

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple-Un But-Une Foi

UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES ET DES
TECHNOLOGIES
DE BAMAKO (USTTB)



Faculté de Médecine et
d'Odontostomatologie



ANNEE UNIVERSITAIRE 2022-2023

N° 505

THESE

**Rétinoblastome : Description clinique et cytogénomique
par la technique d'hybridation fluorescente *in situ* (FISH)
au CHU Gabriel Touré (à propos de 5 cas)**

Présentée et soutenue publiquement le 30 / 11 /2023 Devant la Faculté de Médecine et
d'Odontostomatologie (FMOS)

Par M. Seydou COULIBALY

**Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine
(Diplôme d'Etat)**

JURY

Président : M. Boubacar TOGO, Professeur

Membre : Mme. Fatoumata SYLLA, Maitre de Conférences

Membre : M. Mamadou KEITA, Pharmacien

Directeur : M. Fousseyni TRAORE, Maitre de Conférences

Co-Directeur : Mr. Oumar SAMASSEKOU, Maitre de Conférences



Dédicaces

Je dédie ce travail a :

A mon père : BOURAMA COULIBALY

Pour tous les sacrifices que vous avez consentis à mon égard afin que je puisse mener à bien mes études. Vous avez su m'inculquer le sens du devoir ; de la responsabilité ; de l'honneur et de l'humilité. Vous m'avez toujours fait confiance et je n'espère ne jamais vous décevoir. Que Dieu vous donne une longue vie. Amen !

A ma mère : ASSITAN MARICO

Merci pour toute l'affection que vous m'aviez donnée en ce jour solennel, personne mieux que vous, ne mérite cette reconnaissance. Ce travail, fruit de votre amour, de votre bénédiction et de votre sagesse, traduit toute votre volonté et disponibilité pour la réussite de vos enfants. En vous, nous avons trouvé l'amour et l'attention d'une mère. Nous espérons être à la hauteur de votre confiance, ce travail est le tien. Que Dieu vous donne encore longue vie pour récolter le fruit de tant d'années de labeur. Trouvez ici tout l'amour que je porte pour vous ma maman.

A mon Tonton feu ZANKOURA COULIBALY

De votre vivant vous étiez très décidé à œuvrer pour notre réussite et vous nous avez toujours mis dans les conditions les meilleurs possibles pour y parvenir, mais vous voilà absent ce jour tant souhaité. ce travail est le fruit de votre bénédiction, de votre éducation, et vos conseils bien prodigués.

À ma tante MAGASSI COULIBALY :

Vous avez toujours été là pour moi, avec tendresse, générosité, et tolérance. J'espère que vous trouverez dans ce travail l'expression de ma grande estime et de ma profonde affection.

Que Dieu vous garde et vous accorde tout le bonheur et toute la santé du monde.

A mon épouse : SALIMTA COULIBALY

L'amour c'est toujours tout partager sans rien attendre en retour. Tu es une amie, une confidente et un soutien. Ma chérie, tu m'as toujours respecté, encouragé et accompagné dans tout. Femme de paix et d'endurance, avec toi tout semble facile, car comme tu me le dis toujours le don de soi est un acte noble et le meilleur des récompenses. Ce travail est l'occasion pour moi de te témoigner tout mon amour, toute ma gratuité et ma reconnaissance pour ta disponibilité et ton soutien sans faille. Que nous donne une longue vie.

A mes enfants :

Je vous dédie cet humble et modeste travail avec grand amour, sincérité et fierté. Puisse cette étape constituer pour vous une source de tendresse, de noblesse, d'affection énorme et témoignage de la fraternité avec mes souhaits de bonheur, de santé de succès. Votre affection me couvre, votre bienveillance me guide et votre présence à mes côtés a toujours été une source de force pour affronter les différents obstacles. Longue vie à vous et je vous aime énormément.

AUX ENFANTS ATTEINTS DE CANCER : En souci de votre vie pénible, en mémoire des moments durs que nous avons eu à passer ensemble et surtout la confiance que vous nous avez portée. A cœur ouvert, je vous souhaite prompt rétablissement.

REMERCIEMENTS

A ALLAH Subhana wa ta'ala Le Tout Miséricordieux, Le Très Miséricordieux de qui par sa grâce, sa miséricorde, sa clémence et sa bonté nous a permis d'être là où nous sommes. Louange à LUI, bénédiction et salut sur son bien aimé Muhammad, sur sa famille, sur ses compagnons ainsi que tous ceux qui l'auront suivi jusqu'au dernier jour.

Mes remerciements vont à l'endroit de tous mes enseignants de l'école DANTOUMA TOGOLA de Massigui, du lycée Privé KALILOU MARIKO de Massigui, de la faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie et de la faculté de Pharmacie.

❖ Au Professeur Boubacar TOGO

Votre humanisme, votre disponibilité et votre dévouement nous laisse sans voix. Vous avez su nous montrer que l'humilité est l'une des valeurs sociales les plus importantes, soyez en remercié.

❖ Au professeur FOUSSEYNI TRAORE :

Merci de m'avoir accepté dans l'unité d'oncologie. Votre disponibilité, votre simplicité et votre amour pour la recherche nous ont permis de mener à bien ce travail.

❖ Au professeur OUMAR SAMASSEKOU :

Votre collaboration m'a été d'une aide très précieuse. Vous avez été un père, un guide et une idole pour moi. Ce travail est aussi le vôtre. Recevez mes remerciements les plus sincères.

❖ Au professeur FATOUMATA SYLLA :

Séduit par vos qualités d'homme de science, votre raisonnement, et votre clairvoyance, vous avez dès lors suscité notre admiration et le désir d'être compté parmi vos élèves. Avec le temps nous découvrièmes un maître plein d'humanisme, d'humilité, de spiritualité, et d'une simplicité exemplaire. Qu'ALLAH vous donne une longue vie plein de bonheur, de santé et de succès.

❖ Au docteur MAMADOU KEITA :

Merci de votre disponibilité et de vos conseils, vous êtes un encadreur exemplaire et dévoué pour la cause de ses étudiants. Recevez toute notre profonde gratitude.

❖ Au département de pédiatrie :

Professeur BOUBACAR TOGO, Docteur FOUSSEYNI TRAORE, Docteur ARSENE DACKONO, Docteur ABDOUL KARIM DOUMBIA, Docteur PIERRE TOGO, MADAME DIARRA MARIAM DIARRA, TANTE LUCIENNE TRAORE, MALLE ADAM, DIAKITE FATOUMATA

Merci infiniment pour l'accueil dans le service et tout l'enseignement que vous m'avez procuré. Pour la bonne collaboration et l'amitié indéfectible qui est restée constante. Courage pour le dur labeur à fournir. Pour votre sympathie et la bonne collaboration. Merci pour la confiance que vous m'avez accordée, les enseignements et la bonne collaboration.

❖ **A toute l'équipe du département de la neurologie :**

Docteur ABDOULAYE YALCOUYE, Docteur ABDOULAYE MAMOUTOU SANGARE

A toute l'équipe de Neurogénétique : Professeur GIUNDO CHEICH OUMAR, Professeur MAMOUTOU TRAORE, Docteur ONGOIBA CHRISTINE (grand-sœur), Professeur SOULEYMANE COULIBALY, Docteur GUIDA LANDOURE, Professeur OUMAR SAMASSEKOU, Docteur COULIBALY SOULEYMANE, Docteur Di SALIMATA DIALLO, Docteur MODIBO GOITA, Docteur AMORO TRAORE, Docteur OUSMANE DOUMBIA

❖ **Au GFAOP :** Pour votre apport inestimable pour traitement des cancers pédiatriques en Afrique.

❖ **A mes maîtres :** Professeur BOUBACAR TOGO, Docteur FOUSSEYNI TRAORE, Docteur PIERRE TOGO, Docteur KARIM DOUMBIA, Docteur ARSENE DACKNO

Merci infiniment pour l'accueil dans le service et tout l'enseignement que vous m'avez procuré.

A mes amis(es) thésards du service : AMI SANGARE, Docteur AWA DOUMBIA, Docteur NANA KOUMA, SAMBA BALLO, BINTOU, Docteur BOUREIMA BERTHE, pour votre sympathie et la bonne collaboration. Vous avez fait de l'unité un havre où règne amabilité jovialité, courtoisie.

❖ **A mes amis et frères :** Docteur CAMARA WALLY, Docteur YOUSOUF MARIKO, Docteur ISSA HAMA TOURE, LASSINE CAMARA, SEKOU TRAORE, Docteur CHEICK OUMAR SIDIBE, vos encouragements, vos soutiens tant financiers que morales, votre considération ainsi que votre amitié sont pour moi une source de réconfort.

❖ **A mes frères et sœurs :** ISSIAKA M'Bo COULIBALY, SIDY COULIBALY, FATOUMATA COULIBALY, AMINATA FILY COULIBALY, SALIA COULIBALY, YOUSOUF COULIBALY, SATOU COULIBALY, BAKARY COULIBALY, MARIAM COULIBALY, DIAKARIDIA COULIBALY, OUMOU COULIBALY, SIAKA COULIBALY

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut.... Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance que nous portons à votre égard.

Trouvez ici l'expression de nos sentiments fraternels, recevez ainsi toute notre gratitude. Qu'Allah vous comble de sa grâce et de sa miséricorde.

❖ **A mes amis :** je m'abstiens de citer au risque de ne pas heurter et de créer des vindicatifs :

Votre soutien dans les moments tumultueux de ma vie restera gravé à jamais dans les sillons de mon hippocampe. Votre grande attention et votre disponibilité ont été une aide précieuse pour moi. Par ces quelques mots d'amitié, je tiens à vous exprimer ma gratitude et ma reconnaissance sans failles. Que dieu vous bénisse et fortifie encore plus nos liens. Amen !

❖ **A tout le personnel de l'ADASCO.**

❖ **A tous ceux que j'ai malheureusement oubliés :** exercice difficile que de remercier tout le monde sans omettre une personne ! Ne m'en portez point rigueur, je vous porte tous dans mon cœur.

❖ **A mes camarades de la 13^{eme} promotion du numerus clausus :**

Vous avez été plus que des camarades pour moi au-delà de cette relation scolaire qui nous lie, vous avez su faire de cette classe une famille, merci pour votre bonne collaboration.

❖ **A la famille COULIBALY :**

Une belle famille exemplaire, grâce à votre bonté je n'ai eu aucune difficulté à m'intégrer, merci de l'accueil, merci de l'hospitalité.

HOMMAGE AUX MEMBRES DU JURY

À NOTRE MAITRE ET PRÉSIDENT DU JURY

Professeur BOUBACAR TOGO

- **Professeur Titulaire en Pédiatrie à la FMOS**
- **Pédiatre Oncologue**
- **Chef du Département de Pédiatrie du CHU Gabriel TOURE.**
- **Chef de l'unité d'Oncologie Pédiatrique du CHU Gabriel TOURE.**
- **Membre de l'académie des sciences maliennes**
- **Membre du GFAOP**

Cher maître,

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations.

Votre sympathie, votre disponibilité, votre humilité et votre rigueur scientifique forcent l'admiration.

Vos remarquables suggestions ont contribué à l'amélioration de ce travail.

Permettez-nous de vous exprimer ici monsieur le président, l'expression de notre profonde gratitude.

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Pr FATOUMATA Sylla

- **Maitre de Conférences Agrégée en ophtalmologie à la faculté de médecine et d'Odonto-Stomatologie**
- **Ophtalmo- Pédiatre**
- **Chef de département formation au CHU-IOTA**
- **Vice-présidente de la Société Malienne d'Ophtalmologie**
- **Membre de la société Africaine Francophone d'ophtalmologie**

Cher maître,

Nous sommes profondément honorés par votre présence au sein de ce jury.

Votre pragmatisme et vos qualités scientifiques ont marqué notre esprit.

Malgré vos multiples sollicitations, vous avez spontanément accepté d'évaluer ce travail et de l'améliorer par votre contribution.

Recevez, cher Maître, l'expression de toute notre gratitude et notre profond respect.

A notre maître et membre du jury

Dr MAMADOU KEÏTA

- **Docteur en pharmacie ;**
- **PhD en biologie cellulaire et moléculaire ;**
- **Détenteur d'une maîtrise en immunologie ;**
- **Co-investigateur de laboratoire de biologie clinique pour les instituts nationaux de la santé des USA au Mali.**

Cher maître,

Honorable maître, nous ne cesserons jamais de vous remercier pour la confiance que vous aviez placée en nous, pour effectuer ce travail. Votre rigueur scientifique, votre assiduité, votre remarquable ponctualité, votre simplicité hors norme, votre amour du travail bien fait, votre courage et vivacité font de vous un grand homme de science dont la haute culture scientifique forge le respect et l'admiration de tous. C'est un grand honneur et une fierté pour nous de compter parmi vos élèves. Nous vous prions cher Maître, d'accepter nos sincères remerciements et l'expression de notre infinie gratitude.

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR

Pr FOUSSEYNI TRAORE

- **Professeur Agrégé en Pédiatrie a la FMOS**
- **Enseignant à la FMOS**
- **Pédiatre Oncologue**
- **Praticien hospitalier au CHU Gabriel TOURE**

Cher maître,

C'est un grand honneur et un réel plaisir que vous nous avez fait en acceptant de diriger ce travail. Vos qualités scientifiques, votre disponibilité et votre simplicité nous ont marquées dès le premier abord.

Vous avez accepté malgré vos multiples sollicitations d'encadrer ce travail.

Veillez trouver ici cher maître, l'expression de notre profonde reconnaissance et de notre très haute considération.

A notre Maitre et Co-directeur

Pr OUMAR SAMASSEKOU

- **Spécialiste en génétique génomique (MD, PhD) ;**
- **Membre de la Société Malienne de Génétique Humaine ;**
- **Membre de la Société Africaine de Génétique Humaine ;**
- **Membre du consortium Human Hereditary and Health in Africa (H3Africa).**

Cher maître,

Vous nous avez toujours manifesté un attachement et une sympathie auxquels nous n'avons jamais su répondre en totalité. L'intégrité, l'assiduité, le courage, le sens élevé de la responsabilité, le souci du travail bien fait sont des qualités que vous incarnez et qui ont forcé notre admiration. Vous nous avez inculqué le savoir-faire et le savoir être.

L'amabilité et la spontanéité avec lesquelles vous avez dirigé ce travail nous honorent.

Trouvez ici l'expression de nos remerciements les plus distingués.

Table des matières

1. INTRODUCTION	1
2. OBJECTIFS :	3
2.1 Objectif général :	3
2.2 Objectifs spécifiques :	3
3. GENERALITÉS	4
3. 1. Rappel Anatomique :	4
3.2. Rétinoblastome :	8
4. GENETIQUE DU RETINOBLASTOME :	25
4.1. Conseil génétique du rétinoblastome :	26
4.2. Généralités sur l'hybridation in situ en fluorescence	30
5. METHODOLOGIE :	35
5.1. Cadre de l'étude :	35
5.2. Type et Période d'étude :	35
5.3. Population d'étude :	35
5.4. Critère d'inclusion :	35
5.5. Critère de non inclusion	35
6. RESULTATS :	38
7. Commentaires et discussion :	47
8. CONCLUSION	50
9. RECOMMANDATIONS	51
10. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :	52
ANNEXE 1 :	59

Liste des Figure

Figure 1 : Anatomie de l'œil.....	5
Figure 2 : Fond d'œil	6
Figure 3 : Anatomie de la rétine	7
Figure 4 : Couches histologiques identifiées de l'extérieur vers l'intérieur de la rétine	7
Figure 5: représentation schématique de l'architecture vasculaire et de la circulation du sang de la rétine. A : artériole ; V : veinule ; flèches : circulation du sang (Figure adaptée de Paques, Tadayoni et al. 2003)	8
Figure 6: Leucocorie bilatérale dans les yeux	9
Figure 7: Strabisme de l'œil gauche chez un RB négligé découvert au stade de	9
Figure 8: un hypopion Figure 9 : exophtalmie	10
Figure 9: vascularisation de la lésion tumorale qui apparait en relief, blanche et hypervascularisée [17].....	10
Figure 10: Retinocytome chez un enfant	11
Figure 11: Enfant de deux ans atteint d'un rétinoblastome trilatéral et d'une tumeur cérébrale (flèches) (A) avant et (B) 2 mois après une chimiothérapie systémique à haute dose.	12
Figure 12: aspect à l'échographie B d'un RB : masse tumorale tissulaire hétérogène par la présence de calcification	13
Figure 13: calcification intra tumorale unilatérale d'un RB bien visible à la TDM(Tomodensitométrie)	13
Figure 14: Extension tumorale du nerf optique d'un RB à l'IRM	14
Figure 15: aspect macroscopique du RB de la pièce énuclée ; la tumeur blanche friable endophytique	14
Figure 16: aspect histologique d'un RB bien : prédominance des formations en rosette de Flexner Winter Steiner (flèche rouge)	15
Figure 17: maladie de Coats stade tardif (télangiectasies compliquées de décollement de rétine exsudatif (Balmer A 2005), l'hyperplasie du vitré primitif	17
Figure 18: persistance de vitré primitif. A gauche échodoppler oculaire montrant la vascularisation hyaloïdienne. A droite étirement des procès ciliaires caractéristiques	17
Figure 19 : Classification internationale du RB. (A) petite tumeur confinée à la rétine et distante de la macula et NO (nerf optique) (flèche noire). (B1) deux petites tumeurs confinées à la rétine et adjacente au NO. (B2) petite tumeur entourée d'un DR minime. (C) tumeur entourée d'un DR plus étendu et essaimage vitréen focal. (D) essaimage vitréen diffus. (E) la tumeur remplie 2/3 du globe. Rodriguez-Galindo 2015.	19

Figure 20 : Chimiothérapie intra-artérielle pour le rétinoblastome du groupe D avec ensemencement sous-rétinien étendu, montrant le contrôle (A) avant et (B) après le traitement .	20
Figure 21 : Chimiothérapie intra-artérielle pour le rétinoblastome du groupe E avec ensemencement sous-rétinien étendu pendant toutes les heures d'horloge et aucune vue du disque optique, montrant le contrôle (A) avant et (B) après le traitement .	20
Figure 22:modele de transmission de rétinoblastome selon la théorie de Knudson.....	26
Figure 23:Etude moléculaire directe.....	28
Figure 24 : illustration du principe de FISH.....	31
Figure 25:FISH interphasique montrant des résultats normaux :2sgnaux rouges du locus 13q14..	34
Figure 26 : Répartition des patients en fonction du sexe.....	38
Figure 27 : représentation de patients en fonction de leurs noyaux interphasiques	43
Figure 28 : représentation des patients en fonction de leur métaphase.	44
Figure 29 : Représentation schématique de Pedigree du patient P1, P2, P3, P4.	45
Figure 30 : Représentation schématique du pedigree du patient P5.....	46

Liste des tableaux

Tableau 1:Classification de Reese et Ellsworth du RB	18
Tableau 2: Classification de Murphree (ABC) du RB	19
Tableau 3 : Répartition des patients en fonction de l'âge.....	38
Tableau 4 : Répartition des patients en fonction de l'âge du père.....	39
Tableau 5 : Répartition des patients en fonction de l'âge de la mère.	39
Tableau 6 : Répartition des patients en fonction de l'ethnie.	39
Tableau 7 : Répartition des patients selon la provenance.....	40
Tableau 8 : Répartition des patients en fonction des manifestations de découverte.	40
Tableau 9 : Répartition des patients selon la forme du rétinoblastome.....	40
Tableau 11 : Répartition des patients selon l'âge d'apparition de la maladie.	41
Tableau 12 : Répartition des patients en fonction du délai de consultation.	41
Tableau 12 : Répartition des patients en fonction de la classification ABC.	41
Tableau 14 : Répartition des patients selon le devenir.	42
Tableau 16 : Répartition des patients en fonction des résultats de la FISH	42

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

ADN	: Acide Désoxyribonucléique
ADNc	: Acide Désoxyribonucléique complémentaire
ARNm	: Acide Ribonucléique messenger
BCR	: BCR activator of RhoGEF and GTPase
CS	: Cellule Souche
CSH	: Cellule Souche Hématopoïétique
ELN	: European LeukemiaNet
Fig.	: Figure
FISH	: Fluorescence In Situ Hybridation
g	: gramme
g/dl	: gramme par décilitre
g/l	: gramme par litre
g/jr	: gramme par jour
K	: Potassium
KCl	: Chlorure de potassium
ME	: Milieu Extracellulaire
mg/jr	: milligramme par jour
MI	: Milieu Intracellulaire
mm ³	: millimètre cube
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
PCR	: Polymérase Chain Réaction
Ph	: Philadelphie
PM	: Poids Moléculaire
PNA	: Acide Nucléique Peptidique
Tab	: Tableau
TBS	: Tris-buffered saline
SOMAO	: Société malienne de l'ophtalmologie
TDM	: Tomodensitométrie
GFAOP	: Groupe Franco-Africain d'oncologie pédiatrique
FMOS	: Faculté de médecine et d'odontostomatologie
FO	: Fond d'Œil
IOTA	: Institut d'Ophtalmologie Tropicale de l'Afrique
IRM	: Imagerie par Résonance Magnétique

NO : Nerf Optique
RETCAM® : Camera + Ordinateur pour la visualisation des fonds des yeux
CME : Conseil médical des enseignants
CEV : Carboplatine-Etoposide-Vincristine
FDH : Facteur de Risque Histologique
RB : Rétinoblastome
CHU : Centre Hospitalier Universitaire

1. INTRODUCTION

Le rétinoblastome (*RB*) est une forme de tumeur oculaire qui se manifeste fréquemment à bas âge, et exceptionnellement à l'âge avancé, secondaire à une mutation du gène *RBI*, gène suppresseur de tumeur. C'est le cancer de l'œil le plus fréquent chez l'enfant avec une incidence annuelle d'environ 1/15000 à 1/30000 naissances. Il s'agit donc d'une maladie rare [1].

Au Mali, l'incidence était de 2,66 nouveaux cas pour 100.000 naissances vivantes entre 2010 et 2014 selon les données du registre des cancers [2].

Il existe deux principales formes génétiques de rétinoblastome : héréditaire (également appelé lignée germinale) et non héréditaire (sporadique ou somatique). Dans la forme héréditaire du rétinoblastome, une mutation du gène *RBI* existe déjà dans le génome du zygote et sera présente dans chaque cellule du corps, il existe donc un risque plus élevé de maintien d'une mutation somatique secondaire dans la rétine et du développement ultérieur d'un rétinoblastome. Le rétinoblastome héréditaire représente 40 % de tous les cas ; 80 % d'entre eux sont bilatéraux, 15 % unilatéraux et 5 % trilatéraux [3].

Environ 10 % des cas sont dus à des délétions moléculaires de grande taille. Les délétions peuvent impliquer les gènes environnants délimitant un syndrome génétique contigu caractérisé par le *RB*, des anomalies de développement et des dysmorphismes faciaux particuliers [4].

