthold, F., Harms, D., Nakamura, H., and Koeffler H.P. (1993).** Mutation of the p53 gene in neuroblastoma and its relationship with N-myc amplification. *Cancer research* 53, 4053-4058.
- **Jacques Robert (2010) ;** « Signalisation cellulaire et cancer ; Un manuel pour les étudiants et les oncologues » édition springer 978 – 8178 – 0027.
- **Janoueix-Lerosey, I., D. Lequin, L. Brugieres, A. Ribeiro, L. de Pontual, V. Combaret, et al., (2008).** « Somatic and germline activating mutations of the ALK kinase receptor in neuroblastoma ». *455 :976-70.*
- **Jiang M, Stank J, Lahti JM. (2011).** The connections between neural crest development and neuroblastoma. *Curr Top Dev Biol* 94 :77 – 127.
- **Katzenstein HM, Cohn SL, Shore RM, Bardo DM, Haut PR, Olszewski M, et al., (2004).** « Scintigraphic reponse by MIBG scan correlates with event-free survival in high risk neuroblastoma ». *22 :3909-15.*
- **Knecht et Marianne Bronner – Fraser, (2002)** Induction of the neural crest : a multigene process, *Nature Reviews Genetics* 3, 453-461 doi : 10.1038/nrg819
- **Kohl, N.E., Kanda, N., Schreck, R.R., Bruns, G., Latt, S.A., Gilbert, F., and Alt, F.W. (1983).** Transposition and amplification of oncogene-related sequences in human neuroblastomas. *Cell* 35, 359–367.
- **LaBonne, C., and Bronner-Fraser, M. (1998)** Neural crest induction in *Xenopus*: evidence for a two-signal model. *Development* 125, 2403-2414.
- **Leung A, Shapiro B, Hattner R, Kim E, De Kraker J, Ghazzar N et al., (1997).** « Specificity of radioiodinated MIBG for neural crest tumors in childhood ». *38 :1352-7.*
- **Loriot Yohann et Mordant Pierre, (2011).** *Cancérologie* 256, 2294703758.
- **Maris, J.M., Hogarty, M.D., Bagatell, R., and Cohn, S.L. (2007).** Neuroblastoma. *Lancet* 369, 2106– 2120.
- **Meulemans, D., and Bronner-Fraser, M. (2004)** Gene-regulatory interactions in neural crest evolution and development. *Dev.Cell* 7, 291- 299.
- **Mosse, Y.P., M. Laudenslager, L. Longo, K.A. Cole, A. Wood, E.F. Attiyeh, M.J. Laquaglia, R. Sennett, J.E. Lynch, P. Perri, G. Laureys, F. Speleman, C. Kim, C. Hou, H. Hakonarson, A. Torkamani, N.J. Schork, G.M. Brodeur, G.P. Tonini, E. Rappaport, M. Devoto, and J.M. Maris. (2008).** Identification of ALK as a major familial neuroblastoma predisposition gene. *Nature.* 455:930–5.

