



ROYAUME DU MAROC
Université Mohammed V – Rabat
Faculté de Médecine et de Pharmacie
RABAT



Année : 2022

N° : MS159/22

Mémoire de fin d'étude

Pour l'obtention du diplôme national de spécialité en

« **Analyses Biologiques Médicales** »

Intitulé

**EXTENSION MÉDULLAIRE DANS LE NEUROBLASTOME
A PROPOS DE 57 CAS**

Présenté par :

Dr. SEKKAL Imane

Sous la direction de :

Professeur AZLARAB MASRAR

Professeur d'Hématologie Biologique

Laboratoire Central d'Hématologie CHU Rabat

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN :	Acide désoxyribonucléique
ALK :	Anaplastic Lymphoma Kinase
ARN :	Acide ribonucléique
BOM :	Biopsie ostéo-médullaire
CD :	Cluster de Différenciation
CHU :	Centre Hospitalier Universitaire
CgA :	Chromagranine A
CLHP :	Chromatographie Liquide à Haute Performance
COG :	Children's Oncology Group
EDTA :	Éthylène Diamine Tétra-Acétique
FH :	Favorable Histology
FISH :	Fluorescent In Situ Hybridization
GD2 :	DisialoGanglioside de type 2
GN :	Ganglioneurome
GNB :	Ganglioneuroblastome
HES:	Hematoxylin-Eosin-Saffron
HVA:	Homovanillic Acid
IHC:	Immunohistochimie
INPC :	International Neuroblastoma Pathology Classification System
INRG :	International Neuroblastoma Risk Group
INRGSS :	International Neuroblastoma Risk Group Staging System
INSS :	International Neuroblastoma Staging System

IRM :	Imagerie par Résonance Magnétique
LDH :	Lactate déshydrogénase
MGG :	May-Grünwald-Giemsa
MIBG :	Metaiodobenzylguanidine
MKI :	Mitosis karyorrhexis index
MO :	Moelle osseuse
MRD :	Minimal Residual Disease
NB :	Neuroblastome
NCAM :	Neural Cell Adhesion Molecule
NSE :	Neurone-Spécifique-Enolase
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
PCR:	Polymerase Chain Reaction
PHOX2B :	Paired-like Homeobox 2b
PGO :	Protein Gene Product
PKC :	Protéine kinase C
RT-PCR :	Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction
SNP :	Single Nucleotide Polymorphism
TDM :	Tomodensitométrie
TH :	Tyrosine Hydroxylase
UH :	Unfavorable Histology
VEGF :	Vascular Endothelial Growth Factor
VIP:	Vasoactive Intestinal Peptide
VMA:	Vanillylmandelic acid

LISTE DES FIGURES :

Figure 1 : Répartition en fonction de l'âge.	6
Figure 2 : Répartition en fonction du sexe.	7
Figure 3: Différentes localisations de la tumeur primitive.....	8
Figure 4: Aspect histologique des tumeurs.	9
Figure 5: Extension médullaire des neuroblastomes.....	10
Figure 6: Aspect cytologique des métastases médullaires.	11
Figure 7: Origine du développement du neuroblastome.	15
Figure 8: Modèle de susceptibilité génétique au neuroblastome.	17
Figure 9: Localisations possibles d'un neuroblastome primitif (points rouges).....	19
Figure 10: Principales présentations cliniques du neuroblastome.	21
Figure 11: Catabolisme des catécholamines.	22
Figure 12: Image de scintigraphie au MIBG chez un enfant ayant un NB métastatique.....	24
Figure 13: Implication de l'oncogène MYCN dans l'agressivité de la tumeur.	26
Figure 14: Amplification de l'oncogène MYCN par technique FISH.	27
Figure 15: Illustration de la classification INSS.	30
Figure 16: Classification histologique des tumeurs neuroblastiques.	32
Figure 17 : Pronostic des patients en fonction de la classification INPC.	33
Figure 18: Stratégie actuelle et standard du traitement des neuroblastomes à haut risque.	38
Figure 19: Aspiration et biopsie médullaires.	41
Figure 20: Frottis médullaires montrant l'envahissement de la moelle par les cellules tumorales d'un neuroblastome. A : Amas de neuroblaste x400. B : Aspect en rosettes x1000.....	42

Figure 21: Caractéristiques cytomorphologiques de la différenciation.	43
Figure 22: Coupe colorée par HES (A) d'un patient atteint du neuroblastome, avec des grappes de cellules tumorales métastatiques mises en évidence par la PGP9.5 (B), la synaptophysine (C) et la tyrosine hydroxylase (D) x100.....	45
Figure 23: Recommandations consensuelles pour l'évaluation de l'extension médullaire.	47
Figure 24 : Fréquence des métastases médullaires dans différentes régions.....	52

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau 1: Caractéristiques cliniques et histologiques des patients en fonction de la présence ou de l'absence de métastases médullaires. MO : Moelle osseuse. NB : Neuroblastome.	11
Tableau 2: Principales anomalies chromosomiques récurrentes observées dans les neuroblastomes.....	28
Tableau 3: Stade d'extension des neuroblastomes selon l'INSS.	29
Tableau 4: Description des quatre stades du neuroblastome définis par l'INGR.	31
Tableau 5: Classification du risque pronostique des neuroblastomes d'après le COG.....	34
Tableau 6: Classification pré-thérapeutique d'après le INRG.	35
Tableau 7: Réponse tumorale selon l'INRC (International Neuroblastoma Response Criteria.	39
Tableau 8: Fréquence du neuroblastome dans certains pays.....	48
Tableau 9 : Données démographiques dans différents pays.	50
Tableau 10: Fréquence des localisations primitives du neuroblastome selon les séries.	50
Tableau 11: Aspects histologiques du neuroblastome selon différentes études.....	51

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
MATÉRIELS ET MÉTHODES	3
1. Type et lieu du travail :	4
2. Collecte des données :	4
3. Étude cytologique :	4
4. Exploitation des données :	4
RÉSULTATS	5
1. Données épidémiologiques :	6
1.1. Fréquence :.....	6
1.2. Répartition en fonction de l'âge :.....	6
1.3. Répartition en fonction du sexe :	7
2. Données cliniques :	8
3. Données histologiques :	9
4. Données cytologiques :	10
DISCUSSION ET REVUE DE LA LITTÉRATURE	12
I. REVUE DE LA LITTÉRATURE	13
A.Le neuroblastome	13
1. Définition :	13
2. Épidémiologie :	13
3. Étiologie :	14
4. Diagnostic clinique :	17

4.1. Symptômes liés à la tumeur primitive :	18
5. Diagnostic positif :	21
5.1. Imagerie :	21
5.2. Marqueurs biologiques :	22
5.2.1. Les catécholamines :	22
5.2.2. Lactates déshydrogénases :	23
5.2.3. Vasoactive Intestinal Polypeptide :	23
5.3. Étude histologique :	23
6. Bilan d'extension :	23
6.1. Imagerie :	23
6.2. Biologie :	25
7. Marqueurs moléculaire et génétiques :	25
7.1. Amplification de l'oncogène MYCN :	25
7.2. Autres anomalies :	27
7.3. Détermination de la ploïdie tumorale :	28
8. Classifications :	28
8.1. Classification INSS :	28
8.2. Classification INRG :	30
8.3. Classification INPC :	31
9. Pronostic :	33
10. Prise en charge thérapeutique :	36
10.1. Neuroblastome de risques faible et intermédiaire :	37
10.2. Neuroblastome de haut risque :	37

10.3. Évaluation de la réponse au traitement :	38
II. Évaluation de l'extension médullaire des neuroblastomes :	40
1. Intérêt :	40
2. Prélèvements :	40
3. Méthodes d'analyse :	41
3.1. Étude cytologique :	41
3.2. RT-PCR :	45
3.3. Cytométrie en flux :	46
III. DISCUSSION DE NOS RÉSULTATS :	48
1. Discussion des données épidémiologiques :	48
2. Discussion des données cliniques :	50
3. Discussion des données histologiques :	51
4. Discussion des données cytologiques :	51
CONCLUSION.....	53
RÉSUMÉS.....	53
RÉFÉRENCES.....	53

INTRODUCTION

Introduction :

Le neuroblastome ou sympathoblastome est une tumeur maligne embryonnaire dérivée des cellules de la crête neurale, au cours de leur différenciation le long de la lignée sympatho-surrénale [1.2].

C'est la tumeur solide extra-crânienne la plus fréquente chez l'enfant, représentant 8 à 10% de l'ensemble des cancers pédiatriques, et la tumeur la plus commune au cours de la première année de vie [3.4]. Les tumeurs se développent dans les tissus du système nerveux sympathique, généralement dans la médullosurrénale ou les ganglions paraspinaux, justifiant ainsi leur présentation clinique très variable allant d'une masse asymptomatique à une forme grave en raison d'une invasion locale, d'une maladie largement disséminée, ou des deux [5].

L'évolution à long terme du neuroblastome se caractérise par une hétérogénéité sans précédent dans le domaine de l'oncologie. Elle dépend essentiellement de l'âge de l'enfant au moment du diagnostic, de l'extension tumorale et de l'existence d'une amplification du gène MYCN [6]. Cette évolution est considérablement améliorée grâce aux progrès de la médecine dans le diagnostic et la prise en charge thérapeutique. Cependant, environ 60 % des cas sont diagnostiqués tardivement conférant un pronostic défavorable [7].

La mise en évidence de métastases à distance, préférentiellement au niveau des os et de la moelle osseuse, est un critère pronostique et thérapeutique majeur. Leur recherche doit s'effectuer systématiquement lors du diagnostic, en cas de rechutes et lors du suivi du traitement [8.9].

La détection d'une infiltration médullaire est basée sur de nombreuses techniques mises à notre disposition, notamment les méthodes cytologiques. Néanmoins, cette étape incontournable à la stratification de la maladie peut s'avérer parfois très compliquée [10].