La forme non héréditaire résulte généralement de la perte des deux allèles du gène *RBI* et exceptionnellement d'une amplification du gène *MYCN* (oncogène) dans une cellule de la rétine alors que la forme héréditaire résulte essentiellement d'une inactivation des deux allèles du gène *RBI*, la première mutation (inactivation) est constitutionnelle et la seconde est acquise.

Cette prédisposition génétique constitutionnelle peut éventuellement aboutir à d'autres types de cancers notamment celui du cerveau, de la vessie [5].

Quelle que soit la forme de la maladie, le pronostic dépend de la rapidité du diagnostic et de la prise en charge. Un diagnostic précoce permet de contrôler la tumeur et donc réduire la comorbidité car les tumeurs de petit volume répondent favorablement au traitement par le laser.

L'analyse génétique portant sur la mutation du gène *RBI* est l'élément clé pour prédire l'apparition de la maladie, réduire les risques et surveiller la progression du cancer.

Les récentes avancées dans l'étude des anomalies génomiques dans la tumeur ont permis de mettre en évidence les mécanismes de développement du cancer, d'identifier les oncogènes et les gènes suppresseurs à l'origine de la progression de la maladie, et enfin offrent de nouveaux horizons vers un traitement personnalisé qui prend en compte le profil mutationnel du cancer et la constitution génétique de l'hôte [6].

Au Mali, le rétinoblastome revêt un intérêt capital à cause de l'augmentation de sa fréquence dans ces dernières années au service oncologie pédiatrique du CHU Gabriel TOURE. D'où l'intérêt d'une enquête génétique pour déterminer la fréquence de cas héréditaires, d'identifier le profil mutationnel, corrélér le profil clinique au profil génétique, élaborer une stratégie de dépistage et de diagnostic précoce des sujets potentiellement prédisposés afin de proposer une prise en charge adéquate et donc améliorer le pronostic vital et de conservation des yeux [7].

Hypothèse de recherche :

Le degré de malignité (sévérité de la maladie) et la progression de la tumorigénèse du rétinoblastome sont en partie influencés par l'instabilité génomique notamment les altérations chromosomiques.

2. OBJECTIFS :

2.1 Objectif général :

- Étudier le profil des altérations chromosomiques de rétinoblastome.

2.2 Objectifs spécifiques :

- Caractéristiques Socio-démographiques de rétinoblastome.
- Décrire des caractéristiques cliniques de rétinoblastome.
- Déterminer le profil mutationnel somatique de *RBI* dans le rétinoblastome par la technique FISH.
- Étudier le profil des mutations germinales de *RBI* dans le rétinoblastome par la technique FISH.

3. GENERALITÉS

3.1. Rappel Anatomique :

3.1.1. Embryologie de la rétine : [8] [9]

➤ **Au cours du 1er mois (embryon jusqu'à 9 mm) :**

La cupule optique provient par évagination de la vésicule optique primitive. Elle comprend deux feuillets :

Le feuillet externe : dont le pigment apparaît très précocement de la 3^{ème} semaine au début du 2^{ème} mois simultanément, les cellules s'aplatissent en une couche unique qui ne s'accroît qu'en surface.

Le feuillet interne : se développe en deux principes :

* Le processus évolutif de différenciation part toujours du pôle postérieur pour gagner la périphérie.

* La différenciation dans l'épaisseur du feuillet progresse des zones les plus profondes vers les zones les plus externes.

➤ **Au cours du 2^{ème} mois (embryon de 9 à 30 mm) :** la fente embryonnaire se ferme. Le mésenchyme qui formera le vitré primitif et l'artère hyaloïde y ont précédemment pénétré.

Le processus de fermeture commence au cours de la 5^{ème} semaine et se poursuit jusqu'à la 6^{ème} semaine.

➤ **Le 3^{ème} mois (embryon de 30 à 70 mm) :** Au début du 3^{ème} mois, commence la différenciation de la couche neuroblastique externe. Les éléments les plus profonds vont générer :

- Les cellules bipolaires,

- Les cellules horizontales, qui migrent dans la couche transitoire de Chievitz et vont rejoindre la partie superficielle de la couche neuroblastique interne pour donner la couche nucléaire interne.

➤ **Au cours du 4^{ème} mois :** une différenciation poussée des cellules rétinienne et à la fin du 4^{ème} mois les cônes et bâtonnets ont leur physiologie presque définitive.

➤ **A la fin du 5^{ème} mois :** la rétine adulte est alors constituée au pôle postérieur et les différentes couches progressent vers l'area, de sorte qu'au 9^{ème} mois, la rétine est complètement formée. Seule la région maculaire subira des modifications jusqu'au 4^{ème} mois post natal.

➤ **A partir du 7^{ème} mois :** cette région s'amincit progressivement, du fait du rejet latéral des différentes couches. A ce niveau, la couche de chievitz persiste jusqu'à la naissance.

3.1.2. Anatomie de l'œil :[10]

L'œil comporte trois principales tuniques (Figure 1) :

- **La tunique externe** : regroupe la cornée et la sclère :
 - **La sclère (sclérotique)** : appelée le « blanc » de l'œil, est une tunique fibreuse de collagène dense. Elle aide le globe oculaire à conserver sa forme et protège contre les lésions.
 - **La cornée** : c'est une structure transparente non vascularisée, assure la transmission de la lumière. La cornée est séparée de la sclère par le limbe, structure richement innervée et vascularisée qui adhère à la conjonctive. La conjonctive est une fine membrane qui recouvre la face interne de la paupière et une partie de la sclère.
- **La tunique moyenne** : appelée uvée, se compose de l'iris, des corps ciliaires et de la choroïde :
 - **L'iris**, donne sa couleur à l'œil, est formé de fibres pigmentées qui entourent la pupille. La pupille s'adapte à la lumière en se contractant et en se dilatant par l'intermédiaire du sphincter de l'iris.
 - **Les corps ciliaires** créent la jonction entre l'iris et la choroïde. Les corps ciliaires assurent la sécrétion d'une substance liquide, l'humeur aqueuse.
 - **La choroïde** : c'est une structure qui se trouve entre la rétine et la sclère. C'est un tissu vascularisé qui nourrit les corps ciliaires, l'iris et la partie externe de la rétine.
- **La tunique interne** : correspond au tissu nerveux, la rétine. Ces différentes tuniques, enferment trois milieux transparents formant une lentille convergente :
 - **L'humeur aqueuse** : c'est un liquide transparent produit par les corps ciliaires. La pression intraoculaire dépend entre autres de cette production.
 - **Le cristallin** : c'est une lentille biconvexe incolore, transparente et non vascularisée. Sa structure lui permet de dévier les rayons lumineux sur la rétine.
 - **L'humeur vitrée (ou corps vitré)** : c'est une substance gélatineuse transparente composée principalement d'eau, qui occupe les deux tiers du volume de l'œil. **La voie visuelle comprend la rétine, le nerf optique, le chiasma optique, les tractus optiques, les corps géniculés latéraux, les radiations optiques et l'aire visuelle primaire du cerveau.**

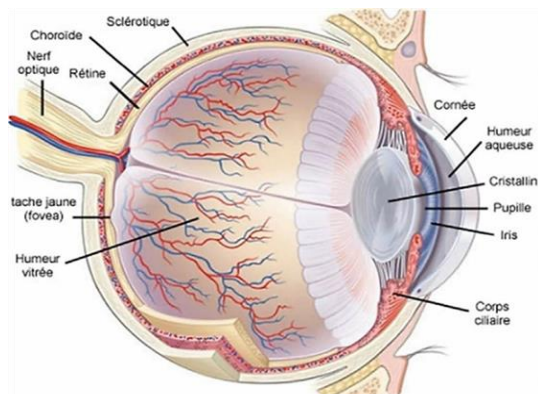


Figure 1 : Anatomie de l'œil [10]

3.1.3. Anatomie et physiologie de la rétine :[11]

La rétine est la première étape importante du traitement des stimuli lumineux, grâce à plusieurs couches de neurones. Cette étape est ensuite suivie d'un message électrique qui va traverser le nerf optique pour finalement atteindre les voies optiques jusqu'au lobe occipital du cerveau, où ils sont perçus comme une image.

La rétine tapisse la surface intérieure du fond de l'œil et se prolonge pour former le nerf optique. Au fond de l'œil à travers la pupille, nous pouvons observer les principaux éléments de la rétine qui sont le disque du nerf optique (ou papille optique), les vaisseaux sanguins de la rétine et la macula (Figure 2).

La macula est la zone dont dépend la vision centrale.

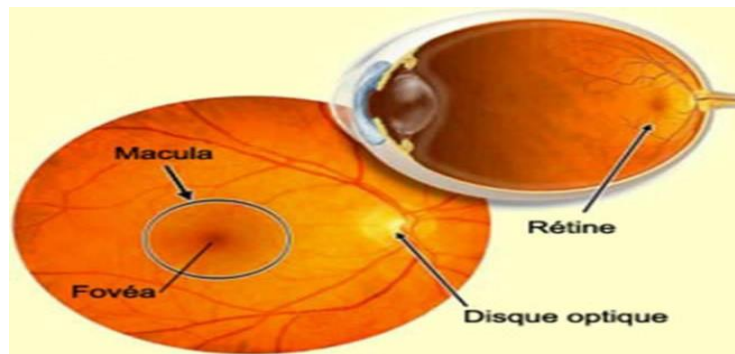


Figure 2 : Fond d'œil [11]

Les principaux éléments constituant la rétine sont : la neurorétine (qui comprend l'ensemble des cellules nerveuses), les cellules gliales, le système vasculaire.

La neurorétine

On retrouve dans la rétine cinq types de neurones qui sont : les photorécepteurs, les cellules horizontales, les cellules bipolaires, les cellules amacrines et les cellules ganglionnaires.

La rétine est une structure organisée en dix couches alternées (Figure 3) :

- L'épithélium pigmentaire rétinien, la couche des photorécepteurs, la membrane limitante externe, la couche nucléaire externe, la couche plexiforme externe, la couche nucléaire, la couche plexiforme interne, la couche des cellules ganglionnaires, la couche des fibres nerveuses, la membrane limitante interne.

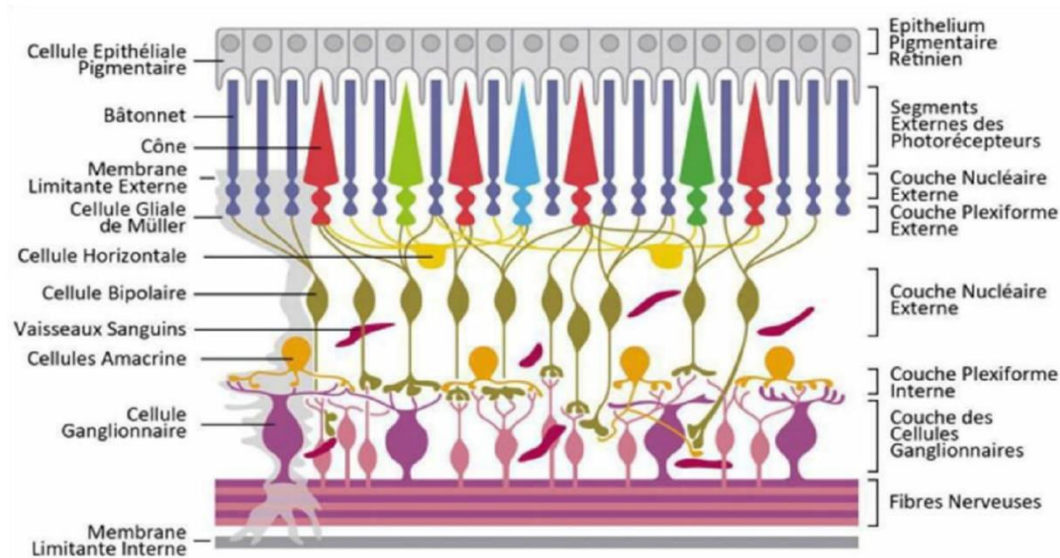


Figure 3 : Anatomie de la rétine [11]

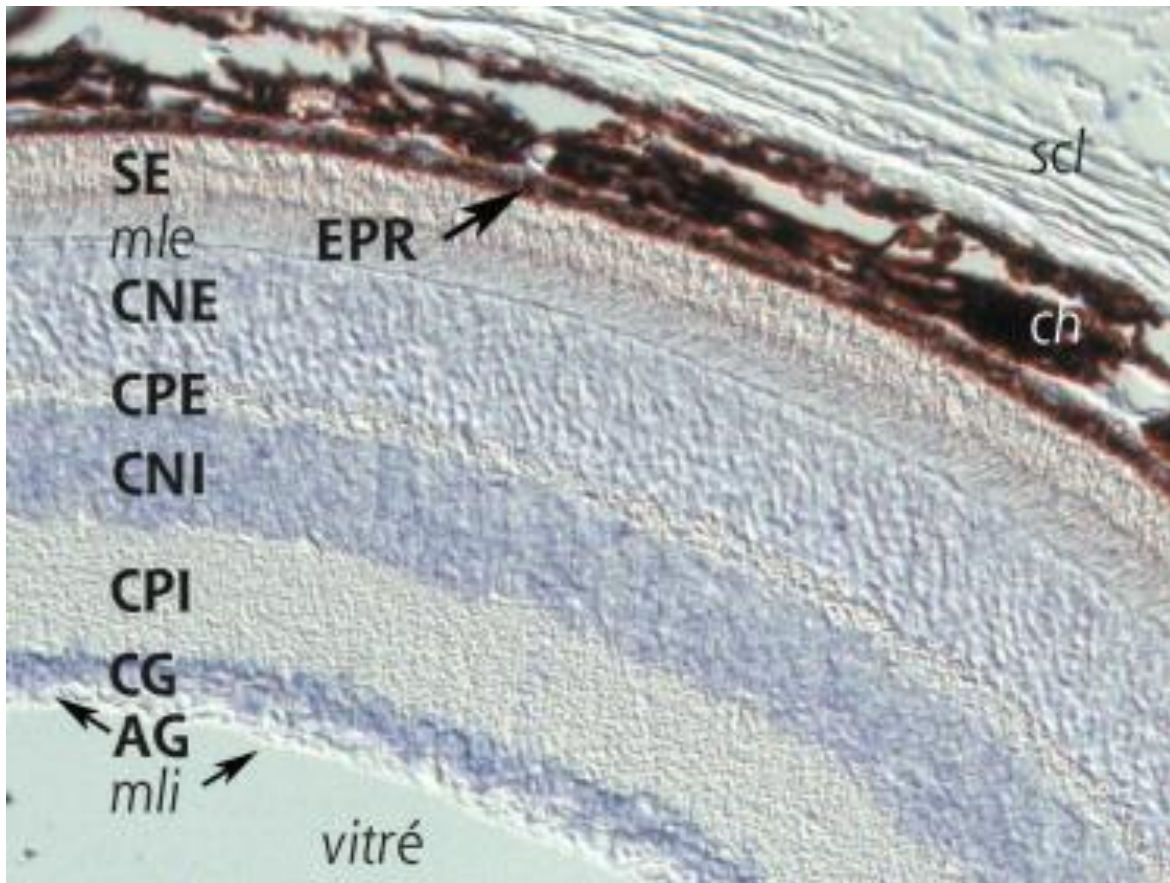


Figure 4 : Couches histologiques identifiées de l'extérieur vers l'intérieur de la rétine [12] .

Couches histologiques : épithélium pigmentaire rétinien (EPR) ; couche des segments externes (SE) des photorécepteurs, en contact avec l'EPR ; segment interne au contact avec la membrane limitante externe (mle) ; couche nucléaire externe (CNE) ; couche plexiforme externe (CPE) ; couche nucléaire interne (CNI) ; couche plexiforme interne (CPI) ; couche des corps des cellules ganglionnaires (CG) ; couche

des axones ganglionnaires (AG) qui convergent vers le nerf optique ; membrane limitante interne (mli). [12]

Les cellules gliales :

Les cellules gliales exercent de nombreuses fonctions physiologiques essentielles et sont impliquées dans la réponse aux lésions et dans plusieurs pathologies rétinienne. La rétine possède trois types de cellules gliales représentées par un type de cellules micro gliales et deux types de cellules macro gliales, les astrocytes et les cellules gliales de Müller.

Le système vasculaire :

La rétine est alimentée en oxygène et nutriments par deux systèmes vasculaires distincts, qui sont les réseaux choroïdiens et rétiniens. Ces deux réseaux sont issus de l'artère ophtalmique, une des branches de l'artère carotide interne.

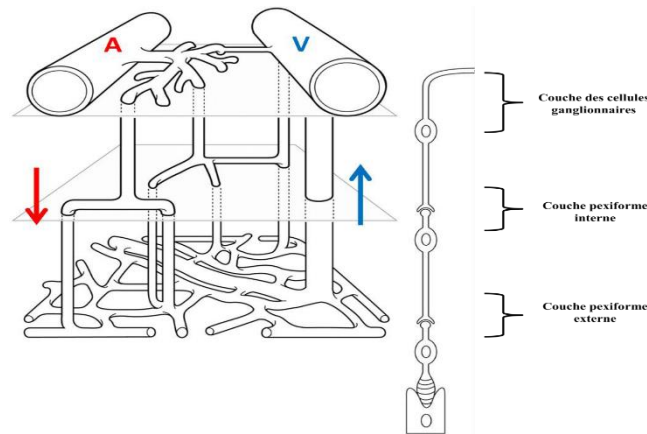


Figure 5: représentation schématique de l'architecture vasculaire et de la circulation du sang de la rétine. A : artériole ; V : veinule ; flèches : circulation du sang (Figure adaptée de Paques, Tadayoni et al. 2003)

3.2. Rétinoblastome :

3.2.1. Définition :

Le rétinoblastome est une tumeur maligne de la rétine apparaissant pendant la petite enfance à la suite de mutations inactivatrices des deux allèles du gène de susceptibilité au rétinoblastome, *RBI* [13].

3.2.2. Épidémiologie :

Le rétinoblastome est une tumeur maligne, rare, de la rétine mais la plus fréquente chez l'enfant. Son incidence est de 1/15 000 à 1/30 000 naissances, sans une prédominance de sexe [1]. Elle apparaît habituellement avant l'âge de 5 ans. Dans environ 60 % des cas, la tumeur est unilatérale avec un âge médian au diagnostic de 2 ans et la plupart de ces formes sont non héréditaires. Dans 40 % des cas, la tumeur est bilatérale et est toujours héréditaire, mais pas forcément familiale. Il est alors découvert à un âge médian au diagnostic de 1 an.

Le rétinoblastome est familial dans 10 % des cas, et dans ce cas le plus souvent bilatéral et multifocal, de révélation précoce (la moitié avant l'âge d'un an) avec une pénétrance élevée, de plus de 90 %. La maladie se comporte donc dans ce cas comme une maladie autosomique dominante [14].

3.2.3. Aspects Cliniques :

3.2.3.1 Circonstances de découverte :

3.2.3.1.1 Signes d'appels du RB :

Les signes d'appels empiriques sont au nombre de deux : la leucocorie et le strabisme.

❖ **La leucocorie** : d'origine grecque leukos= blanc, koré=pupille (pupille blanche). Ce signe donne l'aspect classique de l'œil de chat amaurotique décrit pour la première fois par Beer en 1918 [14].

Cet aspect est créé par la réflexion de la lumière incidente sur une lésion rétinienne dans la zone pupillaire lorsque le fond est directement éclairé.

C'est le signe d'appel le plus fréquent présent dans 56-80% des cas et est révélateur d'un stade tumoral assez tardif et est le plus souvent constatée par les parents et l'entourage.



Figure 6: Leucocorie bilatérale dans les yeux[14]

❖ **Le strabisme** : le 2ième signe par ordre de fréquence, révélant la maladie dans 19-30 % [15] . Il est très précoce traduisant une atteinte maculaire. Ce signe est souvent banalisé par les parents et confondu avec le strabisme accommodatif du nourrisson par certains médecins.



Figure 7: Strabisme de l'œil gauche chez un RB négligé découvert au stade de leucocorie bilatérale tumeur de l'œil gauche derrière le cristallin [15].

3.2.3.1.2. Les signes d'appels atypiques :

Dans 10% des cas, le RB s'annonce par des signes d'appels trompeurs qui traduisent souvent un stade tardif de la maladie : une buphthalmie, une hétérochromie, un nystagmus, une hypertonie oculaire, un hyphéma spontané, un hypopion (Fig. 8), uvéite antérieure, hyalite, décollement de rétine, hémorragie du vitré, cellulite orbitaire, exophtalmie (Fig. 9) ou même phtysis bulbi [16].

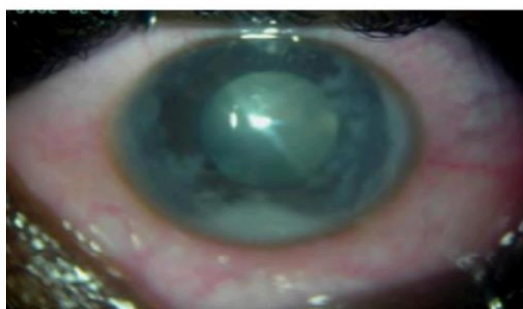


Figure 8: un hypopion [16]



Figure 9 : exophtalmie [16]

3.2.4. Confirmation du diagnostic :

Le diagnostic de RB reste clinique, fondé sur l'examen du fond d'œil sous anesthésie générale grâce à la visualisation de la lésion tumorale qui apparaît en relief, blanche et hyper vascularisée lors de l'examen en ophtalmoscopie indirecte (Fig. 9).

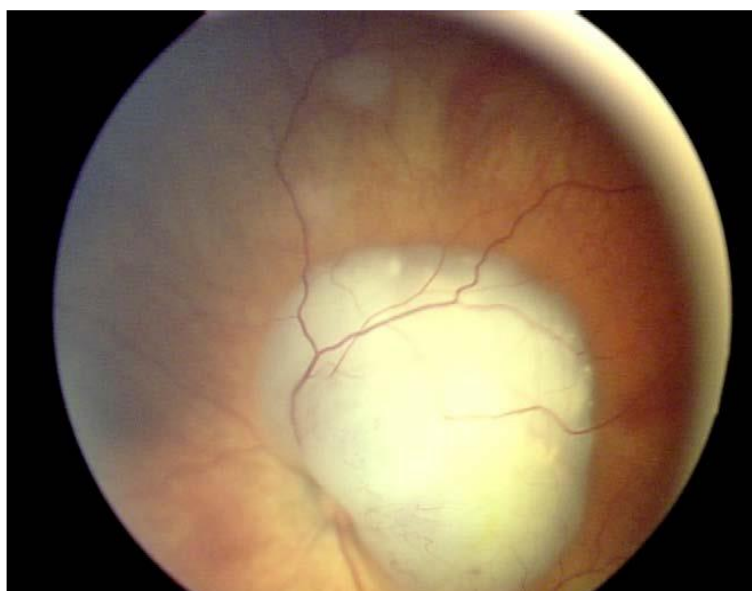


Figure 9: vascularisation de la lésion tumorale qui apparaît en relief, blanche et hypervascularisée [17]

Cet examen permet le bilan précis des lésions intraoculaires pour lesquelles une nouvelle classification internationale est en cours et constitue une aide pour l'orientation thérapeutique initiale [17]. La mémorisation des images du fond d'œil a été améliorée grâce à la caméra spécifique grand angle RETCAM®. Dans le même temps d'anesthésie, on réalise en milieu spécialisé une échographie oculaire

qui permet de mesurer les dimensions tumorales et de confirmer le diagnostic de RB par la présence fréquente de calcifications intra tumorales.