- **Mueller S. et Matthay K.K. (2009).** « neuroblastoma : biology and staging », *Curr Oncol Rep* ; 11 :431 – 8.
- **Newgreen DF, Tan SS.; Pharmacol Ther. (1993)** Dec; Adhesion molecules in neural crest development 60(3):517-37.
- **Pointillart Vincent, Alain Ravaud, Jean Palussière. (2007).** Métastases vertébrales Deuxième édition p397, Springer-Verlag France, Paris
- **Plantaz D, Pasquier D, Dyon JF, Favrot H, Bost M (2001).** Neuroblastome : Aspect clinique, biologique et thérapeutiques actuels. Département de Pédiatrie – Laboratoire d’anatomie pathologie – Service de chirurgie pédiatrique générale – Unité de cancérologie. CHU Grenoble.
- **Reyes Pierre (2011).** Le neuroblastome : RHeop – Réseau d’hématologie et d’oncologie pédiatrique – PACA et Corse.
- **Schell M and Bergeron C (2003)** ; Neuroblastoma Orphanet Encyclopedia. <http://www.orpha.net/data/patho/GB/ukneuroblastoma.pdf>
- **Schwab, M., Alitalo, K., Klempnauer, K.H., Varmus, H.E., Bishop, J.M., Gilbert, F., Brodeur, G., Goldstein, M., and Trent, J. (1983).** Amplified DNA with limited homology to myc cellular oncogene is shared by human neuroblastoma cell lines and a neuroblastoma tumour. *Nature* 305, 245–248.
- **Schwab, M., Ellison, J., Busch, M., Rosenau, W., Varmus, H.E., and Bishop, J.M. (1984).** Enhanced expression of the human gene N-myc consequent to amplification of DNA may contribute to malignant progression of neuroblastoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 81, 4940–4944.
- **Shuster J.J, McWilliams N.B, Castleberry R, Nitschke R, Smith EI, Altshuler G, et al., (1992).** « Serum lactate deshydrogenase in childhood neuroblastoma. A pediatric Oncology Group recursive partitioning study » *Am J Clin Oncol* ; 15 : 295 – 303.
- **Slack, A., Chen, Z., Tonelli, R., Pule, M., Hunt, L., Pession, A., and Shohet, J.M. (2005).** The p53 regulatory gene MDM2 is a direct transcriptional target of MYCN in neuroblastoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, 731-736.
- **Teitz, T., Wei, T., Valentine, M.B., Vanin, E.F., Grenet, J., Valentine, V.A., Behm, F.G., Look, A.T., Lahti, J.M., and Kidd, V.J. (2000).** Caspase 8 is deleted or silenced preferentially in childhood neuroblastomas with amplification of MYCN. *Nature medicine* 6, 529-535.
- **Tornoczky T, Kalman E, Kajtar PG, Nyari T, Pearson AD, Tweddle DA et al., (2004)** Large cell neuroblastoma : a distinct phenotype of neuroblastoma with aggressive clinical behavior. *Cancer* ; 100(2):390-397.

- **Vogan, K., Bernstein, M., Leclerc, J.M., Brisson, L., Brossard, J., Brodeur, G.M., Pelletier, J., and Gros, P. (1993).** Absence of p53 gene mutations in primary neuroblastomas. *Cancer research* 53, 5269-5273.
- **Wakamatsu, Y., Y. Watanabe, H. Nakamura, and H. Kondoh. (1997).** Regulation of the neural crest cell fate by N-myc: promotion of ventral migration and neuronal differentiation. *Development (Cambridge, England)*. 124:1953–62.
- **WEISS SW, GOLDBLUM JR. (2001).** Soft tissue tumors. The CV Mosby company, St Louis, Fourth edition,
- **Westermarck, U.K., Wilhelm, M., Frenzel, A., and Henriksson, M.A. (2011).** The MYCN oncogene and differentiation in neuroblastoma. *Semin. Cancer Biol.* 21, 256–266.
- **Wright JH (1910) NEUROCYTOMA OR NEUROBLASTOMA, A KIND OF TUMOR NOT GENERALLY RECOGNIZED. *J Exp Med* 12: 556-561**
- **Zhu Y, Parada LF (2002) The molecular and genetic basis of neurological tumours. *Nat Rev Cancer* 2: 616-626**

## Annexe 1

### I- 6.1. Système international de classement du neuroblastome (international neuroblastoma staging system)

**Tableau I : Classification des différents stades du neuroblastome selon des critères exclusivement cliniques réévalués en 1993 (IGR, 2004).**

Stades	Caractéristiques anatomiques et histologiques
I	Tumeur limitée à son point d'origine. Ablation complète. Présence éventuelle de ganglions atteints inclus dans la tumeur.
II A	Tumeur limitée à son point d'origine. Ablation incomplète.
II B	Tumeur limitée à son point d'origine avec ablation complète ou incomplète. Les ganglions du côté atteint ne sont pas inclus dans la tumeur mais sont atteints à l'analyse histologique.
III	Tumeur localisée à un seul côté, non extirpable, traversant la ligne médiane. Il existe ou pas d'envahissement des ganglions régionaux. Ou Tumeur localisée à un seul côté ou tumeur à la ligne médiane avec envahissement des ganglions des deux côtés.
IV	Tumeur, avec métastases (à l'exception des éléments de la définition du stade 4S).
IV S	Tumeur initiale limitée à son point d'origine, retirée totalement avec des métastases (foie, la peau et/ou la moelle osseuses) sauf au niveau de l'os.

### I- 6.2. La classification internationale de la pathologie du neuroblastome (International Neuroblastoma Pathology Classification)

**Tableau II : Classification INPC (IGR, 2006).**

Dénomination	Stroma	Sous_type des cellules neuroblastiques
Neuroblastome	Pauvre	-indifférencié -peu différencié -différenciant
Ganglioneuroblastome mixte	Riche	Multiplés foyers microscopiques de cellules neuroblastiques.
Ganglioneuroblastome nodulaire	Riche par place Pauvre par place	-nodules macroscopiques à stroma pauvre. -inclus dans de larges zones à stroma riche.
Ganglioneurome	Riche	Schwannien prédominant.