L'objectif de notre travail est de décrire les aspects épidémiologiques, cliniques et histologiques du neuroblastome et de déterminer le taux de l'envahissement neuroblastique de la moelle osseuse.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Type et lieu du travail :

Nous avons mené une étude rétrospective descriptive sur une période de 2 ans, allant du Janvier 2020 au Décembre 2021. Elle intéresse 57 cas du neuroblastome répertoriés et pris en charge à l'hôpital d'enfants de Rabat et diagnostiqués, dans le cadre d'un bilan d'extension, au Laboratoire Central d'Hématologie du Centre Hospitalier Universitaire Ibn Sina de Rabat.

2. Collecte des données :

Au cours de la période d'étude, nous avons colligé tous les dossiers de moelle des enfants ayant un neuroblastome. Les données cliniques, histologiques et cytologiques ont été recueillies à partir :

- Des comptes-rendus des myélogrammes du Laboratoire Central d'Hématologie au CHU Ibn Sina de Rabat.
- Des fiches adressées avec les prélèvements.
- Des comptes-rendus histopathologiques du service d'anatomie pathologique au CHU Ibn Sina de Rabat.

3. Étude cytologique :

Les prélèvements correspondent à des aspirations de moelle osseuse, réalisés au niveau des deux crêtes iliaques droite et gauche chez un enfant sous anesthésie générale et reçus sous forme de frottis étalés sur lame de verre. Les cellules médullaires, ainsi fixées, seront colorées au MGG et observées au microscope optique à l'objectif 10 puis 100.

4. Exploitation des données :

L'ensemble des données ont été enregistrées sur le logiciel Microsoft Word (2016) et exploitées sur le logiciel Excel (2016).

RÉSULTATS

1. Données épidémiologiques :

1.1. Fréquence :

Pendant la période d'étude, 1036 myélogrammes ont été adressés à notre laboratoire, dont 57 ont été réalisés dans le cadre du bilan d'extension d'un neuroblastome, ce qui correspond à une fréquence de 5.5 %.

1.2. Répartition en fonction de l'âge :

L'âge moyen des enfants était de 37 mois avec des extrêmes allant de 0 à 14 ans. 82% des patients avaient un âge supérieur à 18 mois au moment du diagnostic.

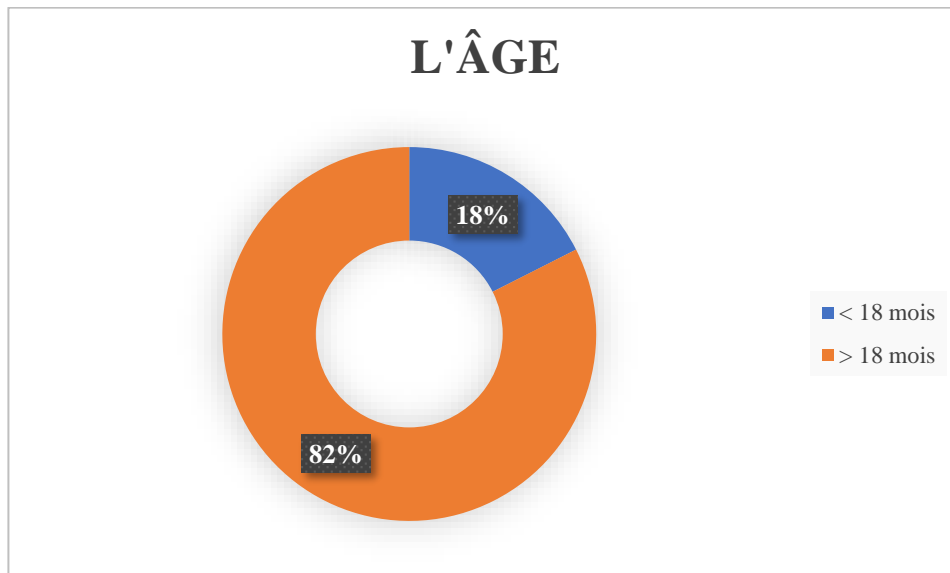


Figure 1 : Répartition en fonction de l'âge.

1.3. Répartition en fonction du sexe :

Le sexe ratio (H/F) était de 3.07. La prédominance était masculine avec 43 cas (75%) contre 14 cas du sexe féminin (25%) (Figure 2).

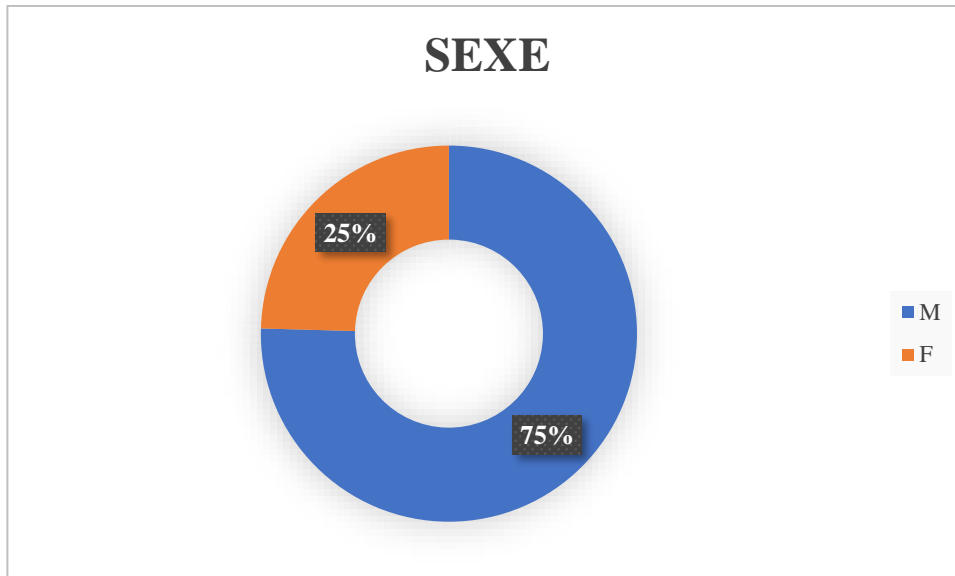


Figure 2 : Répartition en fonction du sexe.

2. Données cliniques :

Les localisations primitives abdominales étaient les plus fréquentes (n= 43 soit 76%) dominées par la tumeur surrénalienne (n= 25 soit 44%), suivies des localisations thoracique et pelvienne, 9% et 7% respectivement puis de la localisation cervicale (n=3 soit 5 %). Le neuroblastome médian était retrouvé chez 2 patients (3%) (figure 3).

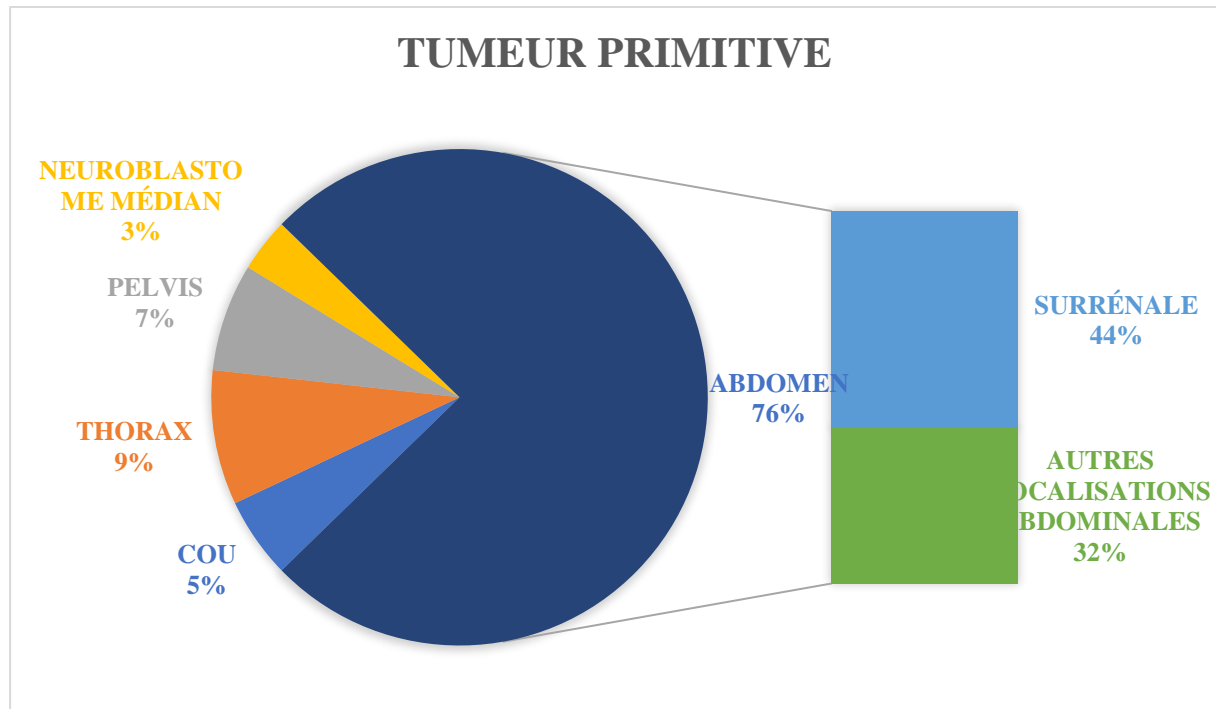


Figure 3: Différentes localisations de la tumeur primitive.

3. Données histologiques :

L'étude histologique de la tumeur était réalisée chez tous les patients. L'aspect histologique le plus observé était celui du neuroblastome peu différencié (n=35 soit 61%), suivi du neuroblastome indifférencié (n=18 soit 32%). Quatre patients (n= 4 soit 7%) avaient un neuroblastome différenciant. L'index mitotique (MKI) n'était pas établi chez tous nos patients rendant impossible l'établissement d'un histopronostic.