3.2.5. Formes cliniques :

3.2.5.1. La forme endophytique :

Est de loin la plus fréquente. Elle se présente comme une masse blanchâtre dont la taille varie d'un à plusieurs millimètres, voire parfois supérieure à 15 mm. Sa forme est irrégulière fréquemment polycyclique. Elle présente souvent au centre des calcifications spontanées d'un blanc beaucoup plus dense. Dans les formes héréditaires, il s'agit le plus souvent d'une lésion plurifocale. La vascularisation de la tumeur est toujours importante : les vaisseaux afférents présentent une dilatation angiomatose, caractéristique, plus la lésion est saillante plus elle a tendance à envahir le vitré.

3.2.5.2. La forme exophytique : est plus rare, elle se développe sous la rétine et entraîne rapidement un décollement exsudatif, d'abord localisé au pourtour de la tumeur puis évoluant vers le décollement total.

3.2.5.3. Des formes mixtes endophytique et exophytique peuvent se voir.

3.2.5. 4. Forme infiltrant diffuse : Elle est très importante à connaître car pouvant orienter à tort vers une hyalite. En l'absence d'un diagnostic précoce, l'évolution se fait vers un envahissement de la chambre antérieure avec hypopion.

3.2.5.5. Retinocytome :

C'est une forme rare bénigne encore appelée retinome. Cliniquement le retinocytome peut ressembler à une tumeur irradiée : il a un aspect translucide peu saillant et ne présente pas de vaisseaux dilatés ; des calcifications centrales sont fréquentes. Les formes spontanément régressives sont exceptionnelles. Il faudra les rechercher chez les parents des enfants atteints pour éliminer une forme familiale.



Figure 10: Retinocytome chez un enfant .[18]

3.2.5.6. Formes évolutives :

Forme précoce : Elle est le plus souvent diagnostiquée lors d'un examen systématique du fond d'œil lorsqu'il existe un antécédent familial de *RB*. Cette forme débutante est difficile à voir au fond d'œil ; elle se présente comme une lésion peu saillante, transparente, pouvant mesurer moins de 1 mm de diamètre chez les nourrissons de moins de 3 mois, les lésions sont presque toujours localisées au niveau du pôle postérieur. Après l'âge de 6 mois, elles se développent de plus en plus au niveau de la périphérie rétinienne et vers l'âge de 1 an, elles sont souvent voisines de l'Ora serata.

Plus tardivement : A un stade ultérieur, le *RB* prend un aspect plus caractéristique.

3.2.5.7. Rétinoblastome trilatéral :

Le rétinoblastome trilatéral est défini comme un rétinoblastome bilatéral associé à une tumeur neuro-ectodermique primitive centrale de la région pinéale (pinéoblastome) ou supra sellaire. Il s'agit d'une cause rare de second cancer après rétinoblastome, survenant le plus souvent vers l'âge de 4-5 ans, mais parfois plus précoce, voire concomitant au diagnostic de rétinoblastome. Son pronostic demeure fatal malgré le traitement palliatif avec un temps de survie de 6 à 11 mois, indépendamment de la localisation de la tumeur, de la nature sporadique ou familiale, de l'uni ou de la bilatéralité du rétinoblastome [19]. Le pinéoblastome ou rétinoblastome trilatéral ne doit pas être considéré comme une métastase mais comme l'un des cancers auxquels sont prédisposés les patients atteints de forme héréditaire de rétinoblastome [20]. Nous n'avons pas retrouvé un cas de rétinoblastome trilatéral dans notre série.

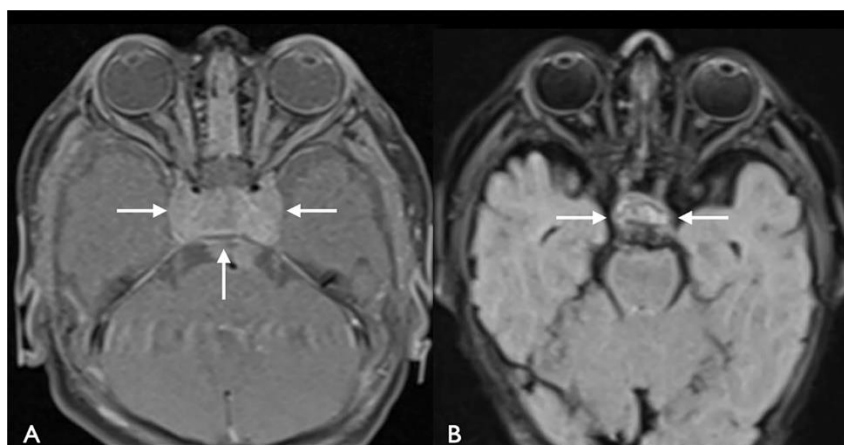


Figure 11: Enfant de deux ans atteint d'un rétinoblastome trilatéral et d'une tumeur cérébrale (flèches) (A) avant et (B) 2 mois après une chimiothérapie systémique à haute dose.[18]

3.2.6. Les bilans para cliniques :

3.2.6.1. Echographie oculaire : en mode B est un moyen simple, accessible, sensible et sans sédation complétant l'examen ophtalmoscopique en cas d'opacification des milieux.

Elle montre, dans les formes typiques, une ou plusieurs images échogènes et hétérogènes par la présence de calcifications très caractéristiques (Fig. 12).

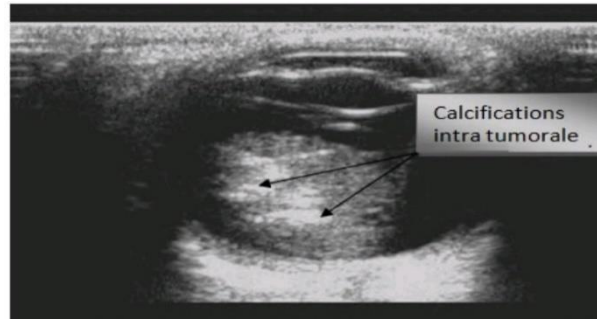


Figure 12: aspect à l'échographie B d'un RB : masse tumorale tissulaire hétérogène par la présence de calcification [21] .

Elle permet aussi de mesurer ses dimensions. Cependant l'échographie est moins sensible à l'évaluation du nerf optique à cause des ombres dérivant des calcifications tumorales [21] [22] . L'échographie avec doppler est très intéressante, permet souvent à elle seule de faire le diagnostic différentiel avec d'autres pathologies malformatives, notamment la persistance du vitré primitif. Cependant l'échographie B est limitée dans certaines affections imitant le RB et présentant des calcifications ainsi que dans la forme infiltrante diffuse.

3.2.6.2 Le scanner : malgré ses avantages à la détection des micros calcifications (Fig. 13), Il est de moins de moins utilisé dans le RB.

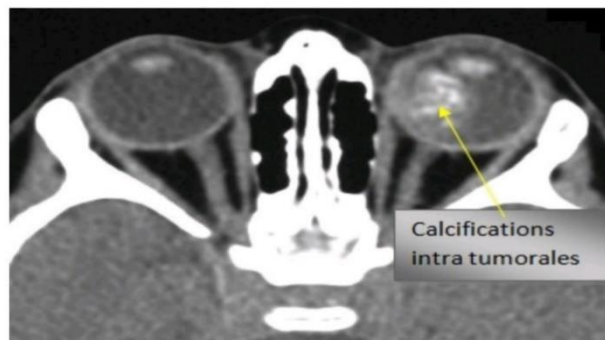


Figure 13:calcification intra tumorale unilatérale d'un RB bien visible à la TDM (Tomodensitométrie) [21].

Le scanner à une faible résolution au contraste et sa sensibilité est insuffisant à la détection de l'extension débutante au nerf optique en plus de son effet néfaste d'irradiation sur un terrain de prédisposition génétique à la mutation *RBI* [21] [23] .

3.2.6.3. Imagerie par résonance magnétique à haute résolution (IRM)

C'est l'examen radiologique de choix dans le RB. Réalisée sous anesthésie générale, elle permet l'exploration du globe, du nerf optique de l'orbite et de l'encéphale. Le seuil de sensibilité de cet examen est les tumeurs supérieures ou égales à 2 mm [24] [25].

L'IRM montre une tumeur en iso ou hypo intense en T1 avec rehaussement important après injection de gadolinium et en hypo signal sur les séquences de pondération T2 [21].

Cet examen permet :

De déceler les facteurs de risque de dissémination à savoir : l'atteinte choroïdienne massive et l'infiltration du nerf optique qui apparaît élargi et rehaussé après l'injection du produit de contraste sur une longueur supérieure à 3 mm (Fig. 14) [26]. De rechercher des anomalies malformatives cérébrales associées à une délétion du chromosome 13q14 [27]. De rechercher surtout un pinéaloblastome dans le RB bilatéral.



Figure 14: Extension tumorale du nerf optique d'un RB à l'IRM [21].

3.2.7. Anatomopathologie :[28]

L'examen anatomopathologique de la pièce d'énucléation comporte un aspect macroscopique et microscopique

3.2.7.1. Aspect macroscopique :

A l'ouverture du globe, le RB se présente comme une masse friable, de la consistance d'une purée de pois blanc gris, parfois rosé, homogène ou granuleuse par la présence de calcifications blanches crayeuses, parfois parsemée de petites cavités correspondant à des foyers de nécroses (Fig.15) Sastre-Garau X. 2009[29]. L'étude macroscopique permet aussi la distinction entre les différentes formes d'évolution de la tumeur : endophytique, exophytique, mixte et infiltrante.



Figure 15 : Aspect macroscopique du RB de la pièce énuclée ; la tumeur blanche friable endophytique [31].

3.2.7.2. Aspect Microscopique :

Le tissu tumoral du *RB* est formé de cellules avec un noyau rond, ovale ou en fuseau. Ce noyau est hyperchromatique entouré d'un cytoplasme très peu abondant. L'activité mitotique est élevée. C'est une tumeur de haute malignité à fort index mitotique.

Chaque tumeur est entourée d'une vascularisation trop dense ce qui crée des images de nécrose avec formation de rosettes de Flexner Winter Steiner (cellules tumorales viables entourant un vaisseau). La rosette est caractérisée par une seule rangée de cellules en forme de colonne avec cytoplasme éosinophile et un noyau situé en périphérie.

La formation de rosettes de Flexner-Winter Steiner, bien organisées, est un trait caractéristique du *RB* que l'on ne voit pas dans les autres tumeurs neuroblastiques [33]. Cette tumeur présente plusieurs niveaux de différenciation : bien, moyen, peu et indifférencié.

Le *RB* bien différencié : il est caractérisé par une densité cellulaire importante et uniforme avec une disposition péri vasculaire en fleurettes qui sont des amas curvilignes de cellules composées de segments internes de cônes et de bâtonnets (traduisant un haut degré de différenciation) ou une organisation en rosettes (rosettes de Flexner et Winter Steiner) (Fig. 16). Ces dernières sont très caractéristiques du *RB* et sont très fréquentes dans les tumeurs très jeunes. Cette forme est lentement évolutive, elle est réputée d'être très peu chimio sensible et radiosensible.

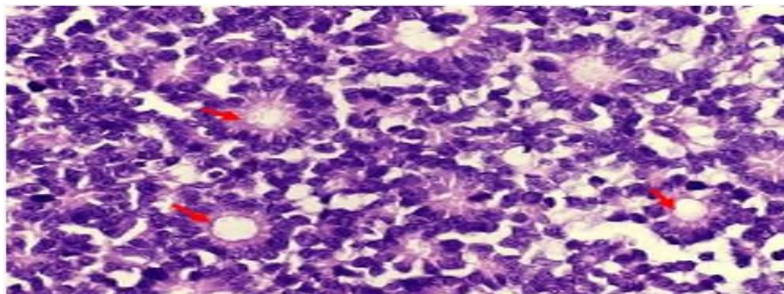


Figure 16: Aspect histologique d'un *RB* bien différencié : Prédominance des formations en rosette de Flexner Winter Steiner (flèche rouge) [33].

Les *RB*s moyennement différenciés, peu ou indifférenciés se présentent avec une perte progressive de cet aspect en fleurettes et en rosettes.

Certains auteurs comme Mendoza PR (2015) et Suryawanshi P (2011) considèrent le degré de différenciation de la tumeur comme un indicateur pronostic important et que ces formes indifférenciées sont pourvoyeuses de récurrences et de métastases [34].

Les cellules du *RB* libérées par la tumeur restent viables dans le vitré et dans l'espace sous rétinien et vont donner de nouvelles tumeurs. Sur le plan histologique, il est difficile de différencier un *RB* multifocal par mutation génétique (héréditaire) d'un *RB* non héréditaire dont les foyers de la dissémination l'ont rendu multifocal [32].

3.2.7.3. Facteurs de risque histologique :

Dans la littérature plusieurs auteurs ont porté une grande importance à l'évaluation des facteurs de risque histopathologiques [35] [36] [37].

Divers facteurs ont été pris en considération : le degré de différenciation, l'index mitotique, la nécrose mais surtout le degré d'extension.

Cette extension est recherchée au niveau du nerf optique (pré-laminaire, laminaire, rétro laminaire, tranche de section), au niveau de la choroïde (superficielle ou profonde), de la sclère et de la chambre antérieure.

Il existe 3 types de facteurs de risque histologiques (FRH) de gravité croissante : FRH minimes, FRH moyens, FRH majeurs.

Cependant, il n'existe pas de consensus quant à l'évaluation de ce risque.

Les FRH minimes : regroupent l'atteinte choroïdienne minime inférieure à 3 mm isolée ou associée à l'atteinte pré-laminaire et laminaire du nerf optique [36]. Tous ces FRH ne nécessitent pas de traitement adjuvant. L'atteinte choroïdienne massive isolée est considérée par certains auteurs comme Aerts I (2013) et Chantada GL (2004) comme FRH minime [37].

Les FRH moyens : regroupent l'atteinte rétro-laminaire, l'atteinte de la chambre antérieure et l'atteinte choroïdienne massive [35] [37] [38].

Les FRH majeurs : tous les auteurs s'accordent sur l'atteinte sclérale et ou l'atteinte des gaines méningées et ou de la tranche de section du nerf optique comme des facteurs de haut risque de métastase [39].

3.2.8. Diagnostic différentiel :

De nombreuses affections du fond d'œil chez l'enfant en bas âge peuvent simuler un *RB*. Certaines sont de diagnostic facile, d'autres par contre posent un réel problème pouvant aller jusqu'à l'énucléation.

Les affections qui posent le plus de problème de diagnostic sont la maladie de Coats, la persistance de vitré primitif, la toxocarose et la rétinopathie des prématurés.

La maladie de Coats [40] [41] [42] :

C'est une pathologie idiopathique non héréditaire probablement congénitale, d'origine vasculaire, unilatérale dans 95%. Elle débute chez les garçons vers l'âge de 3-4ans. Les signes d'appels les plus fréquents sont la leucocorie ou le strabisme parfois l'hypertonie oculaire.

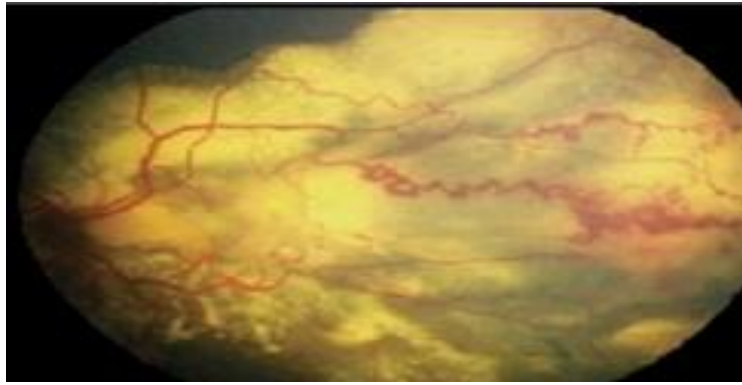


Figure 17: maladie de Coats stade tardif (télangiectasies compliquées de décollement de rétine exsudatif (Balmer A 2005), l'hyperplasie du vitré primitif [43].

C'est une malformation congénitale non héréditaire, le plus souvent unilatérale, due au défaut de régression de la vascularisation fœtale (vitré primitif). La microphthalmie et l'étirement des procès ciliaires sont les signes les plus constants et les plus caractéristiques.

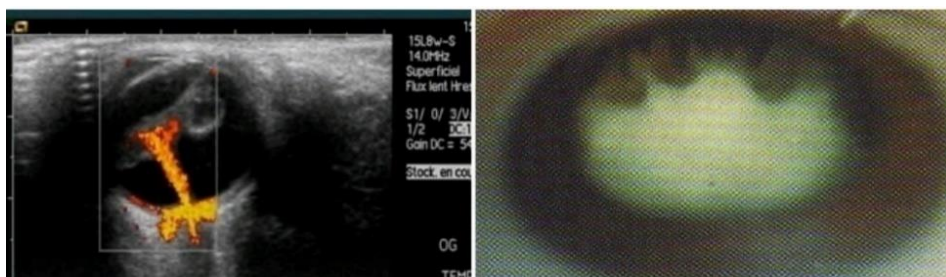


Figure 18: persistance de vitré primitif. A gauche échodoppler oculaire montrant la vascularisation hyaloïdienne. A droite étirement des procès ciliaires caractéristiques [42].

3.2.9. Classifications du *RB* :

Il existe plusieurs groupes de classification du *RB* : Un premier groupe de classification qui se base sur l'extension tumorale à l'intérieur de l'œil, il a une valeur prédictive sur la conservation de l'œil et de la vision. Un deuxième groupe de classification qui se base sur l'extension intra et extra oculaire et permet d'émettre une évaluation sur le pronostic vital [44].

3.2.9.1. Classification selon Reese et Ellsworth :

Elle fait partie du 1er groupe qui se base sur l'extension intra oculaire de la tumeur. Cette classification a été élaborée en 1963 par le Dr Algernon Reese et le Dr Robert Ellsworth pour évaluer les résultats de la radiothérapie externe dans le traitement du *RB* et prédire la probabilité de conserver l'œil avec un certain degré de vision. Elle est basée sur la taille de la tumeur (en diamètre papillaire), le nombre de tumeur (mono ou multifocalité) et leur localisation par rapport à l'équateur (Tab.1)[45].

Tableau 1: Classification de Reese et Ellsworth du *RB* [45] [46]

Groupe I : très favorable

Tumeur unique, < 4 DP, en arrière de l'équateur

Tumeurs multiples, < 4 DP, en arrière de l'équateur

Groupe II : favorable

Tumeur unique, 4-10 DP, en arrière de l'équateur

Tumeurs multiples, 4-10 DP, en arrière de l'équateur

Groupe III : incertain

Toutes lésions antérieures à l'équateur

Tumeur unique, > 10 DP, en arrière de l'équateur

Groupe IV : défavorable

Tumeurs multiples, certaines, > 10 DP

Toutes lésions antérieures à l'ora serrata

Groupe V : très défavorable

Tumeurs massives touchant plus de la ½ de la rétine

Essaimage dans le vitré

DP : diamètre papillaire=1,5 mm

3.2.8.2 Classification de Murphree ou classification ABC :

Cette classification fait partie toujours du 1^{er} groupe qui se base sur l'extension de la tumeur à l'intérieur du globe oculaire. L'ancienne classification de Reese était conçue spécialement pour le traitement des tumeurs par radiothérapie externe. Depuis l'utilisation de la chimio réduction pour préparer l'œil aux différents traitements conservateurs locaux, une autre classification a été élaborée en 2003 par un comité d'expert des grands centres spécialisés dans le *RB* à travers le monde [47] [48].

Cette classification se base sur la taille de la tumeur, sa localisation par rapport à la macula et au nerf optique, le décollement rétinien péri tumoral et l'ensemencement vitréen.

La fig.19 et le Tableau 1 expliquent les différents stades de la classification internationale ABC du *RB* :

Tableau 2: Classification de Murphree (ABC) du RB [45] [46].

Groupe A	Tumeurs < 3 mm de hauteur et distante de plus de 1,5 mm de la papille et de plus de 3 mm de la macula
Groupe B	Tumeurs ≥ 3 mm de hauteur Détachement de rétine ≤ 5 mm de la base de la tumeur Pas d'essaimage sous rétinien Pas d'essaimage vitréen
Groupe C	Présence d'un essaimage vitréen localisé autour de la tumeur (focal) Détachement peritumoral > 5 mm
Groupe D	Essaimage vitréen massive et ou détachement de rétine étendu Avec essaimage sous rétinien.
Groupe E	En plus des signes retrouvés dans le groupe D, présence d'un ou plusieurs des signes suivants : Tumeur dans le segment antérieur Glaucome néo vasculaire Hyphéma Buphthalmie, cellulite orbitaire

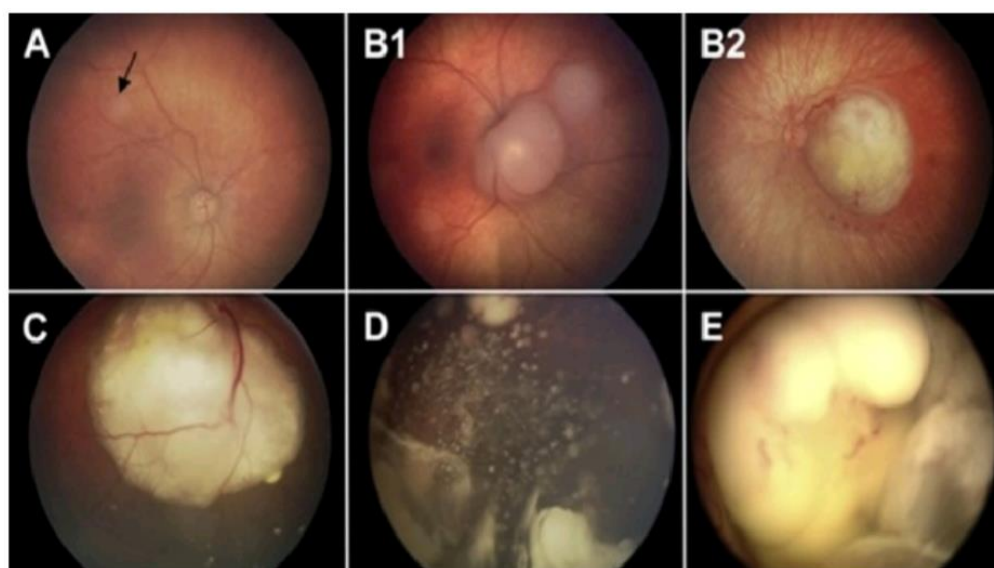


Figure 19 : Classification internationale du RB. (A) petite tumeur confinée à la rétine et distante de la macula et NO (nerf optique) (flèche noire). (B1) deux petites tumeurs confinées à la rétine et adjacente au NO. (B2) petite tumeur entourée d'un DR minime. (C) tumeur entourée d'un DR plus étendu et essaimage vitréen focal. (D) essaimage vitréen diffus. (E) la tumeur remplit 2/3 du globe. Rodriguez-Galindo 2015.