### I- 6.3. Le groupe de risque international du neuroblastome (International NeuroblastomaRisk Group)

**Tableau III : International neuroblastoma Risk Group : Classification des différents stades tumoraux de neuroblastome en fonction cliniques, biologiques, histologiques (Cohn et al., 2009)**

Stades	Age	Histologie	Grade de différenciation	N-Myc	Altération de 11q	Groupe de risque avant traitement
L1 / L2		GN mature GNB mélangé				Très bas
L1		Tous sauf GN mature ou GNB mélangé		NA		Très bas
				AMP		Haut
L2	<18	Tous sauf GN mature ou GNB mélangé		NA	Non	Bas
					Oui	Intermédiaire
	>18	GNB nodulaire ; NB	Différencié	NA	Non	Bas
					Oui	Intermédiaire
		Peu différencié ou indifférencié	NA			
			A		Haut	
M	<18			NA		Bas
	<12			NA		Intermédiaire
	12à18			NA		Intermédiaire
	<18			AMP		Haut
	≥18					Haut
MS	<18			NA	Non	Très bas
					Oui	Haut
				AMP		Haut

NA : non amplifiée, GN : ganglioneurome, GNB : ganglioneuroblastome nodulaire.

### I- 6.4. Le groupe d'oncologie pédiatrique (The children's oncology group) (Monrovia, Californie, USA)

Le COG utilise comme facteurs principaux dans la classification du risque : l'âge, le stade post- chirurgical, l'amplification de N-Myc, des facteurs histologiques définis par le modèle de Shimida. L'actualisation de ces classifications permet d'améliorer les protocoles préexistant mais également de développer de nouvelles voies de recherche avec l'inclusion progressive de ces nouveaux facteurs dans ces classifications (Mueller et Matthay, 2009).

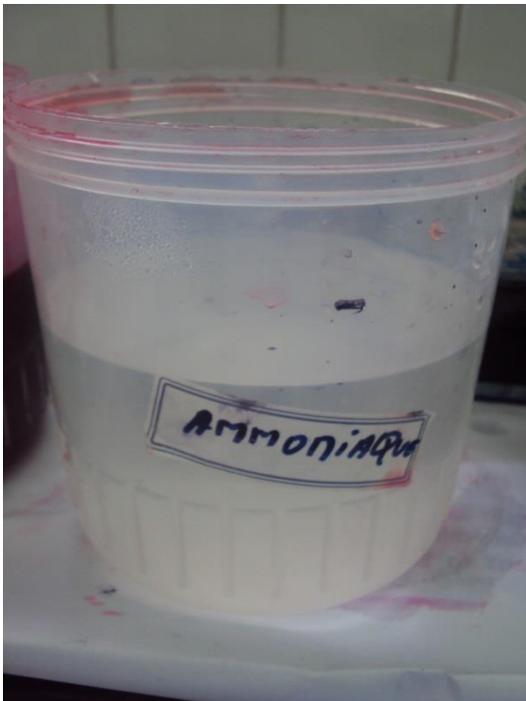
### Annexe 3



Cassettes



Lames d'étalement



Eau d'ammoniaque



Eosine



Hémalin



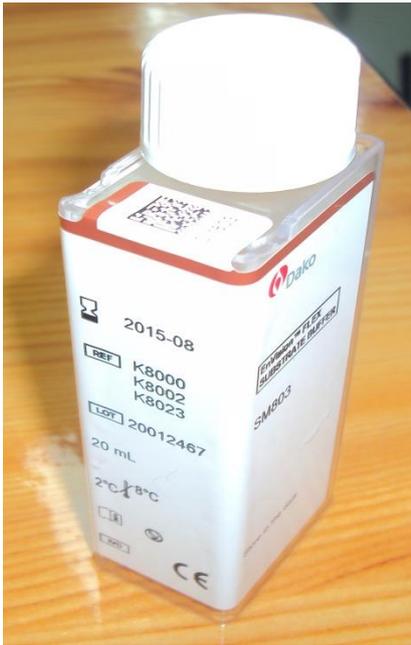
Micropipette



Panier de lames



Anticorps primaire et secondaire



Solution DAB chromogène