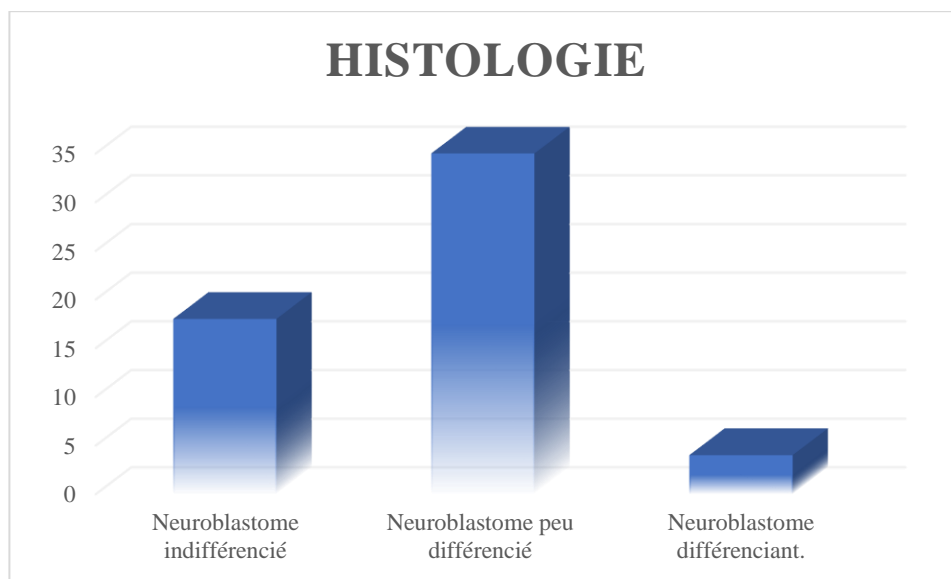


Figure 4: Aspect histologique des tumeurs.

La biopsie ostéo-médullaire n'était effectuée que chez 6 patients.

4. Données cytologiques :

Au cours de la période d'étude, le laboratoire central d'hématologie a reçu 57 cas du neuroblastome, parmi lesquels 24 cas avaient un envahissement de la moelle osseuse, soit 42 % des cas (figure 5). Les métastases médullaires étaient détectées lors du bilan initial de la maladie dans 19 cas (19/24 : 79%). 5 cas (5/24 : 21%) ont développé une atteinte médullaire au cours de l'évolution de leur tumeur neuroblastique.

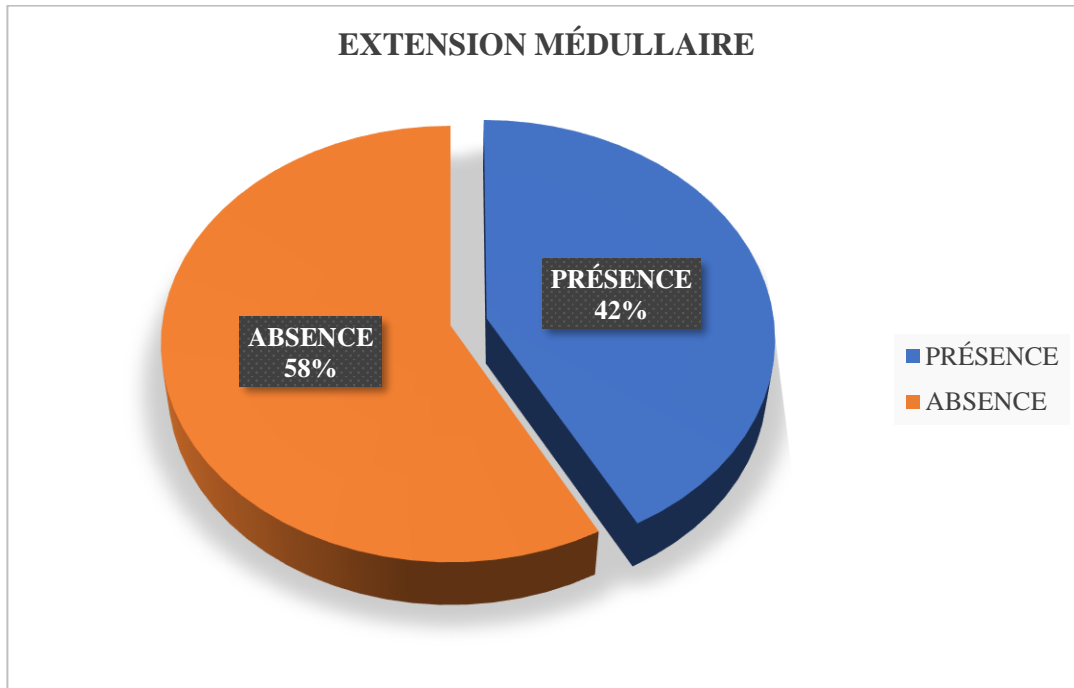


Figure 5: Extension médullaire des neuroblastomes.

Les cellules métastatiques envahissant la moelle osseuse possèdent des caractéristiques morphologiques distinctes des cellules hématopoïétiques normales. Il s'agit de cellules de taille moyenne rondes indifférenciées, au noyau dense hyperchromatique et au cytoplasme basophile (figure 6).

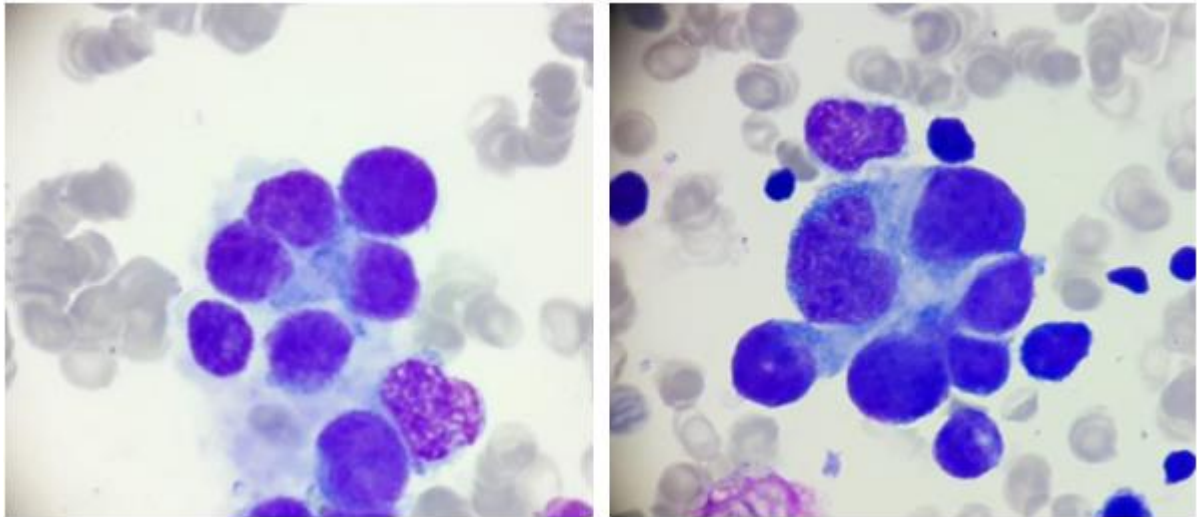


Figure 6: Aspect cytologique des métastases médullaires.

Tableau 1: Caractéristiques cliniques et histologiques des patients en fonction de la présence ou de l'absence de métastases médullaires. MO : Moelle osseuse. NB : Neuroblastome.

Caractéristiques des patients		Groupe MO+	Groupe MO-	Tous confondus
Age <18 mois		-	10	10
Age >18 mois		24	23	47
Age moyen (mois)		40	34	37
Tumeur primitive	Abdomen	18	25	43
	Thorax	3	2	5
	Pelvis	1	3	4
	Cou	2	1	3
	Neuroblastome médian	-	2	2
Chronologie des métastases médullaires	Bilan initial	19	-	24
	Évolution	5		
Histologie	NB peu différencié	17	18	35
	NB Indifférencié	6	12	18
	NB Différenciant	1	3	4

DISCUSSION ET REVUE DE LA LITTÉRATURE

I. REVUE DE LA LITTÉRATURE

A. Le neuroblastome

1. Définition :

Le terme neuroblastome, introduit pour la première fois en 1910 par le Dr. Wright, désigne l'ensemble des tumeurs neuroblastiques authentiquement malignes [11]. Ces tumeurs sont issues des cellules primitives du système nerveux sympathique. Elles constituent, en fonction de leur degré de différenciation et de leur éventuel contingent stromal ou schwannien, un vaste spectre de tumeurs, allant du neuroblastome indifférencié jusqu'au ganglio-neuroblastomes [12]. Le neuroblastome est le plus souvent localisé dans l'abdomen en arrière du péritoine, mais également au niveau du cou, du thorax et du pelvis. Il est caractérisé par des comportements cliniques divers mettant souvent en jeu le pronostic vital de l'enfant [13]. En outre, il possède un pouvoir métastatique notable avec une affinité particulière pour la moelle osseuse [12].

2. Épidémiologie :

Selon les critères de l'OMS, le neuroblastome est considéré comme une maladie rare, c'est-à-dire sa prévalence est inférieure à 5/10 000 habitants. Cependant, il est au premier rang des tumeurs solides extra-crâniennes de l'enfant les plus fréquentes. Il correspond environ à 8-10 % des tumeurs malignes pédiatriques et à 15% des décès par cancers chez l'enfant de moins de 15 ans [14].

C'est la tumeur maligne du nourrisson la plus commune : un tiers des cas sont diagnostiqués avant l'âge de 1 an et avant 10 ans, pour 96% d'entre eux. Ainsi l'âge médian du diagnostic du neuroblastome est de 22 mois avec un sexe ratio proche de 1. La survenue de cas pendant l'adolescence ou chez l'adulte est plus rarement observée et présente un pronostic très défavorable [15.16].

Il existe des formes anténatales dont l'incidence a augmenté avec la réalisation des échographies obstétricales. Ces tumeurs sont le plus souvent d'aspect kystiques et leur diagnostic s'effectue principalement entre la 18^{ème} et la 32^{ème} semaine de gestation [17].