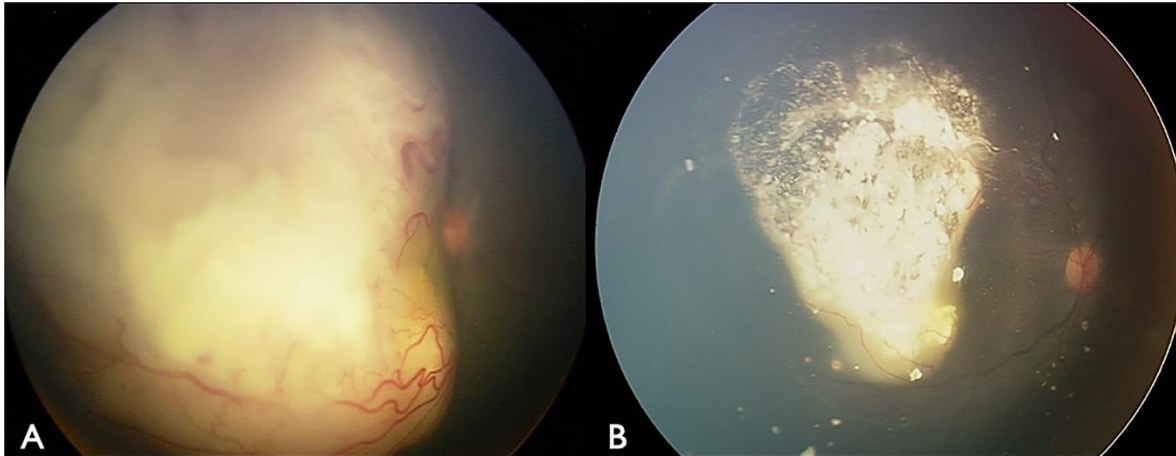


Figure 20 : Chimiothérapie intra-artérielle pour le rétinoblastome du groupe D avec ensemencement sous-rétinien étendu, montrant le contrôle (A) avant et (B) après le traitement [18].

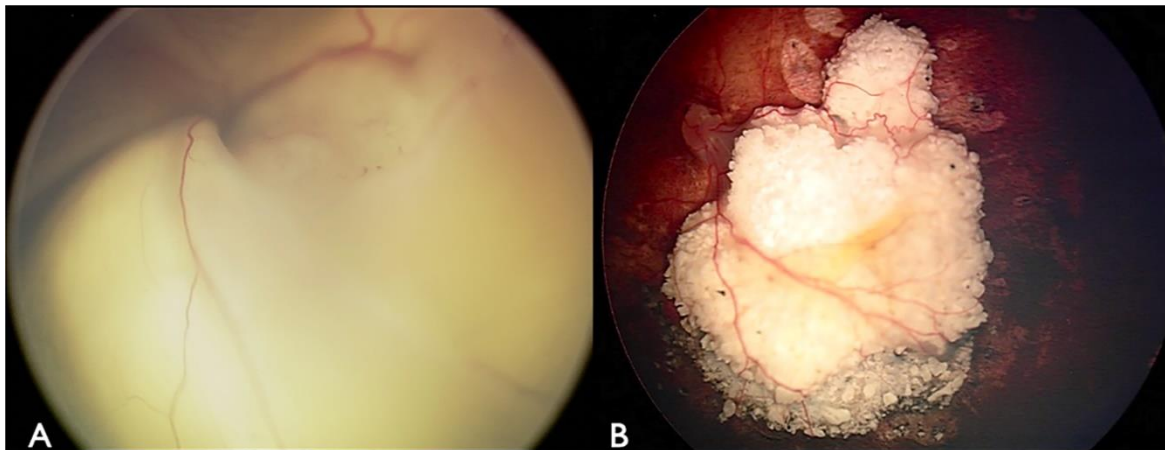


Figure 21 : Chimiothérapie intra-artérielle pour le rétinoblastome du groupe E avec ensemencement sous-rétinien étendu pendant toutes les heures d'horloge et aucune vue du disque optique, montrant le contrôle (A) avant et (B) après le traitement [18].

3.2.10. ASPECTS THERAPEUTIQUES :

Les plus grandes nouveautés thérapeutiques dans le domaine du RB concernent les traitements conservateurs. Dans les pays industrialisés, ces traitements sont presque toujours choisis au moins pour un côté dans les formes bilatérales. Ils sont également tentés de plus en plus souvent dans les formes unilatérales en cas de petites tumeurs épargnant la macula (laissant donc espérer une préservation visuelle de l'œil atteint), ou survenant chez un très jeune enfant, notamment dans le cadre d'un dépistage, et donc dans un contexte de risque de développer un RB bilatéral métachrone, c'est-à-dire décalé dans le temps.

3.2.10.1. Les principes de base des traitements conservateurs sont les suivants :

- **Diminuer le plus possible le recours à l'irradiation externe en raison de ses risques :**

Retentissement sur la croissance orbitofaciale, cataracte (même si elle est opérable), rétinopathie radique, risque aujourd'hui rare d'irradiation de l'axe hypothalamo-hypophysaire et de retentissement endocrinien, et surtout majoration du risque de second cancer dans le territoire irradié.

- **Préserver le plus possible la vision :**

L'indication des traitements conservateurs doit impérativement être posée en milieu oncophthalmologique spécialisé en raison de leur complexité. Une phase initiale de chimiothérapie néoadjuvante peut être utile lorsque le volume tumoral initial ne permet pas l'accessibilité directe aux différentes techniques de traitements locaux conservateurs ou en cas de décollement rétinien pour favoriser une ré-application rétinienne et une meilleure vision [49] [50].

3.2.10.2. Moyens :

Nous avons tenu à faire une description plus détaillée de la thermo chimiothérapie et de l'injection intra vitréen de melphalan parmi tant de traitements conservateurs qui malheureusement sont pour la plus encore non réalisables chez nous.

Thermo chimiothérapie :

C'est actuellement le traitement conservateur le plus utilisé dans le RB.

Ce mode de traitement associe l'administration du carboplatine dont l'action est potentialisée par la chaleur émise par le laser diode. Il consiste à administrer une perfusion de carboplatine 1 à 2 heure avant le traitement de la ou des tumeurs par le laser diode sous anesthésie générale [51] .

La thermo chimiothérapie est indiquée dans les tumeurs ne dépassant pas 10-12 mm de diamètre siégeant au pôle postérieur et en rétro-équatorial à distance de la fovéa et du disque optique et sans essaimage vitréen. Le réglage du laser doit répondre aux caractéristiques suivantes : une taille du spot de 0,8-1,2 mm, une puissance entre 200-600 mW et une durée de quelques secondes à 20 minutes. Ces paramètres sont réglés en fonction de la taille de la tumeur et du degré de pigmentation de l'épithélium pigmenté. Chaque tumeur est ainsi traitée au laser jusqu'au blanchiment de sa surface. On réalise en général 3 cycles à 1 mois d'intervalle. Cette technique permet une cicatrisation de la tumeur dans 86% des cas, laissant une cicatrice atropho-pigmentaire le plus souvent calcifiée [52] [53].

Injection intra vitréenne de Melphalan :

Les injections intra vitréennes de melphalan sont indiquées comme complément au traitement des RBs avec un essaimage vitréen localisé ou diffus primitif ou récurrent qui n'a pas répondu à la chimiothérapie systémique [54] [55]. Ce traitement est préconisé comme une dernière alternative pour sauver le globe oculaire avant l'utilisation de la radiothérapie externe et de procéder à l'énucléation [56] [57].

La technique se fait en différentes étapes suivantes :

Le repérage soigneux à l'ophtalmoscopie indirecte du bon endroit de l'injection (l'absence de nodule rétinien et d'un essaimage vitréen diffus). La ponction de la chambre antérieure de 0,1 ml d'humeur aqueuse pour hypotoniser le globe et éviter ainsi le reflux et l'essaimage après l'injection (la chambre antérieure doit être normale) [57]. Une cytologie de l'humeur aqueuse ainsi retirée est obligatoire pour vérifier l'absence de son infiltration.

L'injection se fait à l'aide d'une aiguille 31 gauge à 2,5 - 3,5 mm du limbe (en fonction de l'âge de l'enfant), d'une quantité de 20-30 ug/0.1 ml de melphalan (préparation stérile faite par le pharmacien de l'hôpital et gardée au frais et à l'abri de la lumière) en prenant soins d'injecter une petite quantité en sous conjonctivale au retrait de l'aiguille. Cette injection est suivie par une cryo application au point d'injection (triple gel dégel). Ces injections intra vitréennes peuvent être répétées toutes les 2-3 semaines voire plusieurs fois en fonction de l'importance de l'essaimage vitréen. Traitement du RB intraoculaire Bilatérale (recommandation du protocole GFAOP)

Énucléation du côté le plus atteint après 2 cures CEV. Traitement conservateur de l'œil controlatéral (Thermo-chimiothérapie et/ou Melphalan en intra vitréen)

Cure CEV Vincristine (1,5 mg/m ²) à J1 Carboplatine (600 mg/m ²) à J1 Etoposide (300 mg/m ²) à J1	Melphalan intra vitréen - Indication : Essaimage vitréen - Melphalan 40 µg en intra vitréen (4-6 cycles) - application de de cryode au point d'injection
Thermo-chimiothérapie - Chimiothérapie : Carboplatine 560 mg/m ² Perfusé entre 1 et 3 heures précédant le Laser.	

Hyperthermie du lit tumoral sous anesthésie générale au bloc avec le laser diode Trans Pupillaire 3 cycles (tous 28 jours).

Dans les mois et les premières années qui suivent la fin du traitement, la surveillance ophtalmologique se poursuit sous anesthésie générale au rythme mensuel, puis progressivement espacé, mais maintenu au moins au rythme trimestriel. Le but de ce suivi est de dépister le plus précocement possible les récives intraoculaires ou les nouvelles tumeurs, afin d'augmenter les chances de préservation oculaire et visuelle.

3.2.10.3. Indications :

Les indications des différentes techniques des traitements conservateurs sont posées en fonction de l'évaluation de chaque tumeur diamètre, épaisseur et situation par rapport à la papille et la macula (cette topographie conditionne le pronostic visuel et le type de traitement utilisable pour ne pas compromettre la vision). On prend également en compte l'existence d'un envahissement vitréen (localisé en regard d'une tumeur ou diffus dans toute la cavité vitréenne), ainsi que l'existence d'un envahissement pré rétinien et d'un décollement de rétine, partiel ou total.

En avant de l'équateur de l'œil, les tumeurs peuvent être traitées par cryothérapie ou curiethérapie interstitielle (par disque d'iode ou de ruthénium radioactifs). Cette technique étant indiquée en cas de tumeur plus volumineuse ou avec envahissement vitréen localisé.

En arrière de l'équateur de l'œil, une technique de traitement par laser seul ou en combinaison avec de la chimiothérapie par carboplatine a été introduite il y a plus de 10 ans par Murphree et a permis un changement radical dans la prise en charge du RB en rendant possible la préservation oculaire sans irradiation externe dans les cas, très fréquents, de tumeur du pôle postérieur [58]. Lorsqu'il existe une atteinte très étendue de la rétine ou du vitré, le seul traitement conservateur possible est l'irradiation externe, mais les progrès dans la réalisation de cette technique (technique conformationnelle, utilisation de faisceaux de protons) permettent également d'espérer en diminuer les effets secondaires en minimisant l'irradiation des tissus orbitaires, ainsi que le risque de second cancer en territoire irradié.

Actuellement, la majorité des patients atteints de *RB* bilatéral doit encore subir une énucléation unilatérale et un traitement conservateur controlatéral : seul un tiers des patients peut bénéficier d'un traitement conservateur bilatéral [56] [57].

3.2.10.4. Les effets secondaires de la chimiothérapie :

Les médicaments de la chimiothérapie ont en commun d'entraîner certains effets secondaires, plus ou moins accentués selon les produits.

Ces effets régressent à l'arrêt des produits, mais peuvent être prévenus ou corrigés lors de leur apparition.

Les nausées et vomissements : redoutés par les malades, ils sont heureusement aujourd'hui moins intenses grâce aux médicaments utilisés et l'action préventive d'antiémétiques.

La diarrhée : il faut boire abondamment d'eau, bouillon, ou des boissons gazeuses pour éviter tout risque de déshydratation. En cas de persistance, des médicaments anti diarrhéiques peuvent être prescrits.

La constipation : assez fréquente, elle est liée à la chimiothérapie, aux médicaments antiémétiques, ou encore à l'inactivation physique, elle sera soulagée par un traitement spécifique.

Les aphtes ou mucines buccales : relativement rares, ils varient selon le protocole utilisé et seront prévenus par des bains de bouche après les repas. Lorsqu'ils sont nombreux, ils peuvent être la

conséquence d'une diminution du nombre de globules blancs, dont le taux doit être contrôlé par une prise de sang.

La chute des cheveux ou alopecie : elle peut être fréquente mais pas systématique. Elle est le plus souvent progressive, démarrant 2 à 3 semaines après la première perfusion. Elle est toujours temporaire, les cheveux repoussant toujours à la fin de la chimiothérapie.

La diminution de certains globules blancs : le nombre de neutrophiles diminue souvent ; la neutropénie sévère source de complications infectieuses bactériennes et ou virales et ou parasitaires. Cependant, une surveillance par prise de sang régulière est effectuée car en cas de chute très importante (aplasie), le malade court un risque d'infection.

L'anémie : peut survenir en fin de traitement et est responsable de fatigue importante.

La diminution des plaquettes : la thrombopénie est responsable des complications hémorragiques imposant des hospitalisations parfois prolongées.

L'asthénie : la fatigue est un effet secondaire fréquent de la chimiothérapie. Elle est généralement liée à plusieurs facteurs : la maladie elle-même, les traitements associant entre eux, la baisse des globules rouges lors de la chimiothérapie, mais aussi le stress et l'angoisse.

En outre, on peut observer des neuropathies à la vincristine, une toxicité myocardique de l'adriamycine. Le pronostic du *RB* a considérablement changé au cours de ces dernières années. Il est devenu l'un des cancers les plus curables de l'enfant. Cependant les chances de guérison sont inégalement réparties dans le monde.

Le plus grand nombre de décès est enregistré en Afrique avec 40-70% alors qu'il n'est que de 1-3% au Canada et au Japon [58] [59] [48].

La survie après traitement du *RB* est de 30% en Afrique, 60% en Asie, 80% en Amérique latine et 95-97% en Europe, Amérique du nord et au Japon [60]. Selon le registre national des cancers de l'enfant de 0-14 ans durant la période de 2000-2007 ; le taux de survie à 5 ans des *RBs* en France, est le plus élevé parmi tous les cancers de l'enfant de cette tranche d'âge avec 97,9%.

Cependant, les survivants du *RB* héréditaire sont menacés par le grand risque de survenue d'autres tumeurs malignes primitives secondaires durant leur vie dans le cadre du syndrome de prédisposition génétique au cancer. Ce risque est majoré dans les formes familiales et chez les malades qui ont reçu de la radiothérapie externe. Plusieurs localisations tumorales ont été décrites, par ordre de fréquence : les sarcomes osseux, les tumeurs cérébrales, sarcomes des tissus mous et les mélanomes. Environ 40% d'entre elles surviennent avant l'âge de 30 ans [61] [62] [63].

Selon Marees et al (2010), les survivants du *RB* héréditaire et d'un cancer primaire secondaire, sont prédisposés à faire un troisième cancer primaire dans leur vie surtout s'ils sont traités par la radiothérapie externe [63].

4. GENETIQUE DU RETINOBLASTOME :

L'existence de délétions constitutionnelles partielles du chromosome 13 chez des patients atteints d'un rétinoblastome bilatéral, d'un retard du développement psychomoteur et d'une dysmorphie faciale, a permis de localiser le locus de la prédisposition génétique en 13q14 [64].

En 1986, l'identification d'un gène dans la région 13q14 siège de mutations constitutionnelles chez des enfants atteints de rétinoblastome bilatéral, a permis de retenir qu'il s'agissait du gène responsable de la prédisposition au rétinoblastome, ainsi appelé *RBI* [65].

La pathologie moléculaire de *RBI* est très variée car plus de 500 mutations distinctes ont été décrites à ce jour [66] [67]. Le spectre des mutations constitutionnelles est dominé par les mutations non-sens, les insertions ou délétions de quelques bases décalant le cadre de lecture, les anomalies d'épissage et les délétions d'un ou plusieurs exons, voire de la totalité du gène. Ce gène code pour une protéine *RB* de localisation nucléaire et d'expression ubiquitaire intervient dans la régulation du cycle cellulaire en séquestrant certains facteurs de transcription mais aussi dans le contrôle de la terminaison de la différenciation cellulaire. C'est d'ailleurs probablement cette seconde action de la protéine qui explique la spécificité des risques tumoraux associés aux mutations constitutionnelles de *RBI*.

Ainsi, le gène *RBI* a été le premier gène suppresseur de tumeur et le premier gène de prédisposition génétique à un cancer mis en évidence et a permis de confirmer l'hypothèse que *KNUDSON* avait proposée en 1971 concernant le modèle de transmission de rétinoblastome. Selon la théorie de *KNUDSON*, la survenue du rétinoblastome nécessite 2 mutations du gène avec inactivation des 2 allèles. Deux formes sont possibles (Figure 22) :

» La forme héréditaire souvent bilatérale et multifocale:

La 1ère mutation est germinale, transmissible à la descendance selon un mode autosomique dominant avec une pénétrance élevée de 90 % (risque de transmission à la descendance de 45 %).

La 2ième mutation est somatique au niveau du rétinoblaste, acquise pendant la vie fœtale ou dans les premiers mois de vie.

» La forme sporadique toujours unilatérale uni focale:

✓ Les 2 mutations sont somatiques et surviennent au niveau de la même cellule rétinienne. Cette forme est non transmissible à la descendance.

En 1973, Comings compléta l'hypothèse de *Knudson* en postulant que les deux mutations nécessaires à l'apparition d'un rétinoblastome correspondaient à l'inactivation des deux allèles d'un même gène, alors inconnu [69] .

L'hypothèse de l'existence de gènes suppresseurs de tumeurs, déjà suspectée, devenait très probable. Dans les cas familiaux, la mutation constitutionnelle a été transmise par l'un des parents. Dans les cas sporadiques, bilatéraux et parfois unilatéraux multifocaux, la mutation constitutionnelle correspond le plus fréquemment à une néomutation apparue dans les gamètes de l'un des deux parents (prézygotique)

ou à un stade précoce après la fécondation (post-zygotique). Il est à noter que les néomutations prézygotiques sont associées à un âge paternel élevé.

Dans certains cas, le caractère apparemment sporadique de l'atteinte est lié à un défaut de pénétrance chez un parent cependant porteur.

En effet, le risque tumoral étant majeur, mais incomplet, il peut arriver qu'un parent soit porteur d'une mutation constitutionnelle et n'ait pas développé de rétinoblastome dans l'enfance ou qu'il ait été atteint d'un rétinoblastome spontanément régressif pouvant laisser une cicatrice rétinienne ou retinome. C'est dire l'importance de l'examen du fond d'œil chez chaque parent, à la recherche d'un retinome dont la présence dévoilerait une histoire familiale méconnue et modifierait alors le conseil génétique. Dans les cas unilatéraux, le plus souvent, il s'agit de deux mutations survenues seulement au niveau somatique. On estime néanmoins que près de 10% des patients atteints d'un rétinoblastome unilatéral sont porteurs d'une mutation constitutionnelle.

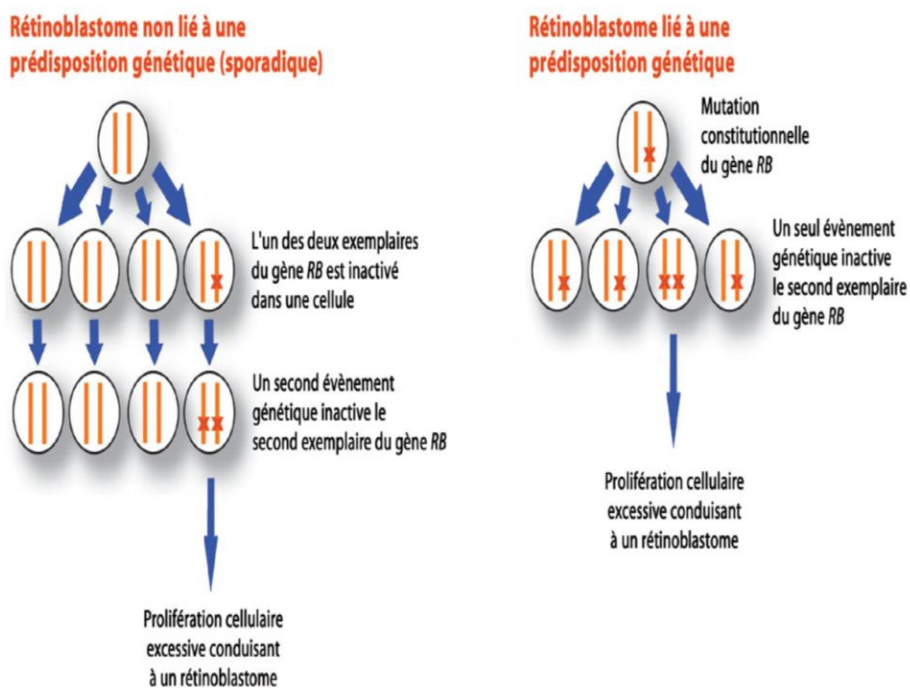


Figure 22: modèle de transmission de rétinoblastome selon la théorie de Knudson.

4.1. Conseil génétique du rétinoblastome :

4.1.1. La consultation génétique :

Elle a pour objectif :

➤ De répondre aux problématiques suivantes :

- ✓ Le risque d'avoir un enfant atteint lorsqu'on a été traité dans l'enfance pour un rétinoblastome
- ✓ Le risque d'avoir un second enfant atteint
- ✓ Le risque de second cancer

✓ Et de guider le suivi des enfants à risque.

Le jeune âge au diagnostic, le caractère bilatéral ou multifocal de la tumeur, des antécédents familiaux de rétinoblastome chez un des parents et rarement la présence d'un retard psychomoteur ou d'un syndrome malformatif associé sont des arguments en faveur d'une prédisposition génétique au rétinoblastome. Des tests sont proposés aux prédispositions génétiques au rétinoblastome. Des tests sont proposés aux parents du patient afin de comprendre s'il existe un risque de récurrence pour un nouvel enfant du couple. L'identification d'une altération du gène *RBI* peut faire discuter un diagnostic post-natal mais aussi un diagnostic prénatal. Dans certaines situations l'option du diagnostic préimplantatoire peut aussi être abordée [70] .

4.1.2. Indications des études génétiques :

Devant tout cas de rétinoblastome bilatéral ou unilatéral, il est possible d'évoquer une prédisposition génétique sous-jacente. Ainsi, il est recommandé pour les apparentés d'un patient qui a eu un rétinoblastome (enfant, fratrie, cousins) une surveillance ophtalmologique très contraignante : fond d'œil dès la première semaine de vie, réalisé en milieu spécialisé, à un rythme rapproché et nécessitant une anesthésie générale dès le deuxième ou troisième examen [71]. La proposition d'une étude génétique à tout patient atteint d'un rétinoblastome puis à ses apparentés peut permettre, en fonction des résultats, de lever la surveillance d'un certain nombre d'enfants.

4.1.3 Diagnostic moléculaire de la prédisposition génétique du rétinoblastome :

4.1.3.1. Étude moléculaire directe à partir de l'ADN moléculaire :

Elle permet la recherche d'une altération constitutionnelle du gène *RBI* (Figure 23)

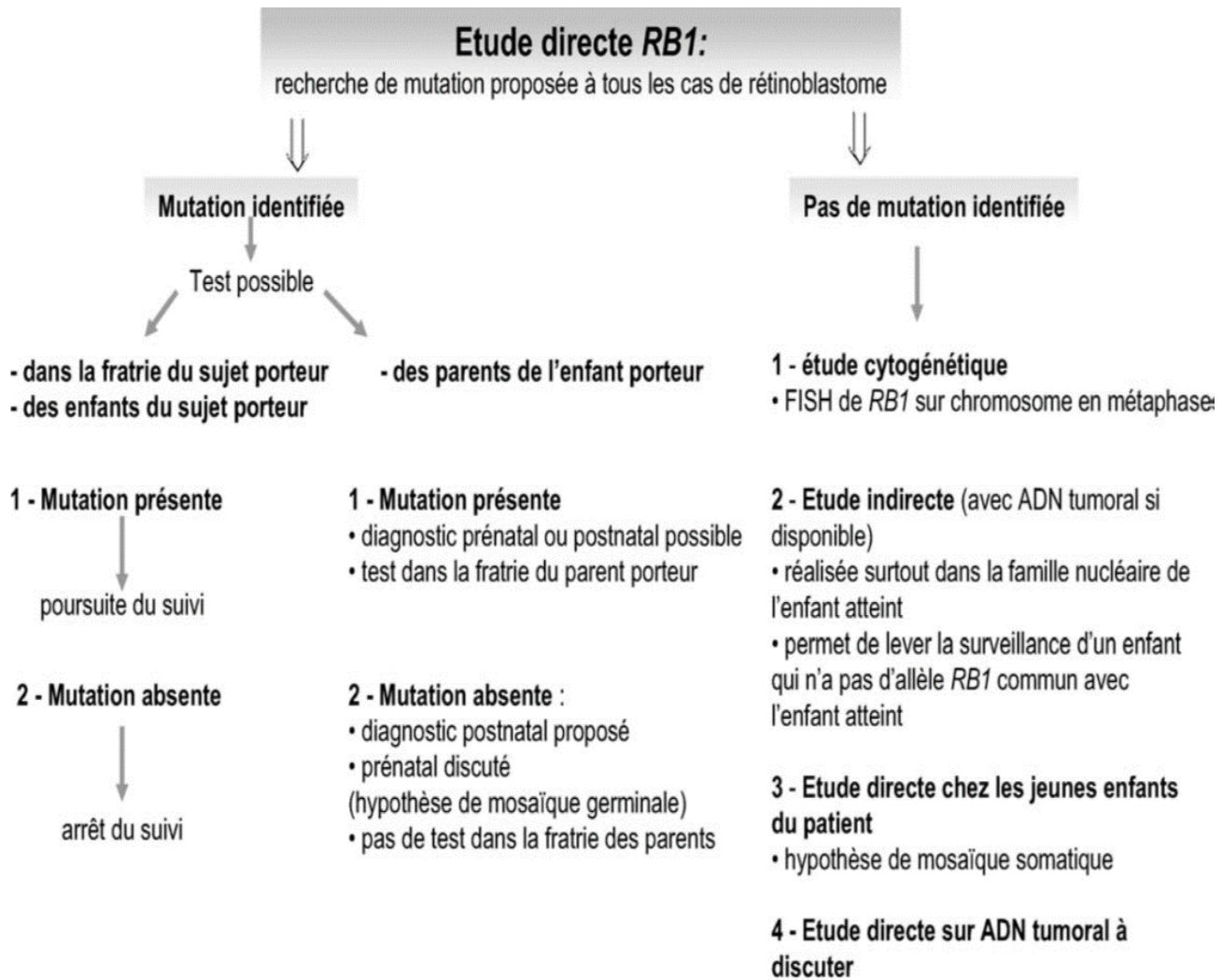


Figure 23: Etude moléculaire directe [72]

4.1.3.2. Étude moléculaire indirecte :

Elle est proposée lorsque aucune mutation constitutionnelle du gène *RB1* n'a été mise en évidence ou en attendant le résultat de l'étude directe du gène *RB1*. Cette étude consiste à analyser les marqueurs génétiques polymorphes localisés dans et autour du gène *RB1* chez l'enfant atteint et ses parents, et à repérer l'allèle *RB1* porteur ou porteur putatif d'une prédisposition. En cas de forme familiale et si deux cas sont accessibles, l'étude indirecte permet de rapidement mettre en évidence l'allèle du gène *RB1* porteur de la mutation. Il est alors possible par cette méthode de détecter si les apparentés ont reçu l'allèle à risque. Dans ce cas, cette étude peut être la base d'un diagnostic prénatal. En cas de forme sporadique, l'objectif alors est de lever la surveillance d'un enfant qui n'aurait aucun allèle du gène *RB1* en commun avec son frère ou sa sœur atteint d'un rétinoblastome (c'est-à-dire dans un cas sur quatre). Il faut souligner que, si l'enfant est porteur d'un allèle en commun avec le patient, la probabilité qu'il soit porteur d'une altération du gène *RB1* reste très faible, mais, par prudence, la surveillance ophtalmologique sera poursuivie. Dans ce cas, le diagnostic prénatal ne peut pas être envisagé.

4.1.3.3. Étude cytogénétique : [73]

L'étude cytogénétique comprend un caryotype standard et une étude du gène *RBI* par la technique d'hybridation fluorescente *in situ* (FISH). L'approche cytogénétique est irremplaçable pour la détection de translocations, de délétions à l'état de mosaïque, et pour estimer la taille de très grandes délétions. Elle met donc en évidence des situations rares. Actuellement, elle est proposée en première intention devant un retard mental ou un syndrome malformatif associé, ou dans un second temps, avec une étude du gène *RBI* par FISH, lorsque l'étude moléculaire directe s'est avérée négative, en particulier dans les formes bilatérales. L'obtention des résultats est rapide.

4.1.3.4. Signification des tests :

- Lorsque le rétinoblastome est bilatéral (un tiers des rétinoblastomes) :
- Soit des antécédents familiaux affirment le mode autosomique dominant de la transmission d'une mutation RB. Le risque est alors de 50% pour chaque enfant. La mise en évidence d'une micro-délétion apporte parfois (5% des rétinoblastomes) une preuve diagnostique de forme familiale et favorise le dépistage intrafamilial des sujets porteurs de la même anomalie chromosomique.

En absence de modifications chromosomiques, une analyse des marqueurs biologiques (RFCP : les rhizobactéries Favorisant la croissance des plantes) peut reconnaître le chromosome porteur de la mutation germinale des rétinoblastomes, à condition que l'on puisse étudier deux sujets malades. Une mutation ponctuelle n'est identifiée que dans 12% des cas.

- Soit il n'existe pas d'antécédents familiaux, ni de délétion. Il s'agit alors d'une mutation de *novo* germinale (30% des rétinoblastomes) retrouvée chez le patient dont seule la descendance est menacée.

- Lorsque le rétinoblastome est unilatéral (deux tiers des rétinoblastomes) :

L'absence d'antécédents familiaux, d'anomalie cytogénétique, de bilatéralité et de plurifocale et l'âge tardif de l'apparition, plaident en faveur d'une forme sporadique. En cas de tumeurs précoces, il faut se méfier d'une mutation de *novo* chez un enfant qui a mis longtemps pour présenter une deuxième mutation.

La biologie moléculaire pourrait être rassurante en ne retrouvant aucune mutation dans les cellules somatiques de l'enfant. Une telle recherche paraît difficilement réalisable si les mutations de la tumeur du sujet ne sont pas clairement définies.

Récemment, Lohmann et al ont retrouvé une mutation germinale du gène *RBI* dans 17% des cas de rétinoblastomes unilatéraux où la double mutation *Rb1* tumorale avait été identifiée.

» Risque pour L'enfant dont un parent a été atteint de rétinoblastome:

- Chez un futur parent, atteint de rétinoblastome dans l'enfance et présentant une histoire familiale, l'allèle *RBI* à risque peut être mis en évidence de façon indirecte dans la majorité des cas et on peut proposer (sous réserve de l'accessibilité des prélèvements d'au moins deux membres atteints de la famille) un dépistage prénatal ou postnatal qui se révélera positif dans 50% des cas.

- Devant une atteinte bilatérale sans histoire l'approche indirecte au niveau tumoral, si elle est possible, permet en moyenne dans un cas sur quatre de repérer l'allèle à risque. Si le diagnostic de prédisposition est retenu, ou si l'analyse génétique est non informative, la surveillance ophtalmologique du nouveau-né est indispensable dès la période néonatale, et à poursuivre chaque mois jusqu'à 18 mois et tous les 3 mois jusqu'à 4 ans.

- Devant une atteinte unilatérale sans histoire familiale, l'approche indirecte réalisée au niveau tumoral permet d'éviter la surveillance dans environ un cas sur quatre ; on ne lève pas la surveillance dans trois cas sur quatre alors que celle-ci n'est utile que dans moins de 10% des cas. En effet, dans les formes unilatérales isolées, la probabilité de mutation constitutionnelle du parent atteint est inférieure à 10%.

» Dans la fratrie d'un enfant atteint de rétinoblastome:

- Avec au moins deux cas dans la famille, le risque de prédisposition dans la fratrie est de 50%.

- Devant un cas bilatéral ou multifocal, sans histoire familiale, le risque est faible (inférieur à 5%) et la surveillance, mensuelle jusqu'à 2 ans puis semestrielle jusqu'à 4 ans, ne peut être levée que si l'enfant n'a pas d'allèle en commun avec la sœur ou le frère atteint ou s'il n'est pas porteur de l'allèle non perdu au niveau tumoral.

- Devant une atteinte unilatérale uni focale, sans histoire familiale, le risque est très faible (inférieur à 1%), mais là encore, dans la majorité des cas, la surveillance ne pourra être évitée.

4.2. Généralités sur l'hybridation *in situ* en fluorescence

4.2.1. Définition :

L'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) est une technique de cytogénétique moléculaire qui utilise des sondes fluorescentes qui se lient uniquement aux parties d'une séquence d'acide nucléique avec un degré élevé de complémentarité de séquence. La FISH est souvent utilisée pour détecter et localiser la présence ou l'absence d'une séquence d'ADN ou d'ARN spécifique dans des cellules interphasiques ou sur des cellules en métaphase [74].

4.2.2. But :

Le but de la FISH est de déterminer la présence, l'absence, le changement du nombre de copies ou le réarrangement d'une séquence d'acide nucléique. Cela se traduit sur le plan cytogénétique par la détermination d'anomalies chromosomiques telles que des délétions, des duplications, des amplifications, des inversions, et des translocations, etc. [75].

4.2.3. Principe :

Le principe de la technique FISH est fondé sur la propriété de réassociation spécifique des acides nucléiques. La séquence cible (ADN ou ARN) et une sonde (acide nucléique modifié ou non) ont un degré de complémentarité très élevé d'un ou de leurs brins. La sonde qui est couplée à un fluorochrome et la séquence cible sont rendues monocaténares par la dénaturation et mises en contact dans des conditions permettant leur hybridation. L'hybridation a lieu grâce à la complémentarité des bases

nucléotidiques de la sonde et de la séquence cible, et leur appariement se fait par des liaisons d'hydrogène établies selon les critères de Watson et Crick. Les hybrides infidèles et les molécules de sonde non hybridées sont éliminées par des lavages successifs. Enfin l'observation s'effectue au microscope à épi fluorescence qui permet de visionner la séquence cible marquée par un fluorochrome dans des noyaux ou sur des métaphases. (Voir Figure 24).

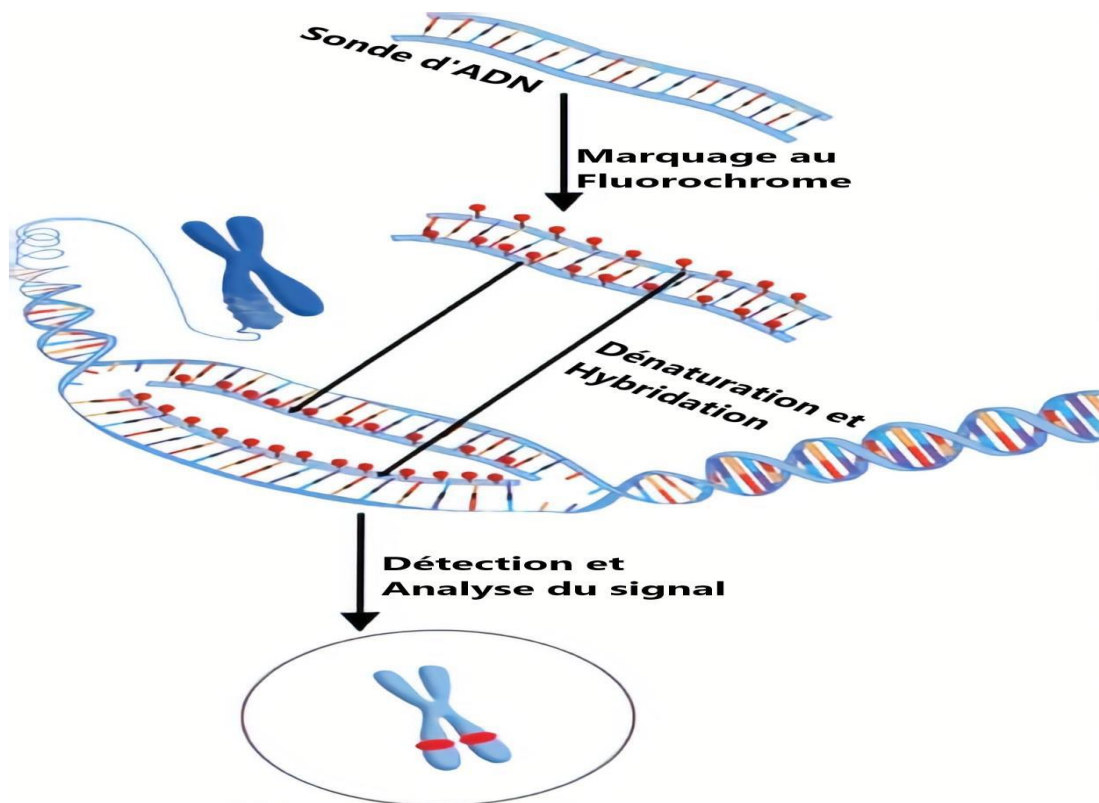


Figure 24 : illustration du principe de FISH [74].

4.2.4. Sondes utilisées :

Les sondes constituent l'élément essentiel de la technique FISH. Les sondes de FISH peuvent provenir d'une séquence d'ADN, d'ARN ou d'acide nucléique modifiée tel que l'acide nucléique peptidique (PNA) ou « locked nucleic Acid » (LNA) et elles peuvent se présenter en double brins (sonde d'ADN) ou simple brin (sondes d'ARN, de PNA ou de LNA). La taille minimale d'une sonde cliniquement viable pour FISH est d'environ 50 Kb, tandis que des sondes plus grandes peuvent couvrir jusqu'à 1 Mb, mais la plupart des sondes sont généralement entre 200 à 400 Kb. Actuellement, les sondes sont directement marquées par un ou des fluorochromes qui ont des spectres d'émission et d'excitation leur permettant d'être visualisées par un microscope à fluorescence.

Les sondes les plus couramment utilisées en FISH sont classifiées en trois groupes et cette classification est faite en fonction de la cible de la séquence d'ADN [75].

➤ **Les sondes spécifiques de loci :**

Ces sondes ciblent un ou des loci spécifiques du génome. Ces sondes sont les plus fréquemment utilisées dans la détermination des anomalies chromosomiques. La combinaison de deux ou trois sondes spécifiques de loci marquées par des fluorochromes différents est de règle pour la détection des anomalies chromosomiques en oncologie. Cette combinaison sert de contrôle interne de l'hybridation et permet d'interpréter efficacement les profils de signaux. Pour la détection des translocations ou des inversions surtout en oncologie, la combinaison de sonde appelée « Break-part » ou les « dual color fusion » sont les plus couramment utilisées parce qu'elles sont plus spécifiques pour détecter des cellules cancéreuses présentant ces anomalies.

➤ **Les sondes répétitives :**

À l'opposé des sondes spécifiques de loci, elles sont composées de séquences spécifiques d'ADN répétées. Ces sondes ciblent généralement les régions centromériques et télomériques.

➤ **Les sondes de peinture chromosomique :**

Ces sondes s'hybrident à un chromosome entier ou un bras chromosomique. La combinaison de plusieurs sondes de peinture chromosomique permet de faire le caryotype spectral.

4.2.5. Étapes :

➤ **Échantillons :**

La FISH peut être faite à partir des préparations cytologiques et histologiques provenant de tout échantillon d'origine humaine. Les cellules interphasiques obtenues à partir d'une fixation au méthanol et à l'acide acétique ou d'une coupe tissulaire (tissus frais ou enrobé à la paraffine) sont les préparations les plus utilisées. En outre, des chromosomes obtenus à partir d'une préparation métaphasique peuvent être aussi la cible d'une FISH.

➤ **Prétraitement de l'échantillon :**

Cette étape permet une meilleure pénétration de la sonde dans la cellule, le noyau ou dans le ou les chromosomes cibles. Pour des préparations cytogénétiques telles que les métaphases ou les noyaux interphasiques issus d'une récolte directe, le prétraitement à la chaleur ou dans une solution saline permet de rendre la chromatine plus accessible à la sonde. Pour des préparations histologiques telles des coupes de tissus frais ou enrobés dans la paraffine, une digestion protéolytique est nécessaire pour mieux perméabiliser les cellules, les noyaux et la chromatine afin qu'ils soient plus accessibles à la sonde.

➤ **Dénaturation de la séquence cible et de la sonde :**

Cette étape qui consiste à séparer (généralement par la chaleur) les deux brins d'ADN par rupture des liaisons hydrogènes. Une température à 75°C est généralement utilisée pour la plupart des sondes à ADN. Cette température a l'avantage d'être au-dessus de la température de fusion de l'ADN et empêche aussi la formation de structure secondaire de l'ADN monocaténaire lorsque la sonde est dénaturée.

➤ **Hybridation :**

Durant cette étape les brins d'ADN se réassocient de façon spécifique, ce qui permet à l'ADN de la sonde de s'hybrider à l'ADN cible. Cette étape est faite dans un environnement humide et généralement à 37°C. Elle peut durer de 1 heure à 48 heures dépendamment du type de sonde et de la cible.

➤ **Lavage :**

Cette étape permet d'éliminer les hybrides infidèles et les sondes non hybridées. Elle est faite à une température au-dessus de la température d'hybridation et dans une solution saline associée à un détergent.

➤ **Contre-coloration :**

La coloration de l'ADN nucléaire est souvent nécessaire pour localiser avec précision la séquence cible dans un noyau interphasique ou sur un chromosome. La contre-coloration est diluée dans une solution qui retarde la diminution de l'intensité de la fluorescence de la sonde. Elle se fait généralement avec le DAPI (4', 6-diamidino-2-phénylindole), qui colore le noyau et les chromosomes en bleu permettant la visualisation simultanée de la plupart des fluorochromes utilisés avec les sondes.

➤ **Conservation :**

Les lames hybridées peuvent être conservées dans un congélateur à -20 °C jusqu'au moment de l'observation. La fluorescence est plus stable à une température basse. Les lames doivent être aussi protégées de la lumière. Une température élevée et la lumière diminuent l'intensité du signal de la sonde.

➤ **Observation et interprétation :**

L'observation de l'échantillon se fait à partir d'un microscope à fluorescence qui est équipé de filtres appropriés pour visionner la séquence cible. En général, le microscope est équipé d'une caméra qui permet la prise d'images, essentielle pour l'interprétation des échantillons utilisés en clinique pour le diagnostic, le pronostic ou le suivi thérapeutique. L'interprétation des patrons de signaux se fait en fonction de la sonde utilisée, de la séquence cible, du type d'échantillon et de la pathologie.

4.2.6. Application :

La FISH est une technique de cytogénétique moléculaire complémentaire aux techniques de la cytogénétique conventionnelle telle que le caryotype. La FISH est utilisée en recherche ou en clinique pour la détection des réarrangements des séquences d'ADN ou d'ARN. En général, l'utilisation clinique de la FISH a pour but de déceler des anomalies chromosomiques constitutionnelles ou acquises. Elle permet le diagnostic des syndromes génétiques au cours du diagnostic prénatal ou après la naissance. L'étude des anomalies chromosomiques acquises sur les tumeurs a largement bénéficié du développement de la FISH parce que les aberrations chromosomiques sont souvent nombreuses et complexes d'une part, et d'autre part, les préparations chromosomiques sont parfois de qualités insuffisantes ne permettant pas une analyse complète avec les techniques conventionnelles. Certaines hémopathies malignes et tumeurs solides peuvent se caractériser par un remaniement chromosomique

spécifique (translocation, inversion) facilement détectable par la FISH. Les anomalies détectées notamment dans les leucémies ont fréquemment un intérêt diagnostique, pronostique et parfois dans le suivi du traitement pour en contrôler l'efficacité. La FISH est l'une des approches moléculaires les plus utilisées en cytogénétique et pathologie moléculaire du fait de sa précision et de sa facilité.