La prévalence du neuroblastome la plus élevée est observée en Israël avec 15,1 cas pour un million d'habitants suivi par l'Europe de l'ouest et le Japon, avec respectivement 12,0 et 11,5 cas par un million d'habitants [18.19]. Elle est beaucoup plus faible en Afrique et en Amérique centrale et du Sud [19.20]. Au Maroc, le neuroblastome représente la quatrième tumeur de l'enfant après les leucémies, les lymphomes et les néphroblastomes [21].

Le potentiel évolutif et le pronostic de la maladie dépendent essentiellement de l'âge de l'enfant au moment du diagnostic (+ ou – de 18 mois), plus l'enfant est jeune, meilleur est le pronostic, mais également de l'extension tumorale. Près de 60% des cas sont d'emblés métastatiques, généralement dans la moelle osseuse (70,5 %) ou l'os (55,7 %) [1.2]. L'atteinte médullaire aboutit à une mauvaise réponse au traitement et à une diminution du taux de survie à 5 ans de 80% à 30% approximativement [22].

Une tentative de dépistage, par dosage des catécholamines dans les urines, a été expérimentée dans plusieurs pays comme le Japon et l'Allemagne ; montrant une sous-estimation de la prévalence particulièrement des formes à régression spontanée ou à pronostic favorable, sans influencer l'incidence des formes disséminées ni la mortalité. Ce dépistage est donc abandonné [23.24].

3. Étiologie :

Le neuroblastome fait partie des neurocristopathies simples, c'est-à-dire il résulte d'une anomalie de développement de la crête neurale ou de ses dérivés. Les cellules de la crête neurale sont des cellules souches pluripotentes qui peuvent soit rester indifférenciées, ce sont alors des neuroblastes, soit se différencier pour former les tissus du système nerveux sympathique. La tumeur va se développer, de ce fait, au niveau des chaînes ganglionnaires du système nerveux sympathique et dans la médullosurrénale [25].

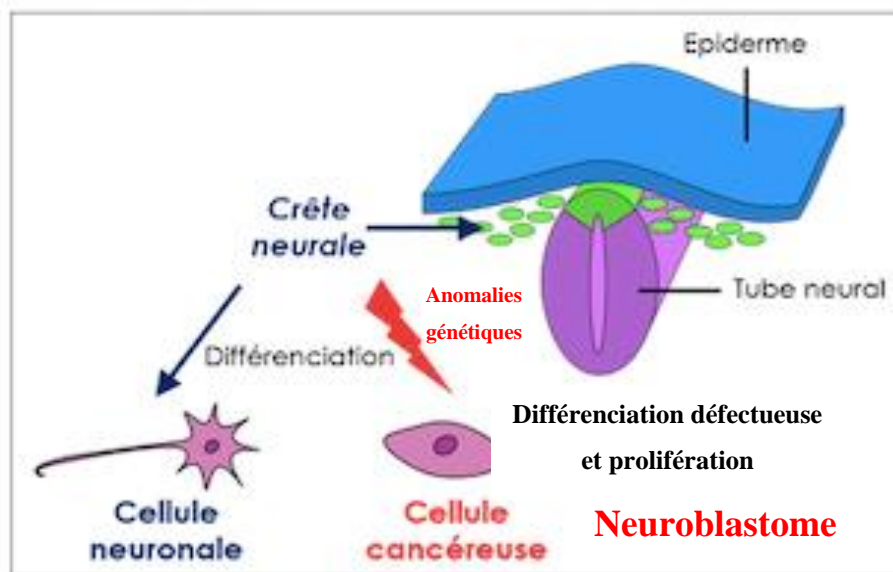


Figure 7: Origine du développement du neuroblastome.

L'étiologie du neuroblastome est mal élucidée. De nombreuses études ont essayé de mettre en lumière les facteurs de risque favorisant la survenue de la maladie tels que les virus (comme le cytomégalovirus), les agents chimiques (comme les pesticides), les drogues (comme le cannabis) et les médicaments (hormones sexuelles, diurétiques...) sans permettre aujourd'hui de prouver un lien formel de causalité [26].

Il existe des comorbidités du système nerveux autonome pouvant prédisposer à la survenue de neuroblastome comme la neurofibromatose de type 1, la maladie de Hirschsprung, le syndrome de Wiedemann-Beckwith, la maladie de Recklinghausen, et le syndrome d'Ondine [26].

Dans la majorité des cas, le neuroblastome est une maladie sporadique. Les neuroblastomes familiaux représentent seulement 1 à 2% des cas diagnostiqués. La transmission familiale se fait selon un mode autosomique dominant avec une pénétrance incomplète. Les formes familiales diffèrent des formes sporadiques par le fait que leur diagnostic est plus précoce et qu'elles sont fréquemment découvertes à un stade déjà métastatique [27].

Deux gènes de prédispositions ont été identifiés : ALK (anaplastic lymphoma kinase) et PHOX2B (Paired-like Homeobox 2b). Ils sont impliqués dans 80% des neuroblastomes héréditaires. Pour le gène ALK, situé en 2p23, il s'agit de substitutions d'une seule base dans

des régions clés du domaine de la kinase entraînant une activation constitutive de l'activité tyrosine kinase, menant à une dérégulation de la signalisation cellulaire et à la prolifération incontrôlée des neuroblastes ALK-mutants. Ces mutations sont acquises également dans 5 à 15% des neuroblastomes sporadiques. Le gène PHOX2B, localisé en 4p12, code pour un facteur de transcription essentiel au développement du système nerveux autonome périphérique, sa mutation correspond à une perte de fonction [28.29].

Il faut noter que la pénétrance des altérations génétiques citées précédemment est incomplète dans les histoires familiales de neuroblastome, même si la quasi-totalité des cas familiaux peut être corrélée à des mutations de ALK ou PHOX2B. Dans les cas de neuroblastomes sporadiques, ces altérations ne sont retrouvées que peu fréquemment [29]. Il semble donc que la transformation maligne provient probablement de l'interactivité des différentes anomalies génétiques. D'après certaines études, des variations de type SNP dans les gènes FLJ22536, BARD-1 et NBPF23 sont découverts comme étant des gènes de susceptibilité au neuroblastome. Ces études suggèrent, également, que la susceptibilité au neuroblastome est régie par l'apparition d'altérations génétiques associée à l'exposition à des agents environnementaux [31.32].

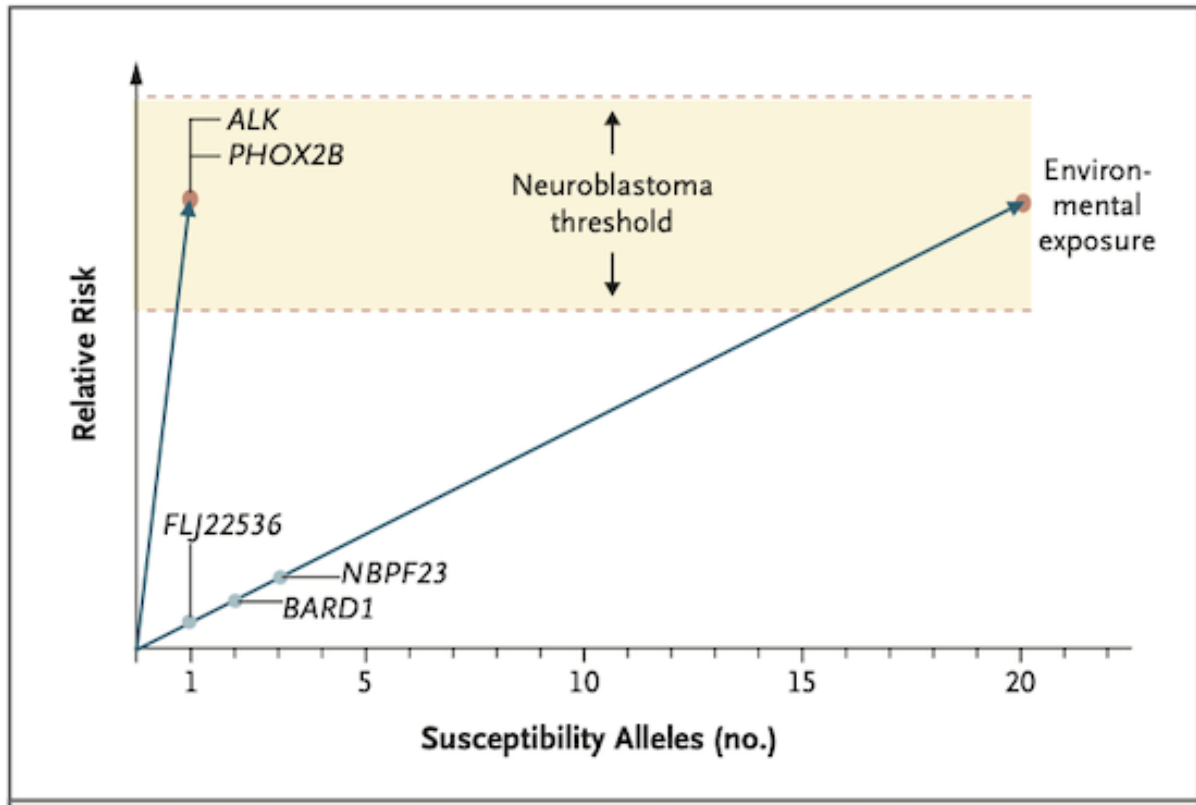


Figure 8: Modèle de susceptibilité génétique au neuroblastome.

4. Diagnostic clinique :

Le neuroblastome est une maladie difficile à diagnostiquer et nécessite le recours aux examens complémentaires. Les signes d'appel sont aspécifiques et varient en fonction de la localisation et de la taille de la tumeur primitive, mais aussi de la présence de métastases. La présence d'une masse abdominale est le signe le plus couramment décrit [7.13].

4.1. Symptômes liés à la tumeur primitive :

Le neuroblastome est localisé dans environ 40% des cas. La tumeur peut siéger n'importe où dans le tronc, le long de la chaîne nerveuse sympathique [1.2].