4.2.7. Avantages et limites :

L'analyse cytogénétique classique des tumeurs est parfois difficile : culture cellulaire aléatoire, qualité médiocre des métaphases obtenues, index mitotique faible, contamination des cellules tumorales par du tissu sain, etc. La FISH permet en partie de limiter les inconvénients de ce type de culture de cellules tumorales notamment par le grand nombre de cellules pouvant être examinées aussi bien en métaphase qu'en interphase. La FISH est une approche rapide qui permet d'obtenir des informations de diagnostic précieuses en 2 jours au lieu d'attendre trois à quatre semaines avant d'obtenir des caryotypes de bonne qualité en cas de cultures des cellules des tumeurs solides. La FISH est applicable sur des cellules à n'importe quel stade du cycle cellulaire ainsi que les tissus archivés et sa résolution de détection des anomalies chromosomiques est plus élevée que celle du caryotype. En fin l'analyse des résultats se fait cellule par cellule permettant de déterminer la clonalité et le pourcentage de cellules cancéreuses parmi les cellules saines.

L'une des limites majeures de la FISH est que la sonde ne peut fournir que des informations sur la séquence cible. En outre, il faut connaître ou supposé au préalable l'anomalie chromosomique avant de choisir la sonde.

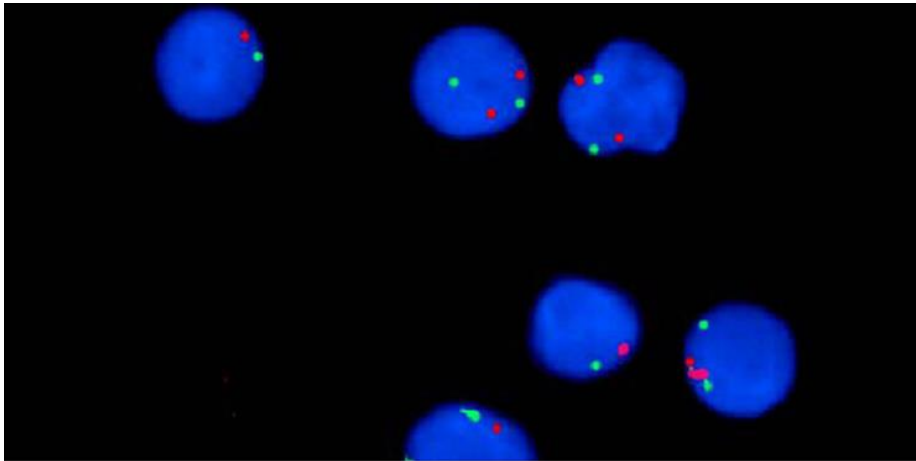


Figure 25:FISH interphasique montrant des résultats normaux : 2 signaux rouges du locus 13q14.[75].

5. METHODOLOGIE :

5.1. Cadre de l'étude :

Notre étude s'est déroulée conjointement à l'unité d'oncologie pédiatrique du CHU Gabriel Touré et au service d'ophtalmologie pédiatrique de l'Institut d'Ophtalmologie Tropicale d'Afrique (CHU-IOTA) et au laboratoire de la Neurosciences de la FMOS du Point "G". La partie technique de l'étude s'est déroulée dans le Service de neurosciences de la FMOS et l'évaluation microscopique et l'analyse ont été faites dans le même laboratoire de la Neurosciences de la FMOS du Point "G".

5.2. Type et période d'étude :

Il s'agit d'une étude prospective, descriptive et analytique, qui s'est déroulée sur une période de 15 mois allant du 16 Mai 2022 au 16 Juin 2023.

5.3. Population d'étude :

Note étude a porté sur les enfants atteints de rétinoblastome choisis de façon aléatoire à l'unité oncologie pédiatrique du CHU Gabriel Touré.

5.4. Critère d'inclusion :

- Enfant de 0 à 15 ans
- Présente un RB uni ou bilatéral
- RB cliniquement et histologiquement confirmé
- RB n'ayant reçu aucun traitement au préalable
- RB non métastatique au diagnostic
- Consentement éclairé des parents ou du représentant légal.

5.5. Critère de non inclusion :

- Enfant d'âge supérieur à 15 ans
- RB antérieurement traité par chimiothérapie ou radiothérapie
- RB cliniquement et histologiquement non confirmé.
- RB métastatique extra orbitaire
- Refus parental ou du représentant légal.

5.5.1. L'information :

Les médecins oncologues, les ophtalmologues et également les patients étaient tous informés du but, des objectifs et de la portée de l'étude.

5.5.2. Enrôlement et consentement :

Les parents ou le représentant légal ont reçu des informations détaillées sur modalités théoriques et pratiques de l'étude. Leur consentement par rapport à l'adhésion a été demandé verbalement.

5.5.3. L'examen génétique :

5.5.3.1. La collecte du sang :

Le sang du patient était recueilli dans deux tubes à héparine de 4 ml.

Le prélèvement a été effectué dans l'unité oncologie pédiatrique du CHU Gabriel Toure.

5.5.3.2. Mise en culture cellulaire :

Le protocole standard du service pour la mise en culture cellulaire a été suivi (cf. appendice 1). Le principe de la mise en culture est de multiplier des cellules hors de leur environnement naturel, et pour cela le nouvel environnement doit contenir un minimum de nutriments et de gaz (acides aminés, glucose, CO₂, etc.). En général, deux tubes d'exploration génétique du rétinoblastome au Mali contenant chacun 5 ml de milieu de culture et 200-400 µl (en fonction de la cellularité des leucocytes) du sang périphérique pour chaque patient ont été mis en culture dans un incubateur à 37°C.

5.5.3.3. La récolte cellulaire :

La récolte cellulaire a également été effectuée suivant le protocole standard de notre laboratoire (Voir Appendice 2). La récolte des cellules s'est faite suivant le principe suivant :

Dans un premier temps, il s'agit d'empêcher le raccourcissement des cellules par le bromure d'éthidium. Le bromure d'éthidium est un intercalaire d'ADN, il s'intègre à l'intérieur des chromosomes et les empêche ainsi qu'ils se raccourcissent rendant leur analyse difficile.

Ensuite, il faut arrêter la division des cellules à la métaphase par la colchicine. La colchicine est un agent antimitotique qui permet d'arrêter la division cellulaire à la métaphase en étant toxique pour les microtubules et inhibant ainsi la formation du fuseau de division ou fuseau mitotique. Les microtubules formés en début de la métaphase se rétractent à la fin de la métaphase en attirant les chromosomes vers les pôles et permettent ainsi le passage à l'anaphase, donc leur inhibition permet de maintenir la division cellulaire à la métaphase.

- La troisième étape est de faire le choc hypotonique par le chlorure de potassium (KCl). L'ion K est plus abondant dans le milieu intracellulaire (MI) que dans le milieu extracellulaire (ME). Ainsi, l'ajout de l'eau faiblement concentrée en KCl va entraîner une augmentation de la concentration du MI et provoquer ainsi la turgescence de la cellule.
- Enfin, on fixe les cellules par un mélange d'acide acétique et de méthanol. La fixation est une étape très importante car elle permet une bonne préservation de la morphologie (structure) cellulaire tout en inhibant sa fonction. Le fixateur est constitué d'acide acétique et de méthanol. L'acide acétique va provoquer une désintégration de la membrane plasmique par la perte d'une grande partie des protéines et une stabilisation des chromosomes se fait grâce à la propriété fixatrice du méthanol.

5.5.3.4. La phase de prétraitement :

Le protocole standard du service pour le traitement des lames, dans lequel sont cités les matériaux et les solutions a été observé pour toutes les lames.

La phase de prétraitement permet l'accessibilité de la sonde à sa cible. Les lames sont laissées pendant 96 heures à une température comprise entre 25-30°C. Ensuite, la solution saline tamponnée tris (TBS) qui est une solution tampon isotonique de stabilisation du pH couramment utilisée dans les procédures d'immun essai est utilisée pour équilibrer les cellules se trouvant sur la lame. Enfin, on fait une déshydratation des cellules dans des bains successifs d'éthanol dilué à 80%, puis à 90% et à 100%.

5.5.3.5. La FISH :

La technique FISH est la principale technique employée à la recherche du gène *RBI*. Pour cela, tous les échantillons sont mis en culture pendant 24 à 48 heures, puis récoltés et étalés sur une lame. La sonde *RBI* est utilisée pour l'identification du gène *RBI* du locus 13q14 avec un temps d'hybridation de 24h à 48h.

5.5.3.6. Lavage :

On utilise la solution TBS (Tris-buffered saline) avec un détergent la « Tween 20 » pour le lavage des lames afin d'enlever les hybrides infidèles et sondes non hybridées sur la lame

5.5.3.7. Observation :

Les lames sont observées à l'aide d'un microscope à fluorescence. Ainsi, 20 chromosomes métaphasiques ainsi que 200 noyaux interphasiques sont observés et analysés pour chaque échantillon. Le résultat est donné en termes de pourcentage, c'est-à-dire le nombre de cellules présentant un réarrangement *RBI* sur le nombre total de cellules examinées, autant pour les cellules inter phasiques que pour les cellules métaphasiques.

5.5.4. Les variables :

5.5.4.1. Variables sociodémographiques : L'âge et le sexe étaient les principales variables étudiées.

5.5.4.2. Variables cliniques : le motif de consultation et les caractéristiques cliniques étaient les principales concernées.

5.5.4.3. Variables génétiques : le pourcentage de cellules inter phasiques et/ou métaphasiques présentant la fusion *RBI* et les différents de patrons signaux indiquant la translocation *RBI* ont été enregistrés comme variables génétiques.

5.5.5. Recueil et analyses des données :

Les données ont été recueillies dans un fichier Excel. Le traitement de texte a été fait par Word 2016. Les figures et les tableaux ont été faits par Excel 2016. Les moteurs de recherche et de citation bibliographique ont été effectués sur : Bio santé, Google, Google scholar, PubMed.

5.5.6. Aspect éthique :

La confidentialité des données a été garantie. Le nom des patients ne figure dans aucun document relatif aux résultats de notre étude. Pour chaque patient, un consentement éclairé d'un des parents ou un tuteur légal a été obtenu.

6. RESULTATS :

Cinq patients ont été inclus.

6.1. Caractéristiques socio-démographiques :

6.1.1. Sexe :

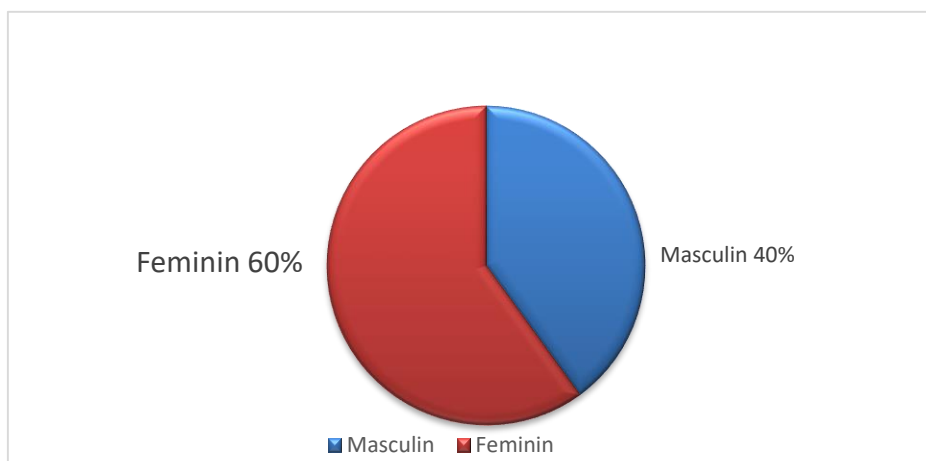


Figure 26 : Répartition des patients en fonction du sexe

Sur les 5 patients enregistrés 60% étaient de sexe féminin et 40 % de masculin. Dans notre étude la sex-ratio est de 0,67 H/F.

6.1.2 Age :

Tableau 3 : Répartition des patients en fonction de l'âge.

Patients	Age(mois)
P1	15
P2	20
P3	48
P4	6
P5	4

Dans notre étude des patients avaient un âge compris entre 0 à 15 mois avec une moyenne de 18,6 mois et les deux extrêmes de 4 et 48 mois (4 ans).

Tableau 4 : Répartition des patients en fonction de l'âge du père.

Age du père (ans)	Fréquence	Pourcentage (%)
30 – 40	4	80
> 40	1	20
Total	5	100

Dans notre étude 80% des pères avaient un âge compris entre 30 et 40 ans

Tableau 5 : Répartition des patients en fonction de l'âge de la mère.

Age de la mère (ans)	Fréquence	Pourcentage (%)
< 30	3	60
30 – 40	2	40
Total	5	100

Dans notre étude 60% des mères avaient un âge inférieur à 30 ans

6 .1.3. Ethnie :

Tableau 6 : Répartition des patients en fonction de l'ethnie.

	Fréquence	Pourcentage (%)
Bambara	2	40
Bozo	1	20
Malinké	1	20
Mossi	1	20
Total	5	100

Sur les 5 cas enregistrés nous avons retrouvé une fréquence élevée de bambara soient 40% des cas.

6.1.4 : Provenance :

Tableau 7 : Répartition des patients selon la provenance.

Provenance	Fréquence	Pourcentage (%)
MALI	3	60
BURKINA	1	20
GUINEE	1	20
Total	5	100

Dans notre étude nous avons retrouvé une fréquence élevée de 60% des patients maliens soient 3, 10% venant de Burkina et de la Guinée.

6.2. Caractéristiques cliniques :

6.2.1. Diagnostic :

Tableau 8 : Répartition des patients en fonction des manifestations de découverte.

Manifestation de découverte	Fréquence	Pourcentage (%)
Leucocorie	3	60
Strabisme	1	20
Buphthalmie	1	20
Total	5	100

Dans notre étude la leucocorie a été le symptôme initial chez 60% de nos patients.

Tableau 9 : Répartition des patients selon la forme du rétinoblastome.

Forme du rétinoblastome	Fréquence	Pourcentage (%)
Rétinoblastome unilatéral	4	80
Rétinoblastome bilatéral	1	20
Total	5	100

Dans notre étude 4 patients présentaient la forme unilatérale soit 80% et un de nos patients présentait la forme bilatérale soit 20%.

Tableau 10 : Répartition des patients selon l'âge d'apparition de la maladie.

Patients	Age d'apparition de la Maladie (mois)
P1	11
P2	13
P3	24
P4	3
P5	18

Sur les 5 enregistrés, 80% étaient diagnostiqués à un âge compris entre 10 à 20 mois. Avec un âge moyen de 13,8 mois.

Tableau 11 : Répartition des patients en fonction du délai de consultation.

Patients	Délai de consultation (mois)
P1	4
P2	7
P3	3
P4	3
P5	30

Dans notre série, 4 patients avaient un délai de consultation de moins de 8 mois. La moyenne était de 9,4 mois.

Tableau 12 : Répartition des patients en fonction de la classification ABC.

Patients	Grade
P1	OD=E OG=B
P2	E
P3	B
P4	E
P5	D

Dans notre série d'étude il a été retrouvé respectivement 60% de grade E, 20% de grade D, 20% de grade B.

Tableau 13 : Répartition des patients selon le devenir.

Etat de l'enfant	Effectif	Pourcentage (%)
Vivant sous traitement	4	80
Décédé	1	20
Total	5	100

Quatre patients étaient vivants et sous traitement (80%). Un patient est décédé à la suite de progression tumorale (Grade E).

6.3 Résultats génétiques :

Tableau 14 : Répartition des patients en fonction des résultats de la FISH

FISH	Effectif	Pourcentage (%)
	Patient	Patient
Présence de deux Loci <i>RBI</i>	5	100
Noyau cellulaire contenant deux signaux <i>RBI</i>	5	100

Chez tous les cinq échantillons dont nous avons fait la technique FISH nous avons remarqué la présence du gène *RBI* dans tous les noyaux interphasiques (fig. 26) et ainsi que dans toutes les cellules en métaphase (fig. 27). A noté que nous n'avons pas retrouvé de cas de mosaïcisme car tous les noyaux présentaient les mêmes profils phénotypiques.

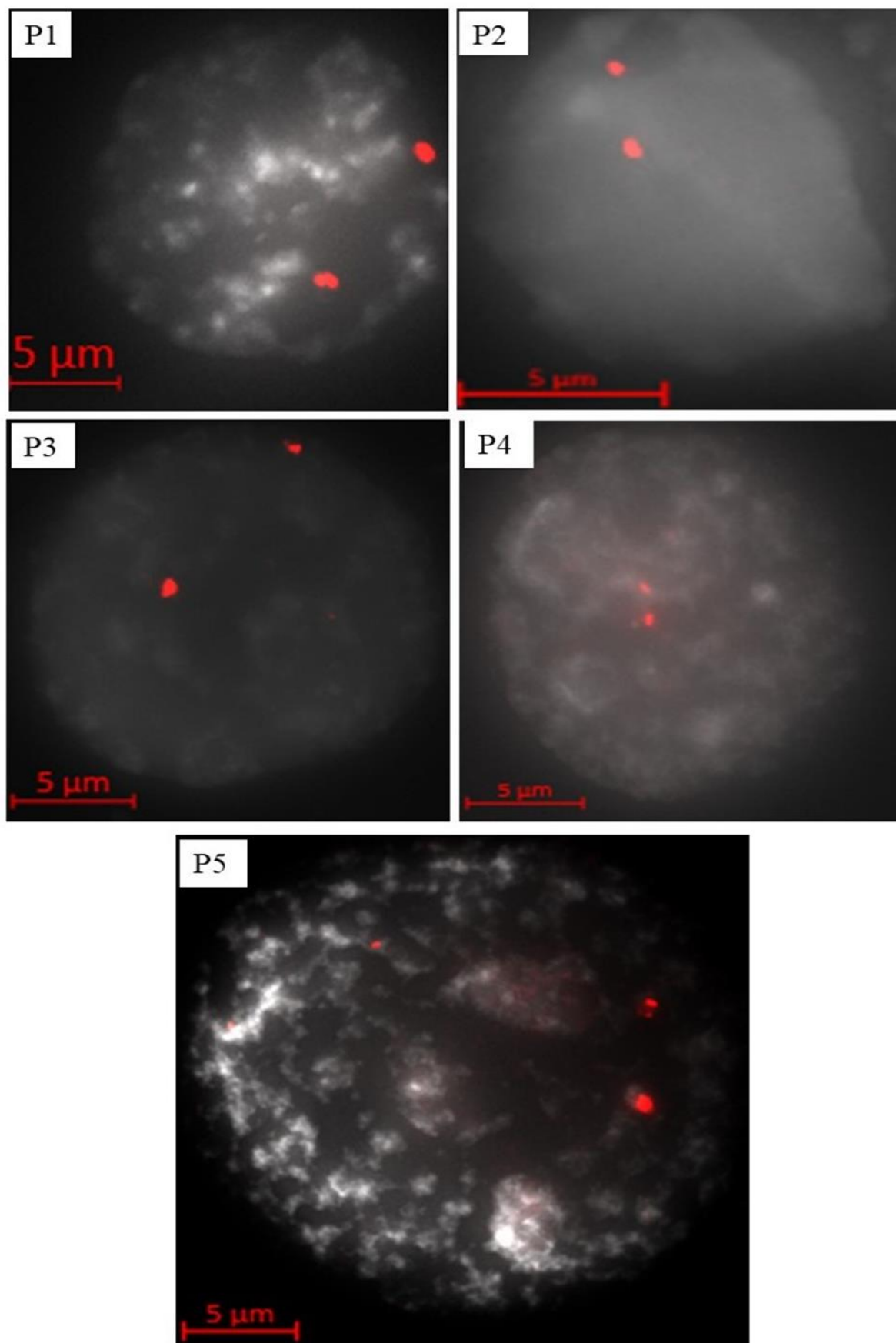


Figure 27 : représentation de patients en fonction de leurs noyaux interphasiques

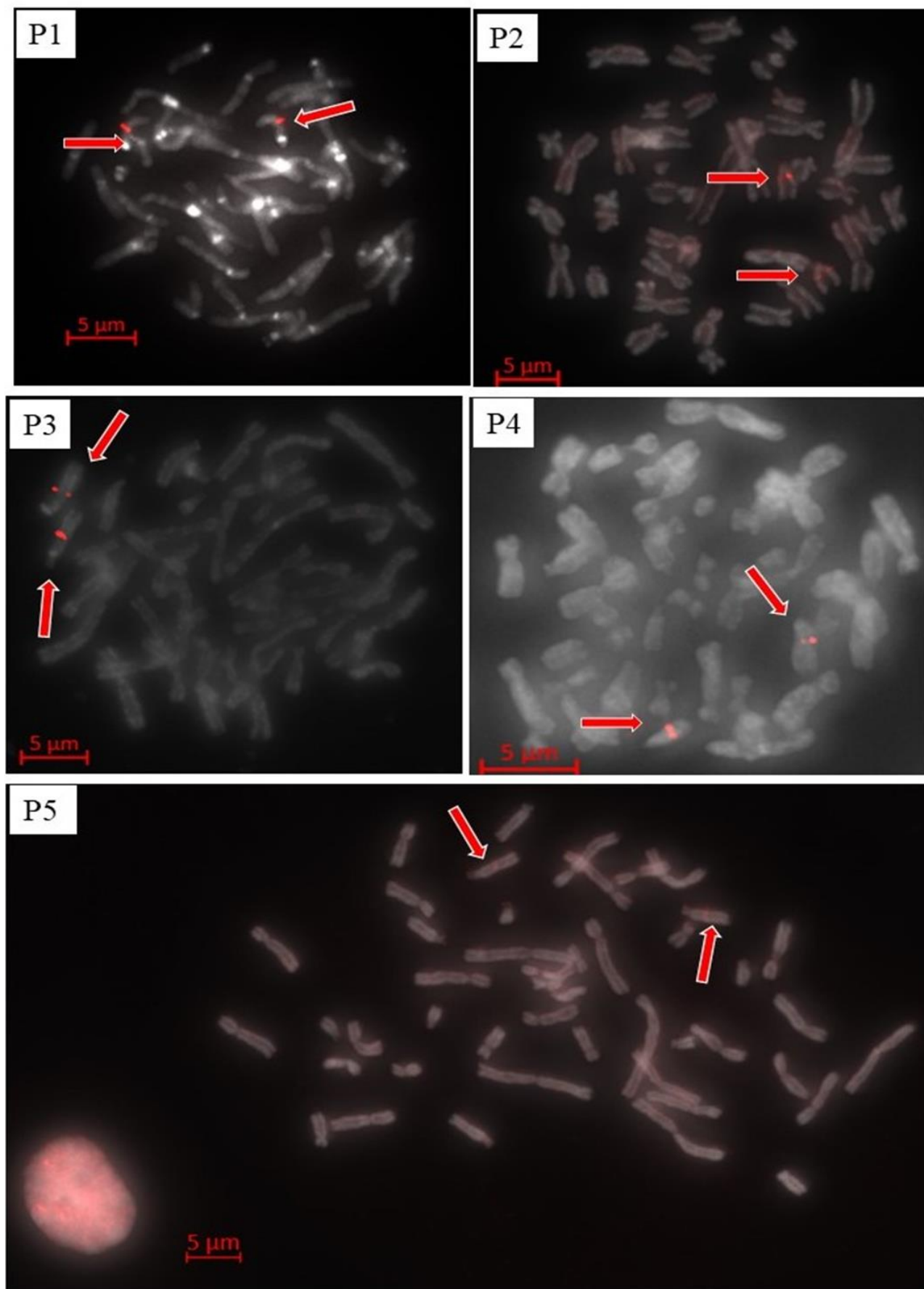
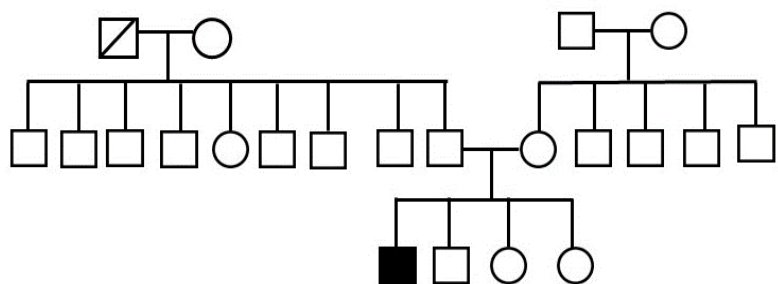


Figure 28 : représentation des patients en fonction de leur métaphase.