Dans 70% des cas, la tumeur se développe au niveau de l'abdomen, dans l'espace rétropéritonéal avec une localisation prépondérante au niveau de la médullosurrénale. Les signes cliniques révélateurs sont en général des douleurs abdominales avec parfois des signes de compression digestive et vasculaire. Une hypertension artérielle peut témoigner de la compression d'une artère rénale ou de la sécrétion exagérée de catécholamines par la glande surrénale [33].

Les localisations thoraciques, 20% des cas, sont souvent découvertes fortuitement sur une radiographie du thorax, ou bien en raison de signes respiratoires banals [34].

La tumeur primitive peut aussi être localisée au niveau du cou, 5% des cas, et se manifeste par une masse avec des signes de compression laryngo-pharyngée, ou par un syndrome de Claude Bernard-Horner [33].

Au niveau du pelvis, 2% des cas, la tumeur peut être à l'origine des troubles neurologiques à type de mono ou paraplégie, des troubles sphinctériens ou des douleurs neuropathiques des membres inférieurs [35].

Certains neuroblastomes, dits en sablier, sont des tumeurs paravertébrales qui possèdent un développement intrarachidien et peuvent entraîner une compression de la moelle épinière provoquant des troubles de la marche et des troubles sphinctériens. Ils concernent le plus souvent, des enfants de moins de un an [36].

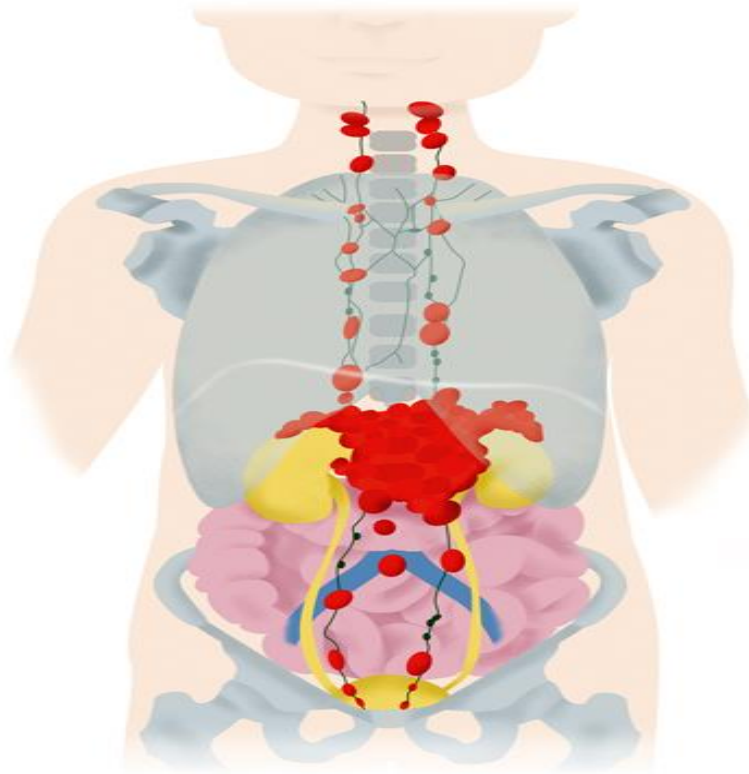


Figure 9: Localisations possibles d'un neuroblastome primitif (points rouges).

Très rarement, le neuroblastome est révélé par le syndrome de Kerner-Morisson qui se traduit par des diarrhées prolongées secondaires à la sécrétion du vasoactive intestinal peptide (VIP) par la tumeur [37].

1.1.Symptômes liés aux métastases :

Environ 60% des neuroblastomes sont d'emblée métastatiques. La proportion de ces formes cliniques augmente chez les enfants de plus de 18 mois. De nombreux sites peuvent être envahis et provoquer ainsi une multitude de signes cliniques qui sont souvent révélateurs de la maladie [1.2].

Les métastases se localisent majoritairement au niveau de la moelle osseuse et des os (80% des métastases). Il existe alors une franche altération de l'état général avec anémie, parfois pouvant aller jusqu'à un tableau de leucémie aiguë, très souvent associée à des douleurs osseuses localisées ou, plus fréquemment, diffuses voire des fractures pathologiques [38.39].

L'hépatomégalie est le signe clinique dominant pour certaines formes métastatiques du nourrisson et les adénopathies correspondent à des métastases ganglionnaires fréquemment décrits [40].

D'autres localisations inhabituelles, pulmonaire et cérébrale, peuvent être également observées, notamment chez les adolescents [41].

Le syndrome de Pepper est une entité spécifique du nourrisson avant l'âge de un an. Il s'agit d'une forme métastatique hépatique d'un neuroblastome, le plus souvent, d'origine surrénalienne pouvant être accompagnée de métastases cutanées et d'une atteinte médullaire mais sans atteinte osseuse [42].

Dans les stades très avancés, il peut y avoir un syndrome de Hutchinson caractérisé par des hématomes péri-orbitaires survenant spontanément et parfois accompagnés d'une exophtalmie. Il est dû à la présence de métastases osseuses orbitaires [1.7].

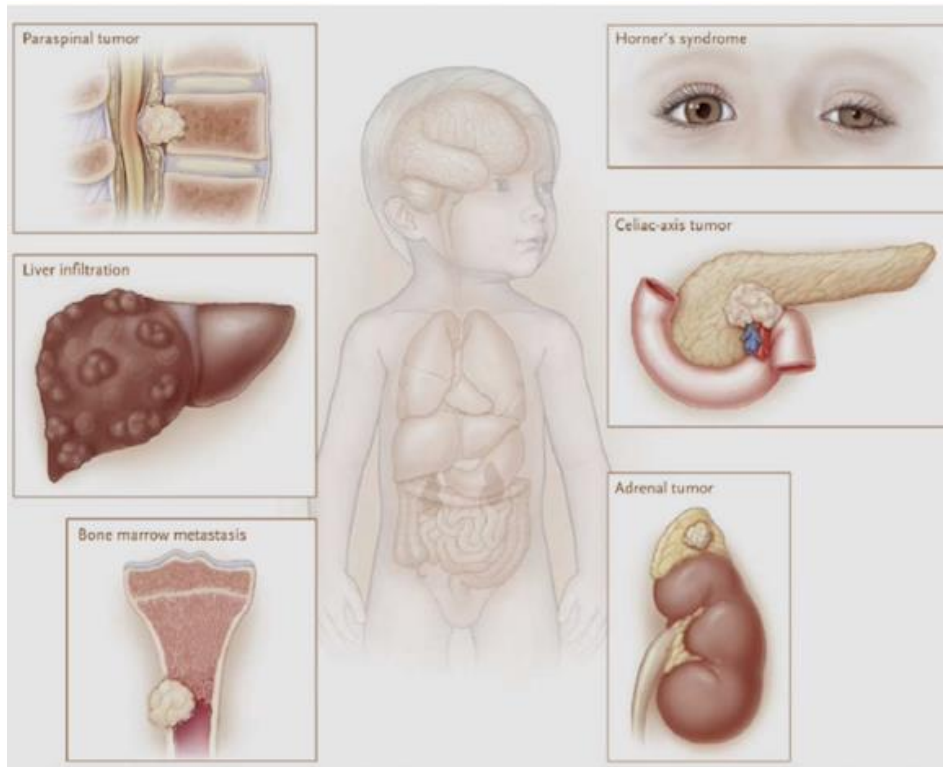


Figure 10: Principales présentations cliniques du neuroblastome.

5. Diagnostic positif :

Le diagnostic du neuroblastome doit être évoqué sur la convergence d'arguments cliniques, radiologiques et biologiques.

5.1. Imagerie :

Devant une masse abdominale ou pelvienne, l'échographie est toujours réalisée en première intention. Elle permet d'orienter le diagnostic et de guider une biopsie à l'aiguille fine [43].

La tomодensitométrie (TDM) est la méthode de choix pour les masses abdominales, pelviennes ou médiastinales. Elle précise la localisation de la tumeur et apprécie son extension loco-régionale et son caractère opérable [44].

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) est d'une grande valeur pour la mise en évidence d'un prolongement intra-rachidien des neuroblastomes en sablier. Elle vient aussi compléter, par une vision en trois dimensions, les images de la TDM [43].

5.2. Marqueurs biologiques :

5.2.1. Les catécholamines :

L'élévation des catécholamines urinaires et de leurs métabolites (HVA et VMA) est le seul marqueur spécifique du neuroblastome. Leur dosage, indispensable au diagnostic, se fait par la chromatographie liquide à haute performance (CLHP) et les valeurs doivent être rapportées à la créatinine urinaire. Le prélèvement doit être réalisé sur des urines de 24 heures et recueilli sur tube EDTA disodique à 10% [45].

Les catécholamines sont des substances du groupe amine, synthétisées par l'organisme à partir de la tyrosine et jouant le rôle de neurotransmetteurs.

L'acide homovanillique (HVA) provient de la dopamine tandis que l'acide vanylmandélique (VMA) provient de la noradrénaline et de l'adrénaline [45].

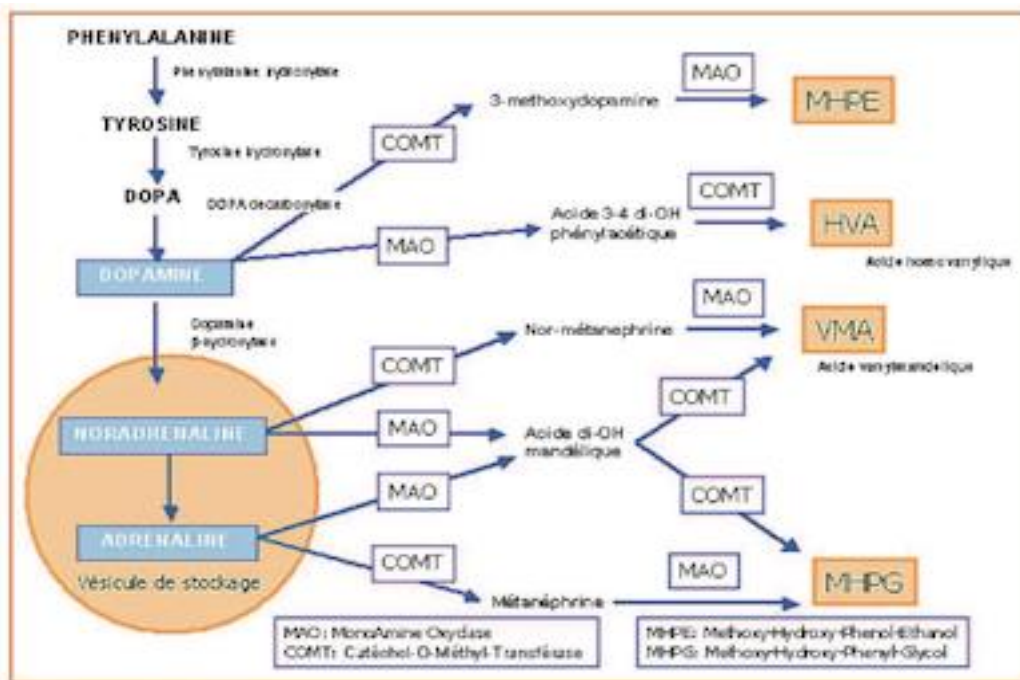


Figure 11: Catabolisme des catécholamines.