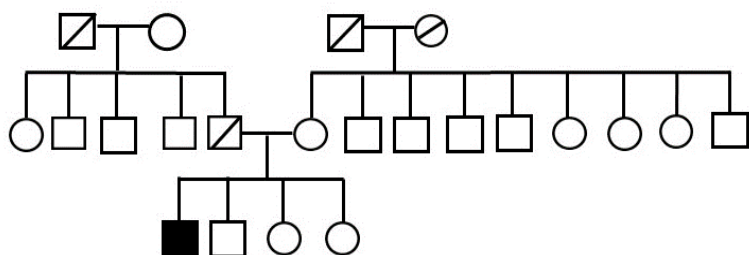
Patient P1



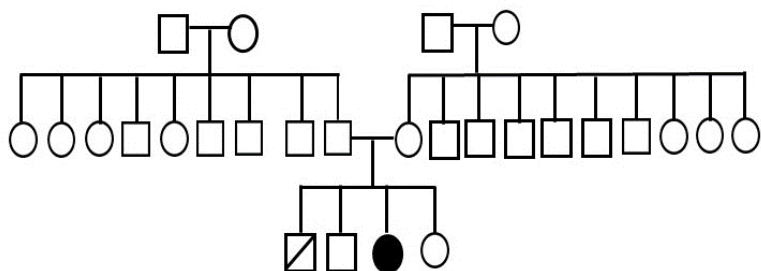
Légende

- Femme saine
- ◻ Homme décédé
- Homme Malade
- Homme sain
- ⊙ Femme décédée

Patient P2



Patient P3



Légende

- Femme saine
- ◻ Homme décédé
- Femme malade
- Homme sain

Patient P4

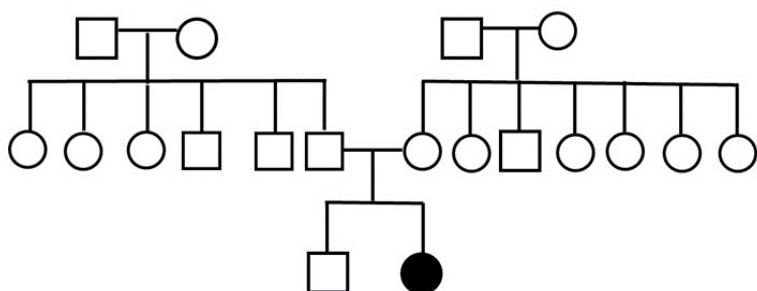


Figure 29 : Représentation schématique de Pedigree du patient P1, P2, P3, P4.

Patient P5

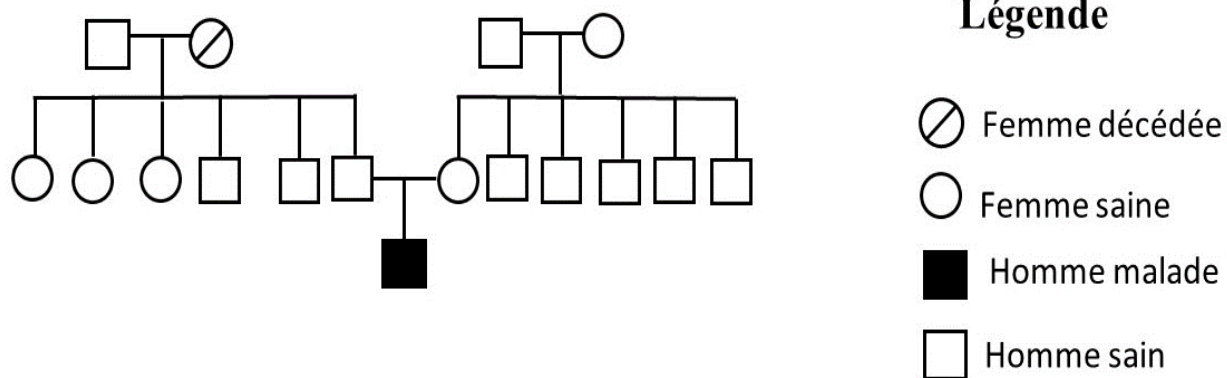


Figure 30 : Représentation schématique du pedigree du patient P5.

7. Commentaires et discussion :

La prise en charge d'un enfant atteint d'un RB est très complexe. Chaque cas est unique de par le nombre, la taille, la localisation des tumeurs, la latéralité, l'hérédité de la maladie, l'existence d'éventuelles autres anomalies associées, l'âge de l'enfant et son milieu social. C'est un modèle d'une approche multidisciplinaire de la maladie.

Dans notre étude, tous les patients ont été référés pour rétinoblastome ou pour le suivi des cas déjà diagnostiqués à CHU-IOTA.

7.1. La Fréquence :

A l'unité d'oncologie pédiatrique de Bamako, nous avons une moyenne de 40 nouveaux cas/an [76]. Sow à Dakar a rapporté une fréquence très inférieure à notre étude soit 2,36 par an [77].

En Côte d'Ivoire de 2013 à 2016, la fréquence hospitalière annuelle était évaluée à 20,75 cas par année [78].

L'incidence est également variable dans les pays industrialisés, estimée de 1/15000 à 1/20000 naissances vivantes [79].

En Inde avec environ 1500 nouveaux cas chaque année de RB, la forme bilatérale représente environ 30% des cas. Par ailleurs, notre étude est inférieure à celle réalisée en Inde soit 20% de rétinoblastome bilatéral [80].

En Oman 75 % avaient des tumeurs unilatérales et 25 % des tumeurs bilatérales [81]. Par ailleurs, elle était plus élevée dans les pays en développement que dans les pays développés. Cette différence de fréquence en Afrique de l'Ouest pourrait s'expliquer par le niveau de recrutement ainsi que l'implication des centres de prise en charge de rétinoblastome.

7.2. Les caractéristiques socio-démographiques :

7.2.1. L'âge :

Le rétinoblastome est une tumeur intraoculaire maligne touchant essentiellement le nourrisson et le jeune enfant, sa survenue est exceptionnelle chez le grand enfant et l'adulte.

La tranche d'âge la plus représentée dans notre étude a été celle de 0-15 mois soit 60% des cas.

Ce résultat diffère de celui de AY. Sidibé en 2021 dans lequel elle représentait de 0-10 mois soit 31,7%.

Ceci serait due au nombre restreint d'échantillon dans notre étude. L'âge moyen de diagnostic dans notre étude était de 18,6 mois et ce résultat est supérieur à ceux retrouvés en France en 2013 avec un âge moyen de 12 mois [82].

Durant notre étude, 100% des malades avaient âgés de moins de 5 ans, ce qui rapprochait les données de la littérature.

Dans les pays développés le diagnostic du rétinoblastome se fait à un âge plus précoce par rapport aux pays en voie de développement en raison d'un système de santé défaillant et un diagnostic tardif lié à la méconnaissance de la pathologie [83] [84].

7.2.2. Sexe :

Dans notre série, nous avons retrouvé une prédominance de sexe féminin avec sex ratio (**H=2**) /**F=3**) a 0,67 (Fig1). Ce résultat est différent à une étude réalisée à Bamako entre 2011-2015 [76].

Cependant, la nôtre est similaire à certaines études menées en Turquie, en Jordanie, en Chine, en Australie, en Inde, en Équateur, au Zimbabwe, en Colombie et au Portugal ont révélé une incidence plus élevée chez les hommes, tandis que d'autres études menées en Suède, en Suisse, au Costa Rica, au Brésil et en Algérie ont signalé une incidence plus élevée chez la femme [84].

Dans une étude réalisée en Moyen-Orient, Oman, il a été retrouvé une fréquence élevée du sexe féminin [81].

Ainsi, une grande étude multicentrique réalisée par **MOLL** et al. Recherchant une corrélation entre le rétinoblastome et le genre n'a pas trouvé de différence significative. Elles confirment que le rétinoblastome surviendrait aussi bien que chez les sujets de sexe masculin que chez le sujet sexe féminin

7.2.3. Provenance :

Dans cette étude 60% des patients étaient des résidents d'ici (Mali) et ceux du Burkina et de la Guinée représentaient pour chacun 20% des cas. H Touré au Mali avait rapporté un effectif élevé entre 2011-2019, 84% soit 15 patients [86].

Les patients référés par d'autres pays pourraient s'expliquer par le fait que le Mali abrite le CHU-IOTA (institut ophtalmologique Tropicale de l'Afrique) qui est la structure de référence.

En effet, le Mali dispose depuis des années d'un programme de prise en charge du RB à travers le soutien continu des partenaires comme le GFAOP (Groupe Franco-Africain d'Oncologie Pédiatrique), AOP (Ateliers d'Ophtalmologie Pratiques), MACC (Alliance Mondiale Contre le Cancer). Ce soutien a permis au fil des années de disposer des équipements adéquats et des acteurs de soins formés et qualifiés pour suivre un protocole de suivi validé, pour une bonne prise en charge du RB.

7.3. Caractéristiques cliniques et para cliniques :

7.3.1. Symptômes initiaux :

Dans notre série la leucocorie arrive en tête des signes d'appel puisqu'elle a été retrouvée dans 60% des cas, le strabisme 20% et la buphthalmie 20%. Plusieurs études dans différents pays ont montré que la leucocorie est le premier signe d'appel dans le rétinoblastome [87].

Par ailleurs notre résultat est superposable à celui de Sow F et supérieur pour Sidibé H qui ont retrouvé respectivement 60,1% et 38,2% dans le service en 2015 et 2009, études portant sur le RB unilatéral intraoculaire [88] [89].

Dans une étude réalisée par Balmer A et al, la leucocorie est représentée comme signe d'appel dans 60% des cas de rétinoblastome [90]. En Asie, Taiwan une étude a rapporté 78% de cas de leucocorie et 13 % de strabisme.

7.3.2. Délai de consultation :

La majorité des données de la littérature rapporte que la constatation du premier signe annonciateur de la maladie est faite par la famille et l'entourage et que la détection est rarement faite par le personnel soignant [91,92].

Dans notre série d'étude, le délai de consultation en moyenne était 9,4 mois.

Selon de nombreux auteurs, le délai pour consulter après l'apparition du premier signe d'appel reflète la qualité de la culture médicale du pays et le niveau de sensibilisation des parents [93] [94], ce délai conditionne le pronostic visuel, esthétique et surtout vital de la maladie [95] [96]. A noté que nous n'avons pas eu un cas d'antécédents de rétinoblastome familial.

7.4. Génétique :

Au total, nous avons recruté 5 patients diagnostiqués et suivis.

Nous avons pu effectuer pour la première fois au Mali l'analyse cytogénétique chez les 5 patients afin d'observer la présence du phénomène de délétion dans le rétinoblastome. Ce nombre restreint est lié à un manque de moyen car les réactifs utilisés coutaient chers et notre thèse n'étant pas financée.

La technique FISH a été la principale technique de laboratoire utilisée pour tous les patients.

Dans une étude cytogénétique en Argentine par la technique FISH, il a été retrouvé trois grandes délétions, qui représentent probablement des délétions entières de gènes, et deux petites délétions de 1 pb de longueur [97].

Environ 6% à 8% des personnes atteintes du rétinoblastome présentent une délétion chromosomique de 13q14. De telles anomalies chromosomiques sont souvent associées à un retard de développement et à des malformations congénitales [98] [99].

Dans une étude réalisée en suisse, la forme syndromique du Rb caractérisée par une délétion du bras long du chromosome 13, associée à une dysmorphie faciale et à un retard mental chez environ 5% des patients avec Rb. Cette anomalie se situe dans la région 13q14.1 – 13q14.2[100] [101].

Ces patients présentent un front bombé, une enclature nasale enfoncée, un philtrum long et marqué, une lèvre supérieure fine, une lèvre inférieure charnue, des grandes oreilles avec des lobules larges et repliés. Sur un plan neurologique, le handicap est directement proportionnel à l'ampleur de la délétion [102] [103].

La reconnaissance clinique de ce syndrome peut précéder à l'apparition du *RB* [104].

Le pronostic vital n'est pas différent de celui du *RB* classique. Par ailleurs sur le plan clinique nos patients ne présentaient pas de dysmorphie faciale ni de retard mental.

La technique FISH nous a permis de voir le nombre de copies du gène *RBI* sur le chromosome 13 grâce à l'hybridation de la sonde locus spécifique du *RBI* dans les noyaux interphasiques et dans les métaphases. Après l'analyse cytogénétique, nous n'avons pas observé de délétion du gène *RBI* car tous les échantillons tous les métaphases et les noyaux interphasiques présentaient deux copies du gènes *RBI*.

Cette méthodologie nous a permis de faire la mise en place de la technique FISH dans le rétinoblastome au Mali pour une première fois. Mais par ailleurs nous ne pouvons pas tirer une conclusion décisive de nos résultats car notre échantillon était de petite taille et nous n'avons pu faire la FISH que chez patients. Ainsi l'idéal est dans les jours à venir de faire la cartographie génomique et le séquençage afin d'affiner le rôle précis des régions adjacentes au locus de *RB1*.

A noté que nous n'avons pas pu avoir les blocs opératoires pour mettre en évidence le profil mutationnel somatique du gène *RB1* car il n'y avait pas une collaboration fluide entre le service anapath et la neurosciences.

Nous n'avons pas pu avoir des données par rapport à l'âge parental de nos patients.

7.5. Difficultés et limites de l'étude :

Notre objectif était d'effectuer la FISH sur 10 patients, vu les difficultés ci-dessous nous nous sommes limités à 5 patients.

Les difficultés sont de l'ordre :

7.5.1. Sur le plan financier : la majeure partie des patients n'avaient pas de moyens pour le déplacement afin d'effectuer le prélèvement.

7.5.2. Sur le plan de la culture cellulaire :

- Déficit en personnel au laboratoire.
- Déficit en réactifs (le coût élevé de la sonde *RB1* ainsi que d'autres réactifs pour la FISH).

7.5.3. Sur le plan organisationnel :

Difficulté d'accès des pièces opératoires pour le profil mutationnel somatique du gène *RB1*.

8. CONCLUSION

Le rétinoblastome est une maladie rare mais dont on peut guérir la majorité des cas, d'où la nécessité d'une détection précoce. Les signes d'appel principaux sont la leucocorie et le strabisme et doivent conduire à un contrôle ophtalmologique du fond d'œil sans délai, même si les symptômes sont intermittents. En cas de doute ou si l'examen ophtalmologique est difficile, il faut adresser l'enfant à un centre spécialisé.

Il faut connaître les règles génétiques d'un rétinoblastome pour adopter une stratégie thérapeutique adéquate en attendant de disposer des analyses génétiques et de leur diffusion.

Dans le rétinoblastome héréditaire, il est indispensable d'établir le diagnostic précoce dans la fratrie ; il faut également éviter au maximum les mauvaises habitudes de vie ainsi que les médicaments pouvant donner des effets mutagènes dans les formes héréditaires.

9. RECOMMANDATIONS

Au terme de cette étude, nous formulerons les recommandations suivantes :

Aux autorités politiques et sanitaires

- ✓ Financer les études de recherche sur le rétinoblastome.
- ✓ Développer la recherche et l'enseignement de la biologie moléculaire et de la génétique.
- ✓ Améliorer le plateau technique des structures de recherche clinique et biomédicale.
- ✓ Développer des stratégies de dépistage et de diagnostic précoce du rétinoblastome.
- ✓ Mettre en place une structure spécialisée, équipée et pluridisciplinaire dans la prise en charge des patients atteints du rétinoblastome au Mali.
- ✓ Renforcer la communication et la sensibilisation sur le rétinoblastome.
- ✓ Favoriser la collaboration étroite entre l'ophtalmologie pédiatrique et oncologie pédiatrique et généticien et pathologiste pour une meilleure prise en charge de tout cas de rétinoblastome.

À la communauté scientifique et au personnel de santé

- ✓ Explorer davantage la génomique du rétinoblastome dans la population malienne.
- ✓ Être à l'avant-garde de la recherche biomédicale sur le rétinoblastome.
- ✓ Établir des équipes multidisciplinaires de recherche sur le rétinoblastome.
- ✓ Chercher systématiquement les premiers signes cliniques du rétinoblastome lors des consultations.
- ✓ Toujours guider les patients vers des structures spécialisées pour mieux diagnostiquer et faire la prise en charge adéquate du rétinoblastome.
- ✓ Sensibiliser la population sur les facteurs de risques du rétinoblastome.

A la population

- ✓ Faire un dépistage périodique du rétinoblastome.
- ✓ Demander un avis médical approprié dès les premières manifestations cliniques du rétinoblastome
- ✓ Participer aux études de recherche sur le rétinoblastome.

Aux parents :

- ✓ Amener l'enfant dans une structure de santé, si possible spécialisée dès l'apparition d'une leucocorie ou d'un strabisme.
- ✓ Ne pas se laisser influencer par les préjugés entourant cette pathologie

10. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- 1. Vasiliki Poulaki, MD, PhD Shizuo Mukai, MD.** Retinoblastoma : Genetics and Pathology. 2009 ;49(1) :155–164.
- 2. A. Toure.** Retinoblastome Au Mali : A Propos D'un Suivi De 30 Cas. Bamako ; 2019;2:53
- 3. Marković L, Bukovac A, Varošaneć AM, Šlaus N, Pećina-Šlaus N.** Genetics in ophthalmology: molecular blueprints of retinoblastoma. Hum Genomics. 2023 ;17(1) :82.
- 4. Privitera F, Calonaci A, Doddato G, Papa FT, Baldassarri M, Pinto AM, et al.** 13q Deletion Syndrome Involving RB1 : Genes. 26 août 2021 ;12(9) :1318.
- 5. Thériault BL, Dimaras H, Gallie BL, Corson TW.** The genomic landscape of retinoblastoma. Clin Experiment Ophthalmol. 2014 ;42(1) :33-52.
- 6. Villegas VM, Gold AS, Wildner A, Ehliès F, Murray TG.** Genomic landscape of retinoblastoma. Clin Experiment Ophthalmol. 2014 ;42(1) :2-3.
- 7. A. Toure.** Retinoblastome Au Mali : A Propos D'un Suivi De 30 Cas. Thèse médecine Bamako ; 2019 ;2 :51.
- 8. Sarrauxh,lemasson c, offret h, renard g.** Anatomie et histologie de l'œil.1982 (2):218.
- 9. Sastre-garau et al.** Consensus meetings from the international retinoblastoma staging working group. Arch pathol lab med. 2009, 133 :1199-1202.
- 10. Chevaleraud jp.** Rappels d'anatomie dans oeil et sports, masson, paris, 1983, 160p: 1-7.
- 11. Anatomie pathologique en ophtalmologie.** Tumeurs intraoculaires. Cours de sciences fondamentales et cliniques section 4. 2011-2012; sfo. Le RB ; pages 174-177.
- 12. Creuzet S, Vincent C, Couly G.** Neural crest derivatives in ocular and periocular structures. Int J Dev Biol. 2005;49(2-3):161-71.
- 13. Sellner LN, Edkins E, Smith N.** Pediatr Dev Pathol. 2006 ;9(1) :31-7.
- 14. Kivela t.** Acta ophthalmologica, 2015. 87 :810-812. Doi10.1111/j.17553768.2009.01807. X.
- 15. Shields JA.** Diagnosis and management of intraocular tumors. St. Louis, mo:Cv mosby; 1983; 439.
- 16. Kaliki s, shields cl, rojanaporn d, al-dahmash s, shields JA et al.** Highrisk retinoblastoma based on international classification of retinoblastoma : analysis of enucleated eyes.2013; 120(5):997-1003.
- 17. Abadie c, gauthier-villars m, coupiera i.** Genetic predisposition to childhood cancer. 2012, 19 :863-875.
- 18. Shields CL, Bas Z, Laiton A, Silva AMV, Sheikh A, Lally SE, et al.** Retinoblastoma: emerging concepts in genetics, global disease burden, chemotherapy outcomes, and psychological impact. 2023 ;37(5) :815-22.
- 19. Rodjan F, De Graaf P, Brisse HJ, Göricke S, Maeder P, Galluzzi P, et al.** Trilateral retinoblastoma : neuroimaging characteristics and value of routine brain screening on admission. J Neurooncol.2012 ;109(3) :535-44.

- 20. Blach. Le, McCormick .B, Abramson. Dh, Ellsworth.Rm.** Trilateral retinoblastoma--incidence and outcome. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1994 ;29 :729-733.
- 21. Song Kd, Eo H, Kim Jh, Yoo Sy, Jeon Ty.** Can preoperative mr imaging Predict optic nerve invasion of retinoblastoma ? 2012 ;81 :4041– 4045.
- 22. Radhakrishnan V, Sharma S, Vishnubhatla S, Bakhshi S.** Mri findings at baseline and after neoadjuvant chemotherapy in orbital retinoblastoma. 2013 ; 97 :52–58.
- 23. Khurana A, Eisenhut Ca, Wan W.** Comparison of the diagnostic value of mr imaging and ophthalmoscopy for the staging of retinoblastoma. *Eur radiol* ;2013 ; 23 :1271-1280.
- 24. De Graaf P, Goricke S, Rodjan F, Galluzzi P, Maeder P, Brisse Hj.** Guidelines for imaging retinoblastoma: imaging principles and mri standardization.2012 ; 42: 2-14.
- 25. Brisse Hj Et Al.** Assessment of early-stage optic nerve invasion in retinoblastoma using high-resolution 1.5 tesla mri with surface coils. *Eur radiol.* 2014. Doi 10.1007/s00330-014-3514-1.
- 26. Baud O, Cormier-Daire V, Lyonnet S, Desjardins L, Doz F.**« dysmorphic phenotype and neurological impairment in 22 retinoblastoma patients with constitutional cytogenetic 13q deletion», *clin genet.* 1999;55: 478-482.
- 27. Kivela T.** trilateral retinoblastoma : à meta-analysis of hereditary retinoblastoma associated with primary ectopic intracranial retinoblastoma *journal of clinical oncology.*1999 ;17(6) :1829-1837.
- 28. Freitag SK.** Melanogenic Neuroectodermal Tumor of the Retina (Primary Malignant Melanoma of the Retina). *Arch Ophthalmol.* 1997 ;115(12) :1581.
- 29. Shields Cl, shields JA.** *Curr opin ophthalmol.* 2006 ; 17(3) : 22834.
- 30. Shields cl, shields JA.** Basic understanding of current classification and management of retinoblastoma. *Curr opin ophthalmol.* 2006 ; 17(3) : 22834.
- 31. Islam F, Zafar Sn, Siddiqui Sn And Khan A.** Clinical course of retinoblastoma. *Journal of the college of physicians and surgeons pakistan.* 2013, 23 (8) : 566- 569.
- 32. Ray A, Gombos Ds.** Retinoblastoma :*Indian j pediatr.* 2012 ; 79(7) :916–92.
- 33. Arif M, Islam Z.** Retinoblastoma : post enucleation orbital recurrence. *Can j ophthalmol* .2010 ; 45:606–9.
- 34. Mendoza Pr, Specht Cs, Hubbard Gb Et Al.** Histopathologic grading of anaplasia in retinoblastoma. *Am j ophthalmol.* 2015 ;159(4) : 764-76.
- 35. Kaliki S, Shields Cl, Rojanaporn D, Al-Dahmash S, Shields Ja Et Al.** Highrisk retinoblastoma based on international classification of retinoblastoma.2013;120(5):997-1003.
- 36. Shields Cl, Shields JA, Baez Ka, Cater J, And De Potter Pv.** Choroidal invasion of retinoblastoma : metastatic potential and clinical risk factors. *Br j ophthalmol.* 1993 ; 77 (9) :544-548.
- 37. Shields Cl, Shields JA, Baez Ka, Cater J, And De Potter Pv.** Choroidal invasion of retinoblastoma : metastatic potential and clinical risk factors. 1993 ; 77 (9) :544-548.

38. **Shields Cl, Elizabeth Schoenberg E, Shukla Sy, Kaliki S, Schields Ja** lesions simulating retinoblastoma (pseudo retinoblastoma) in 604 cases results based on age at presentation.2013 ; 120(2) :311–316.
39. **Chantada gl, dunkel ij , abramson dh.** Retinoblastoma patients with high risk ocular pathological features: who needs adjuvant therapy? J ophthalmol .2004 ; 88 :1069–1073.
40. **Balmer a, munier f.** Differential diagnosis of leukocoria and strabismus, first presenting signs of retinoblastoma. Clin ophthalmol. 2007 ; 1(4): 431 – 439.
41. **Balmer a, zografos l, uffer s, munier f.** Maladie de coats et tégangiectasies primaires ou secondaires. Emc (elsevier sas, paris), ophtalmologie. 2005 ;21240:30.
42. **Vahedi a, lumbroso-le rouic l, doz f, aerts i, desjardins l.** Diagnostic différentiel du RB : étude rétrospective de 486 cas. Jfo, 2008 ; 31, 2,165-172.
43. **Balmer A, Zografos L, Munier F.** Diagnosis and current management of retinoblastoma. Oncogene. 2006 ;25(38) :5341-9.
44. **Lin p, o'brien jm.** Frontiers in the management of retinoblastoma.Am j ophthalmol .2009; 148: 192-198. Dio: 10.1016 /j.ajo. 2009.04.004.
45. **Byroju VV, Nadukkandy AS, Cordani M, Kumar LD.** Retinoblastoma: present scenario and future challenges. Cell Commun Signal. 4 sept 2023 ;21(1):226.
46. **Shields CL, Mashayekhi A, Au AK, Czyz C, Leahey A, Meadows AT, et al.** The International Classification of Retinoblastoma Predicts Chemoreduction Success. Ophthalmology. déc 2006;113(12):2276-80.
47. **Chantada G, Doz F, Antoneli Cbg Et Al.** A proposal for an international retinoblastoma staging system. Pediatr blood cancer. 2006 ; 47 : 801-805.
48. **Gombos D And Chavez-Barrios P.** Current treatment and management of retinoblastoma. Current oncology reports .2007, 9:453-458.
49. **Ray a, gombos ds.** Retinoblastoma : Indian j pediatr.2012;79(7):916–92.
50. **Abramson DH, Lawrence Sd, Beaverson KI Et Al.** Systemic carboplatin for retinoblastoma : change in tumour size over time br j ophthalmol .2005; 89: 1616-1619.
51. **Lumbroso-Le Rouic L, Aerts I, Lévy-Gabriel C, Dendale R, Sastre X, Bours D, Doz F, Desjardins L** conservative treatments of intraocular. Retinoblastoma ophthalmology. 2008 ; 115:1405-1410.
52. **Chawla B, Jain A, Azad R.** Conservative treatment modalities in retinoblastoma. Indian journal of ophthalmology. 2013 ;61(9):479-485.
53. **Jabbour P, Chalouhi N, Tjoumakaris, Shields C.** Pearls and pitfalls of intraarterial chemotherapy for retinoblastoma. J neurosurg pediatrics. 2012, 10 : 175-181.

- 54. Shields Cl, Manjandavidafp, Arepalli S, Kaliki S, Lally Se, Shields Ja.** Intravitreal melphalan for persistent or recurrent retinoblastoma vitreous seeds: preliminary results. *Jama ophthalmol.* 2014; 132(3): 319-25.
- 55. Manjandavida Fp, Honavar Sg Et Al.** Management and outcome of retinoblastoma with vitreous seeds. *Ophthalmology*; volume 121, issue 2, february 2014, pages 517- 524.
- 56. Munier Fl, Soliman S, Gaillard Mc, Balmer A, Et Al.** Profiling safety of intravitreal injections for retinoblastoma using an anti-reflux procedure and sterilization of the needle track. *br j ophthalmol* 2012 ; 96 (8) : 1084-7.
- 57. Kivela t.** The epidemiological challenge of the most frequent eye cancer. *Retinoblastoma, an issue of birth and death. Br j ophthalmol.* 2009 ;93 (9) :1129-1131.
- 58. Chang Luo, Ying-Ping Deng.** Retinoblastoma : concerning its initiation and treatment. *Int j ophthalmol.* 2013 ; 6(3) : 397-401.
- 59. Canadian Retinoblastoma Society National Retinoblastoma Strategy Canadian Guidelines For Care.** *Can j ophthalmol.* 2009 ;2 :44.
- 60. Kleinerman Ra, Yu Cl, Little Mp, Abramson D,** tusker ma variation of second cancer risk by family history of retinoblastoma among long-term survivors *clin oncol .*2012 ; 21 :1-9.
- 61. Dommering Cj, Marées T, Moll Ac Et Al.** Rb1 mutations et des deuxièmes malignités primaires après RB héréditaire. *Cancer fam.* 2012 ; 11(2) : 225-233.
- 62. Marees T, Leeuwen Fe, De Boe Mr, Imhof Sm , Ringens Pj, Moll Ac.** Cancer mortality in long-term survivors of retinoblastoma. *European journal of cancer.* 2009 ; 45 :3245-3253.
- 63. Marees T, Leeuwen Fe, Schaapveld M, Imhof S.M, Kors Wa Et Al.** Risk of third malignancies and death after a second malignancy in retinoblastoma survivors. *European journal of cancer.* 2010 ;46 :2052-2058.
- 64. Baud O, Cormier-Daire V, Lyonnet S, Desjardins L, Turleau C, Doz F.** Dysmorphic phenotype and neurological impairment in 22 retinoblastoma patients with constitutional cytogenetic 13q deletion: Dysmorphic phenotype and neurological impairment in retinoblastoma patients. *Clin Genet.* 1999;55(6):478-82.
- 65. Hogg A. Hogg, A.** Identification of Mutations in the Retinoblastoma Gene. In: Cotter, F.E. *Molecular Diagnosis of Cancer.* <https://doi.org/10.1385/0-89603-341-4:123>.
- 66. Genet AJH. Dietmar R. Lohmann,1 Martin Gerick, ' Birgit Brandt,1 Ulrich Oelschlager,2 Birgit Lorenz, ' Eberhard Passarge,1 And Bernhard Horsthemke.** Constitutional RB1 -Gene Mutations in Patients with Isolated Unilateral Retinoblastoma. *Am. J. Hum. Genet.* 1997 ;61 :282-294.
- 67. Valverde Jr, Alonso J, Palacios I, Pestaña Á.** RB1 gene mutation up-date, a meta-analysis based on 932 reported mutations available in a searchable database. *BMC Genet.* 2005 ;6(1) :53.
- 68. Comings DE.** A General Theory of Carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci.* 1973;70(12):3324-8.

- 69. Dhanjal. S, Kakourou. G, Mamas. T, Et Al.** Preimplantation genetic diagnosis for retinoblastoma predisposition. *Br J Ophthalmol.*2007, 91 : 1090 1.
- 70. Moll .AC, Imhof .SM, Meeteren. AY, Boers. M.** At what age could screening for familial retinoblastoma be stopped? *Br J Ophthalmol.* 2000 ; 84 :1170–1172.
- 71. Doz F.** Retinoblastoma: *Archives de pédiatrie* 2006;13 :1329–1337.
- 72. Gauthier-Villards .M, Stoppa-Lyonnet .D, Dufier J.-L .D.**Rétinoblastome chapitre 22, Livre.book, 2009; 3:40-15.
- 73. Liehr T, Editeur.** Fluorescence In Situ Hybridization (FISH): Application Guide [Internet]. 2e éd. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2017 . ISBN-13:9783662529577.
- 74. The Agt Cytogenetics Laboratory Manual.** 2017: 84-117.DOI:10.1002/9781119061199.
- 75. A. Dowd, Suzan Homeida, Haram Awad Elkarem** Published in *The Malaysian journal of.*2015 ID : 24383841.
- 76. Traoré F, Sylla F, Togo B, Kamaté B, Diabaté K, Diakité AA, Et Al.** Treatment of retinoblastoma in Sub-Saharan Africa : Experience of the paediatric oncology unit at Gabriel Toure Teaching Hospital and the Institute of African Tropical Ophthalmology, Bamako, Mali. *Pediatr Blood Cancer.* 2018 ;65(8):e27101.
- 77. Sow AS, Ndoye Roth PA, Moreira C, Diagne Akonde FB, Ka AM, Ndiaye Sow MN, Et Al.** Thérapeutique du rétinoblastome. *J Fr Ophtalmol.* 2014 ;37(5):381-7.
- 78. Cr B.** Aspects Recents Du Rétinoblastome En Côte D'ivoire. *Evaluation De 83 Cas Au Chu De Treichville .*2018 ;2 :32-42
- 79. Encyclopédie Orphanet Du Handicap.** *Retinoblastome_Fr_fr_HAN_ORPHA7.pdf* | novembre 2016.790:1.
- 80. Jain M, Rojanaporn D, Chawla B, Sundar G, Gopal L, Khetan V.** Retinoblastoma in Asia. 2019;33(1):87-96.
- 81. Khandekar R, Ganesh A, Lawati Ja.** A 12-year epidemiological review of retinoblastoma in Omani children. *Ophthalmic Epidemiol.* 2004;11(3):151-9.
- 82.Aerts I, Lumbroso-Le Rouic L, Gauthier-Villars M, Brisse Hj, Sastre-Garau X, Doz F.** *RB EMC - Pédiatrie* 2013 ; 8(4):1-9.
- 83. Rodriguez-Gallindo C, Wilson M W, Chantada G, Et Al.** Retinoblastoma : one world, one vision. *Pediatrics* 2008 ; 122(3) :763-70.
- 84. Bai S, Ren R, Li B, Et Al.** Delay in the diagnosis of retinoblastoma in China. *Acta Ophtalmol* 2011 ;89(1):72-4.
- 85. Department of Pediatrics;** s Medical Center Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran 1968653111, Iran, Koochakzadeh L, Hashemi H, Noor Research Center for Ophthalmic Epidemiology, Noor Eye Hospital, Tehran 1983963113, Iran, Pakzad R, Department of Epidemiology,

Faculty of Health, Ilam University of Medical Sciences, Ilam 6931851147, Iran, et al. Epidemiological aspect of retinoblastoma in the world. *Int J Ophthalmol.* 2023 ;16(6):962-8.

86. H. Toure. Traitements Conservateurs Du Rb Bilateral A L'unité D'oncologie Pédiatrique Du Chu-Gabriel Toure Et Au Service D'ophtalmo-Pédiatrie Du CHU-IOTA. Bamako, 2020 ;2:44.

87. Balmer A, Gailloud C. Retinoblastoma : Diagnosis and Treatment. In: Straub W. Developments in Ophthalmology. S. Karger AG .2023 ;1982(7):36-100. <https://doi.org/10.1159/000407310>

88. Fatoumata Sow : prise en charge du RB unilateral intra oculaire a l'unité oncologie pédiatrique du CHU Gabriel Toure de Bamako.2015 ;1256:32.

89. Sidibe H. : Etude des aspects épidémiocliniques du RB dans le service de pédiatrie du CHU Gabriel Touré. Bamako, 2009 ;520 :65.

90. Balmer .A, Munier .F : Retinoblastome. In : Zografos L, editor .Tumeurs intraoculaires.2002; (564):485-495.

91. Abramson DH, Beaverson K, Sangani P, Vora RA, Lee TC Et Al. Screening for Retinoblastoma : Presenting Signs as Prognosticators of Patient and Ocular Survival. *Pediatrics.* 2003;112(6) :1248-1255.

92. Butros LJ, Abramson DH, Dunkel IJ. Delayed Diagnosis of Retinoblastoma: Analysis of Degree, Cause, and Potential Consequences. *Pediatrics* 2002 ; 109:1- 5. Doi: 10.1542 /peds. 109.3.e45.

93. Faranoush M, Hedayati AA, Tashvighi M et al. Conséquences du retard de diagnostic ou de traitement du RB. *J Pediatr Iran.*2014 ; 24(4): 381-386.

94. Ramírez-Ortiz MA, Ponce-Castañeda MV, Cabrera-Muñoz ML. Diagnostic Delay and Sociodemographic Predictors of Stage at Diagnosis and Mortality in Unilateral and Bilateral Retinoblastoma. *Cancer Epidemiology Biomarkers Prev* 2014 23:784-792.

95. Palazzi MA, Stephan C, Brandalise SR and Dos Santos Aguiar S. Retinoblastoma Diagnosis: A Proposal Based on the Experience of Centro Infantil Boldrini. *Brazil Pediatric Hematology and Oncology.* 2013;30(5): 1–7,.

96. Dimaras H, Kimani K, Chan H.SL, Gallie B.L. Retinoblastoma. *The Lancet*, Vol, Issue 2012;379(9824):1436-1446.

97. Fernández C, Repetto K, Dalamon V, Bergonzi F, Ferreiro V, Szijan I. RB1 Germ-Line Deletions in Argentine Retinoblastoma Patients. *Mol Diagn Ther.* 2007 ;11(1):55-61.

98. Lohmann DR, Gallie BL. Retinoblastoma. In : Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, et al.1993-2023 ; ID de bibliotheque : NBK1452

99. Castéra L, Dehainault C, Michaux D, Lumbroso-Le Rouic L, Aerts I, Doz F, et al. *Eur J Hum Genet.* 2013 ;21(4) :460-4.

100. Mitter D, Ullmann R, Muradyan A, Klein-Hitpass L, Kanber D, Ounap K, Kaulisch M, Lohmann D. *Eur J Hum Genet.* 2011 ; 19 : 947-58.

101. M.BeckPopovic A.Balmer F.Munier. Le rétinoblastome. 2006 ; 2 :350-6.

102. Baud O, Cormier-Dairev, Lyonnet S, Et Al.Dysmorphic phenotype and neurological impairment in 22 retinoblastoma patients with constitutional cytogenetic 13q deletion. Clin Genet 1999 ;55 :478-82.

103. Privitera F, Calonaci A, Doddato G, Papa FT, Baldassarri M, Pinto AM, et al. 13q Deletion Syndrome Involving RB. Genes. 26 août 2021 ;12(9):1318.

104.Bojinova RI, Schorderet DF,Addor MC, Et Al. Further delineation of the facial 13q14 deletion syndrome in 13 retinoblastoma patients. Ophthalmic Genet. 2001 ;22 :11-8.

ANNEXE 1 :

1. Titre : Protocole standard de mise en culture cellulaire de cellules sanguines cancéreuses

2. Objectifs et domaine d'application :

Ce protocole a essentiellement pour but de permettre à toute personne de comprendre et de réaliser facilement et sans intervention d'une tierce personne, la mise en culture dans notre laboratoire. Ce protocole s'applique seulement pour la mise en culture de cellules sanguines non cancéreuses et s'adresse aux personnes ayant eu un minimum de requis en Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL) pour travailler dans le laboratoire.

3. Principe :

La culture cellulaire est un ensemble de procédures permettant aux cellules de croître hors de leur environnement naturel. Cela nécessite la présence dans le nouveau milieu des conditions de température (37°C) et de Ph (7,4) optimales, des substances nutritives nécessaires à la multiplication et à la croissance des cellules (les ions minéraux, les acides aminés, le glucose, le sérum de veau foetal...), mais aussi des antibiotiques (pénicilline G, streptomycine, amphotéricine B) pour limiter la contamination et la mort accélérée des cellules.

4. Responsabilité :

Il incombe au responsable du laboratoire d'assurer la formation du personnel qui exécutera cette procédure. Il incombe au personnel de laboratoire qui utilise cette procédure de lire, de comprendre, de recevoir une formation et de convenir de suivre la procédure décrite dans ce protocole.

5. Définitions et abréviations :

Marrow Max ou Bone Marrow Medium : milieu de culture à utiliser (se référer au protocole de préparation de Marrow Max)

Flasque : falcon multi flaque

T15 : tube de 15 millilitres T50 : tube de 50 millilitres

VIDE : éthanol diluée à 10%, soit à 50%

ml: millilitre

µl: microlitre

6. Exigences relatives aux échantillons :

Au moins 3ml de sang périphérique dans un tube hépariné à température pièce pendant sans dépasser un délai de 24 heures avant la mise en culture.

7. Contrôle de qualité : ?

8. Réactifs et produits chimiques :

Produit	Emplacement	Condition de stockage
Bromure	Sur la paillasse qui fait face à la porte	Endroit frais et sec loin des oxydant
Colcémide	Dans réfrigérateur (3eme étage)	Entre 2 et 8°C
KCl	Sur la paillasse qui fait face à la porte	25°C
Méthanol	Sur la Paillasse a cote du réfrigérateur	25°C
Acide Acétique Glacial	Sur la Paillasse a cote du réfrigérateur	25°C

9. Instruments and équipements :

Matériels	Emplacements
Flasques (Flacons de cultures)	Dans le carton sous la paillasse qui fait face à la porte
Pipettes pasteur	Dans le carton sous la paillasse qui fait face à la porte
Pipettes (P1000ml)	A côté de la hotte à droite
Embouts de 1000ml	A côté de la hotte à droite
Étuve	Sur la paillasse de droite
Hotte	Sur la paillasse de gauche
Vide	A préparer et le mettre dans la hotte

10. Procédure :

Étape 1 : s'assurer que les échantillons sont identifiés, sinon les identifier et les enregistrer dans la base des données.

Étape 2 : s'assurer que la hotte est propre, sinon laver la hotte comme indiqué dans la procédure de lavage de la hotte préétablit.

Étape 3 : mettez le Marrow Max dans l'étuve à 37°C pendant 1 heure et puis passe au step4 avant le délai.

NB : la quantité de tube choisit dépend du nombre d'échantillon à mettre en culture (chaque échantillon pour 5ml de Marrow Max).

Étape 4 : mettez seulement les matériels nécessaires dans la hotte, à savoir : le nombre de pipettes pasteur qu'il faut, le paquet d'embouts de 1000ml, la pipette de 1000ml, le vide, les flasques identifiés ; qui sont préalablement nettoyés à l'éthanol 70%.

NB : Pour chaque échantillon une pipette pasteur.

Étape 5 : après le délai de 1 heure écoulé, enlevez le Marrow Max dans l'étuve et le mettez dans la hotte.

Étape 6 : mettez 5ml de Marrow Max dans le flasque ensuite ajoutez 500 µl dans moelle ou de sang périphérique dans le flasque sur le milieu de culture.

Étape 7 : homogénéisez doucement le mélange dans le flasque de façon horizontale, puis desserrez un peu la fermeture du flasque et mettez-le dans l'étuve 24 heures, et passez chaque jour pour l'homogénéiser si possible 12 à 18 heures après la mise en culture.

NB : le Flasque doit être légèrement incliné dans l'incubateur.

11. Sécurité et précautions :

Porter une blouse blanche à manche longue, des gants et aussi des lunettes et une bavette lors de la manipulation du sang et du milieu de culture.

12. Documents reliés :

Protocole standard de préparation du RPMI.

Protocole de Lavage de la Hotte

13. Références :

14. Historique de la révision : Création du document

FICHE SIGNALITIQUE :

Nom : COULIBALY

Prénom : SEYDOU

Email : sc651759@gmail.com

Tel : +223 92546301

Titre : Rétinoblastome : Description clinique et cytogénomique par la technique d'hybridation fluorescente *in situ* (FISH) au CHU Gabriel Touré (à propos de 5 cas)

Année universitaire : 2022 -2023

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine et d'odontostomatologie (FMOS), Faculté de la Pharmacie (FAPH).

Secteur d'intérêt : Génétique, Cytogénomique, Oncogénétique, Hématologie, Oncologie, recherche scientifique.

Résumé :

Cette étude de diagnostic de rétinoblastome par la technique FISH concerne les patients présentant du rétinoblastome suivis pour chimiothérapie à l'unité oncologie du CHU Gabriel Touré, prélevés pour exploration cytogénomique au service de neurosciences du CHU du Point G du 16 Mai 2022 au 16 Juin 2023.

Elle s'était déroulée en deux phases : une première phase technique et une seconde phase d'évaluation microscopique.

Nous avons appliqué la technique FISH pour diagnostic cytogénomique sur les cinq patients.

Parmi les 05 patients enrôlés dans l'étude, 100% des patients avaient des métaphases et ainsi que des signaux de leur noyaux interphasiques. Nous n'avons pas eu de délétions au niveau du locus du gène *RBI*.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être Suprême d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail, je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses !

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !

Je le jure !