La voie du métabolisme de la dopamine est la voie la plus perturbée dans les neuroblastomes. Elle est synthétisée par le tissu tumoral puis transformée en intra-tumorale en noradrénaline et catabolisée in situ en VMA [46].

5.2.2. Lactates déshydrogénases :

Les Lactates déshydrogénases (LDH) sont des marqueurs de la lyse tumorale et de la nécrose spontanée des cellules. Leur élévation est observée dans plus de 75% des cas du neuroblastome et elle a une valeur pronostique dans les formes localisées [46].

5.2.3. Vasoactive Intestinal Polypeptide :

Le VIP (Vasoactive Intestinal Peptide) est une protéine responsable des troubles diarrhéiques sévères. Son augmentation, même non spécifique, peut être aussi un argument orientant vers le diagnostic du neuroblastome [37].

5.3. Étude histologique :

Le diagnostic du neuroblastome est confirmé par l'examen anatomo-pathologique qui met en évidence des cellules cancéreuses au niveau des prélèvements percutanés écho-guidés, des biopsies chirurgicales ou bien sur des pièces opératoires. L'analyse histologique entre également en compte dans la classification de la tumeur [47].

6. Bilan d'extension :

L'évaluation de l'extension tumorale est essentielle. Les métastases doivent être recherchées systématiquement et leur présence conditionne le pronostic.

6.1. Imagerie :

La TDM et l'IRM, comme sus citées, permettent d'apprécier l'extension locale et régionales de la tumeur et détecter ainsi des métastases ganglionnaires et hépatiques voire dans la moelle épinière [48].

La scintigraphie à la MIBG (méta-iodobenzylguanidine) diagnostique avec quasi-certitude la tumeur primitive et les métastases osseuses. Cet examen est à réaliser devant toute suspicion du neuroblastome et avant tout traitement. La scintigraphie au technétium^{99m} permet d'évaluer l'extension osseuse lorsque le neuroblastome n'est pas fixant en MIBG (environ 5% des cas). Les radiographies du squelette sont indiquées surtout chez l'enfant de moins de 1 an, afin de rechercher des métastases osseuses, mais aussi d'évaluer le risque de survenue d'une fracture

[49].

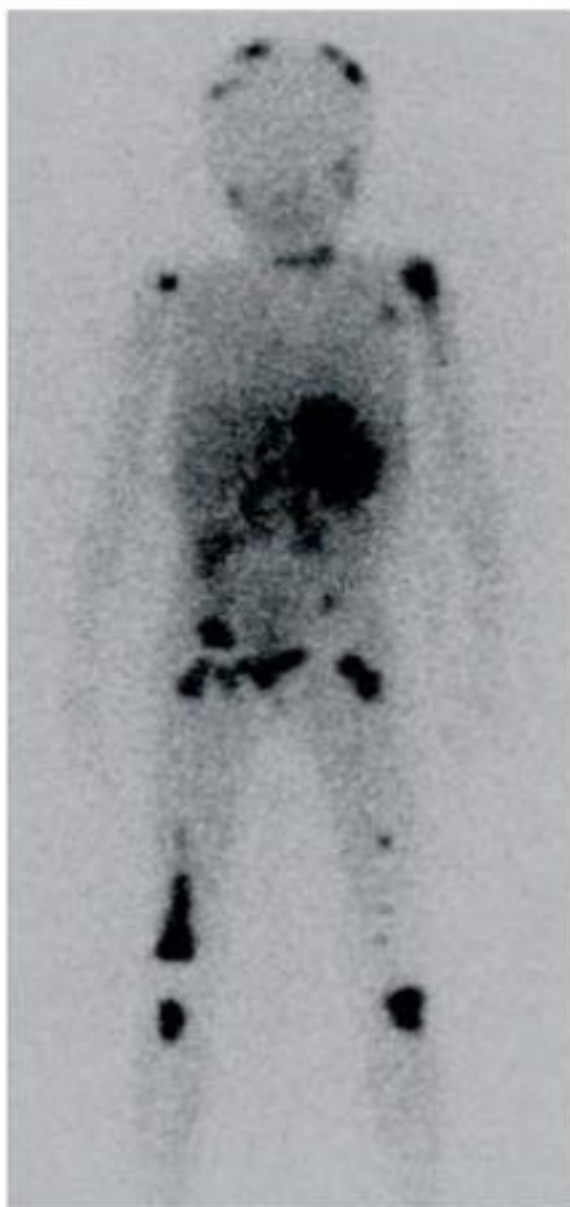


Figure 12: Image de scintigraphie au MIBG chez un enfant ayant un NB métastatique.

6.2. Biologie :

Étant donné que la scintigraphie au MIBG ne distingue pas l'atteinte médullaire de l'atteinte corticale au niveau de l'os. La recherche d'un envahissement médullaire repose essentiellement sur le myélogramme et la biopsie ostéo-médullaire. Cette recherche est primordiale pour la classification en groupes pronostiques et repose sur la cytomorphologie et l'immunohistochimie. D'autres techniques comme la cytométrie en flux et la recherche du transcrite de la tyrosine hydroxylase (TH) par biologie moléculaire, non utilisées en routine, sont développées pour venir compléter l'arsenal diagnostique. Toutes ces méthodes seront détaillées plus bas [50.51].

Il existe deux formes de métastases au niveau de la moelle osseuse : les formes diffuses qui atteignent la corticale et qui sont associées à une mauvaise réponse thérapeutique ; et les formes nodulaires qui sont associées à un meilleur pronostic [9].

7. Marqueurs moléculaire et génétiques :

Les caractéristiques moléculaires et génétiques des neuroblastomes sont des éléments incontournables à prendre en compte et aident à prédire le pronostic de la maladie car elles vont influencer la propagation des cellules malignes du neuroblastome.

7.1. Amplification de l'oncogène MYCN :

Il est bien connu que l'amplification de l'oncogène MYCN, situé sur le chromosome 2 (2p24), prédit une agressivité élevée des cellules tumorales. Elle est l'anomalie génétique principale pouvant influencer l'invasion métastatique du neuroblastome et être associée à un pronostic péjoratif. Elle est le plus souvent corrélée avec un stade avancé, une progression tumorale rapide, une mauvaise réponse thérapeutique et avec un risque élevé de rechute. Malgré sa signification clinique, elle n'est présente que dans la moitié des neuroblastomes avec un phénotype agressif [52].

Les principaux mécanismes engendrés par l'amplification MYCN sont la dérégulation de l'activité de la protéine kinase C (PKC), qui entraîne une croissance tumorale incontrôlée, la phosphorylation constitutive de différents récepteurs de facteurs de croissance et la

dérégulation de la molécule d'adhésion NCAM (neural cell adhesion molecule), qui contribue à la métastase en altérant l'adhésion cellule-cellule [53].

Bien que la surexpression de MYCN favorise à elle seule l'infiltration médullaire, il a été récemment démontré que la combinaison de la surexpression de MYCN et de la délétion du gène de la caspase 8 augmentait significativement les métastases médullaires [54].

Enfin, il a été constaté que l'amplification du gène MYCN provoque une instabilité génétique dans les cellules malignes, entraînant des aberrations génétiques secondaires même au niveau chromosomique. Certaines de ces mutations peuvent favoriser la dissémination métastatique [52].

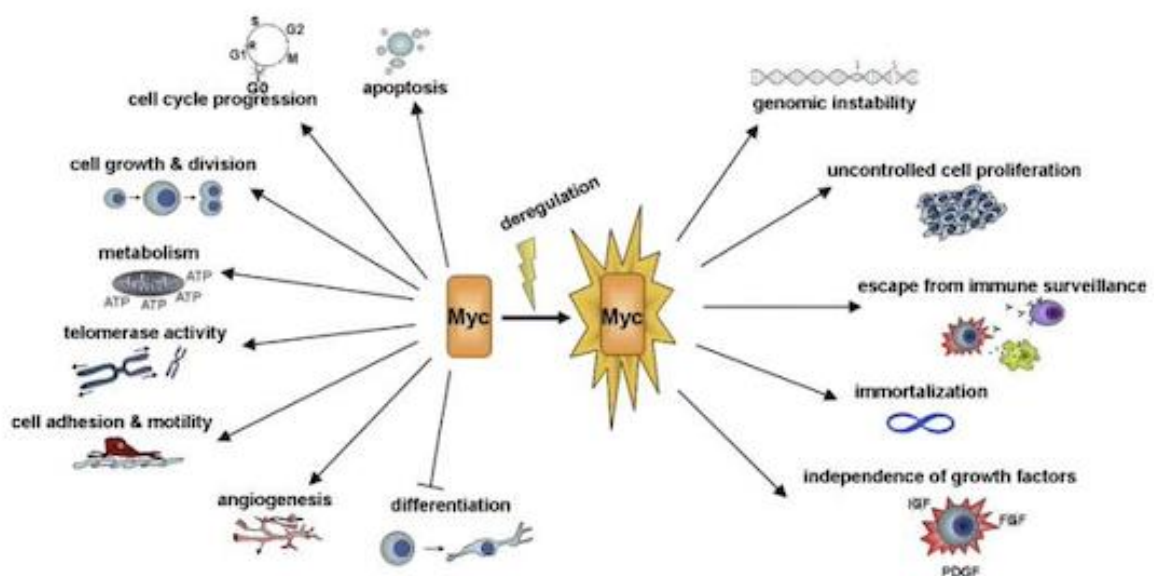


Figure 13: Implication de l'oncogène MYCN dans l'agressivité de la tumeur.

La recherche de l'amplification de l'oncogène MYCN peut être réalisée par différentes techniques de biologie moléculaire, soit par FISH (Fluorescence based In Situ Hybridisation), soit par Southern blot ou PCR [55].

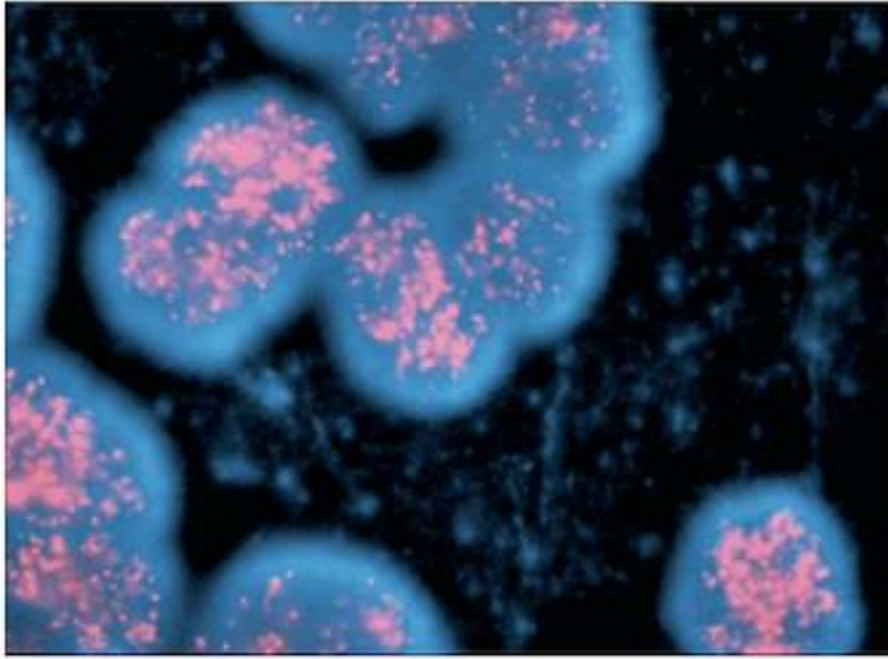


Figure 14: Amplification de l'oncogène MYCN par technique FISH.

7.2. Autres anomalies :

De nombreuses anomalies cytogénétiques et clonales sont décrites, mais aucune n'a été fréquemment rencontrée dans le neuroblastome avec un tel impact pronostique, ni présente dans la totalité des cas [56].

Le gain de matériel génétique au niveau du 17q est l'anomalie la plus fréquente, elle est retrouvée chez 50% des cas de neuroblastomes. Elle est corrélée avec un phénotype plus agressif [56].

La délétion de la région 11q est observée chez 43% des patients. Elle représente un marqueur pronostique important, et reste associée à un mauvais pronostic [57].

La délétion du bras court du chromosome 1 (1p36), souvent corrélée avec l'amplification du gène MYCN, peut se voir dans 30 à 35% des cas de neuroblastomes. Elle est surtout présente dans les cas avancés [57].

La perte allélique 14q a été décrite dans 23 à 30% des cas. Cette anomalie semble généralement sans signification clinique déterminée [56].

Tableau 2: Principales anomalies chromosomiques récurrentes observées dans les neuroblastomes.

Anomalie chromosomique	Locus impliqué	Corrélation avec l'amplification de MYCN	Signification pronostique globale
17q+	17q21-qter	Oui (directe)	Défavorable
1p-	1p36	Oui (directe)	Défavorable
11q-	11q23	Oui (directe)	Défavorable
14q-	14q23-qter	Oui (directe)	Défavorable

7.3. Détermination de la ploïdie tumorale :

La ploïdie tumorale convient à analyser le contenu en ADN des cellules tumorales. Une cellule diploïde contient 2 copies de ses 22 chromosomes et de 2 chromosomes sexuels. Environ 55% des tumeurs primitives contiennent entre 58 et 80 chromosomes, on parle alors de tumeurs avec triploïdie. Cette caractéristique est un marqueur pronostique surtout chez les enfants de moins de un an. Les différentes études suggèrent que les anomalies de type numérique, tels que la triploïdie et l'hyperploïdie, sont associées à une évolution favorable [58].

8. Classifications :

Le neuroblastome est caractérisé par une hétérogénéité clinique et biologique. De ce fait, plusieurs classifications ont été développées dans l'objectif de décrire le plus spécifiquement possible le stade et la forme de la maladie rencontrée [59]. Seules les classifications couramment employées sont présentées ci-dessous.

8.1. Classification INSS :

La classification INSS (International Neuroblastoma Staging System), a été publiée pour la première fois en 1988 et révisée en 1993. Elle est basée sur des critères anatomo-cliniques, et des précisions concernant l'exérèse tumorale, il s'agit d'une classification post-chirurgicale [60].

Tableau 3: Stade d'extension des neuroblastomes selon l'INSS.

Stade	Définition
1	Tumeur localisée. Exérèse macroscopiquement complète avec ou sans résidu microscopique. Ganglions homolatéraux représentatifs histologiquement négatifs. (Les ganglions inclus dans la tumeur et enlevés avec elle peuvent être positifs).
2A	Tumeur localisée. Exérèse macroscopiquement incomplète. Les ganglions représentatifs homolatéraux, non adhérents à la tumeur, sont macroscopiquement non tumoraux.
2B	Tumeur localisée. Exérèse macroscopiquement complète ou non, avec des ganglions homolatéraux, non adhérents envahis par la tumeur. Les ganglions collatéraux suspects doivent être négatifs microscopiquement.
3	Tumeur unilatérale non réséquable infiltrant la ligne médiane avec ou sans envahissement des ganglions régionaux, ou tumeur unilatérale localisée avec envahissement ganglionnaire régional controlatéral ou tumeur de la ligne médiane avec extension bilatérale par infiltration (non réséquable) ou par envahissement ganglionnaire.
4	Quelque soit la tumeur primitive, avec dissémination aux ganglions à distance, os, moelle, foie, peau et/ou autres organes (sauf comme défini dans le stade 4S).
4S	Tumeur primitive localisée (comme définie pour les stades 1, 2A, 2B) avec dissémination limitée à la peau, le foie, et/ou la moelle osseuse (limitée aux enfants d'âge < 1an). Le pourcentage de neuroblastomes dans la moelle ne doit pas excéder 10%.

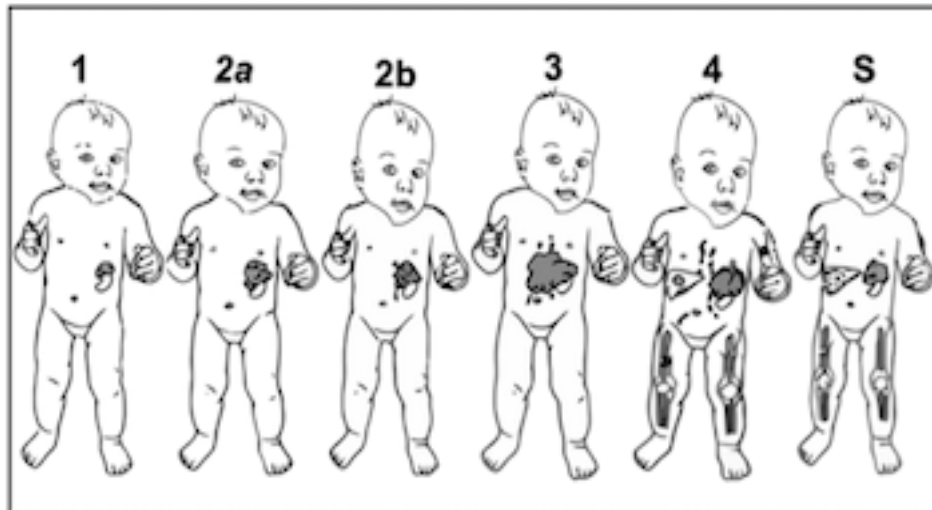


Figure 15: Illustration de la classification INSS.

8.2. Classification INRG :

La classification INRG (International Neuroblastoma Risk Group) a été proposée en 2009. Elle est la plus retenue actuellement, car elle possède l'avantage de stratifier les patients au moment du diagnostic avant tout traitement. Le système de classification était basé sur l'analyse des données recueillies auprès de plus de 8 800 patients diagnostiqués entre 1990 et 2002 en Amérique du Nord, en Europe, au Japon et en Australie. Elle décrit quatre stades : L1, L2, M et MS correspondant respectivement aux stades INSS 1, 2-3, 4 et 4S. Elle définit, également, des groupes de risques selon l'évaluation des marqueurs cliniques, histologiques et génétiques qui seront détaillés dans le chapitre suivant [61].

Tableau 4 : Description des quatre stades du neuroblastome définis par l'INGR.

Stade	Description
L1	Tumeur localisée à un seul compartiment du corps (cou, cage thoracique, abdomen ou pelvis). N'intègre pas de structure vitale et ne présente pas de facteur de risque à la chirurgie.
L2	Tumeur locorégionale avec présence d'un ou plusieurs facteurs de risques à la chirurgie.
M	Présence de métastases à distance de la tumeur primaire (sauf stade MS).
MS	Tumeur métastatique chez les enfants de moins de 18 mois (547 jours) avec des métastases limitées à la peau, au foie et / ou à la moelle osseuse (<10% de métastases dans la moelle osseuse et scintigraphie au MIBG négative dans la moelle et es os)

8.3. Classification INPC :

La classification INPC (International Neuroblastoma Pathology Classification), établie par Shimada en 1999 puis revue en 2003, représente la classification histologique de référence. Elle décrit l'aspect histologique en prenant compte la composition du stroma, le degré de différenciation des neuroblastes et l'index mitotique et caryorrhexique (MKI : mitosis karyorrhexis index). Ce dernier se définit comme le pourcentage de cellules en division et/ou ayant du matériel nucléaire condensé et fragmenté et un cytoplasme condensé éosinophile. Elle permet de définir 4 grandes catégories : Le neuroblastome, le ganglioneuroblastome mélangé, le ganglioneuroblastome nodulaire et le ganglioneurome [62].

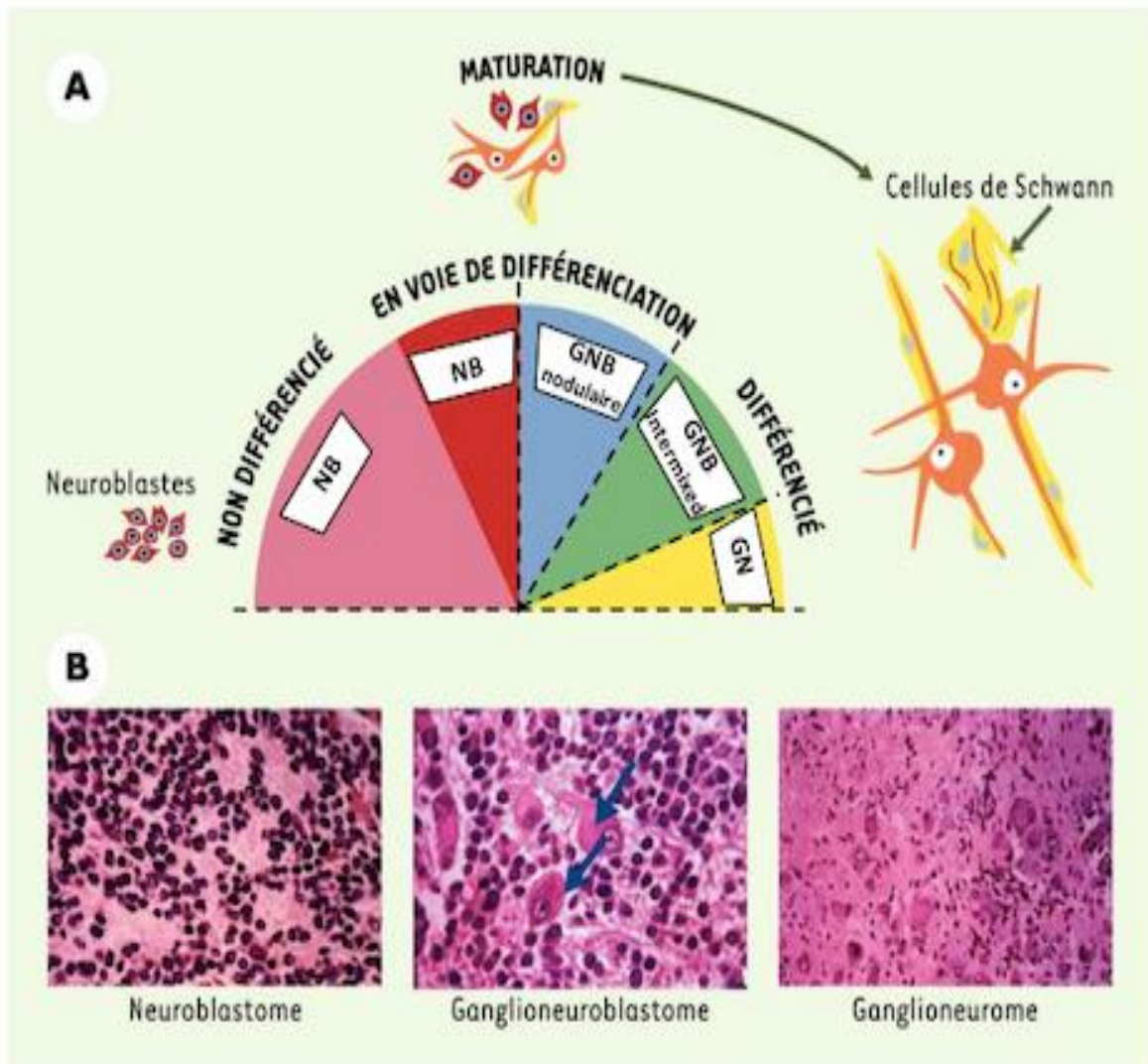


Figure 16: Classification histologique des tumeurs neuroblastiques.

A. De gauche à droite : NB (neuroblastome) ; GNB (ganglioneuroblastome) nodulaire et mélangé et GN (ganglioneurome). B. Caractères histologiques des coupes de tumeurs neuroblastiques colorées à l'hématoxyline-éosine (les flèches indiquent les cellules différenciées).

9. Pronostic :

Le pronostic du neuroblastome est lié, depuis très longtemps, à deux critères cliniques simples : L'âge du patient au moment du diagnostic et le stade de l'extension tumorale. Ces facteurs gardent une signification majeure dans l'évaluation du risque de la maladie [63].

Plus l'âge au diagnostic est avancé, plus la probabilité de survie du patient est basse. Le seuil pronostique est officiellement fixé à 18 mois mais le seuil de 12 mois est encore retenu par certaines équipes [6].

Comme la majorité des tumeurs malignes, la vitesse de développement et l'extension des cellules tumorales est facteur pronostique important (classification INSS). Plus de 50% des cas sont diagnostiqués sous forme métastatique et sont de très mauvais pronostic, alors que les stades 1, 2 et 4S ont une survie à long terme qui dépasse 80% indépendamment de l'âge [60].

Certaines équipes utilise la classification anatomopathologique INPC pour définir le pronostic des sous-catégories de patients. En combinant l'âge et des critères histologiques, elle permet de diviser les tumeurs en 2 groupes pronostiques : favorable et défavorable [64].

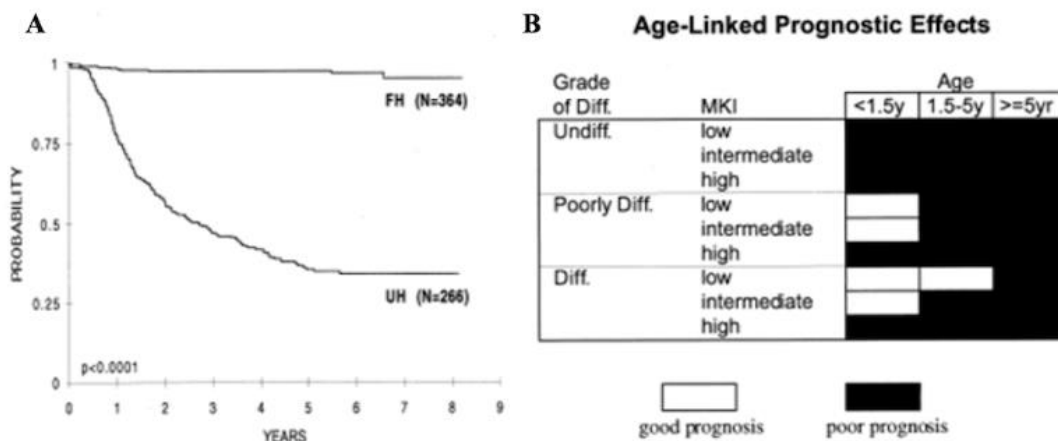


Figure 17 : Pronostic des patients en fonction de la classification INPC.

A. Courbe de survie sans évènement en fonction des caractéristiques histologiques des tumeurs. FH = Histologie favorable et UH = Histologie défavorable.
 B. Pronostic des patients en fonction du stade de différenciation (Diff : différencié, Undiff : indifférencié, Poorly Diff. : faiblement différencié) et du MKI (index mitotique et carrhyorectique).

Afin d'harmoniser la prise en charge des patients à travers le monde entier, des efforts considérables ont été déployés pour développer des algorithmes universels de stratification de risque. La plupart des groupes coopératifs utilisent des systèmes basés sur la combinaison des facteurs cliniques cités ci-dessus, avec des marqueurs histologiques et biologiques spécifiques [65].

Le groupe d'oncologie pédiatrique (COG : Children's Oncology Group) a établi une classification du risque en tenant compte de l'âge, de la classification INSS, du modèle histologique de Shimada, de l'amplification du gène MYCN et de la ploïdie tumorale. Les patients seront répartis en 3 groupes de pronostiques : bas, intermédiaire ou haut [66].

Tableau 5 : Classification du risque pronostique des neuroblastomes d'après le COG.

Stade INSS	Age	MYCN	Catégorie		Risque
			histologique selon Shimada	DNA Index	
1	0-21 jours	/	/	/	Bas
2A/2B	<365 jours	/	/	/	Bas
	≥365j – 21 ans	Normal	/	/	Bas
	≥365j – 21 ans	Amplifié	Favorable	/	Bas
	≥365j – 21 ans	Amplifié	Défavorable	/	Haut
3	<365 jours	Normal	/	/	Intermédiaire
	<365 jours	Amplifié	/	/	Haut
	≥365j – 21 ans	Normal	Favorable	/	Intermédiaire
	≥365j – 21 ans	Normal	Défavorable	/	Haut
	≥365j – 21 ans	Amplifié	/	/	Haut
4	<365 jours	Normal	/	/	Intermédiaire
	<365 jours	Amplifié	/	/	Haut
	≥365j – 21 ans	/	/	/	Haut
4S	<365 jours	Normal	Favorable	>1	Bas
	<365 jours	Normal	/	=1	Intermédiaire
	<365 jours	Normal	Défavorable	/	Intermédiaire
	<365 jours	Amplifié	/	/	Haut

Le système de classification INRGSS (International Neuroblastoma Risk Group Staging System) a été désigné comme étant le plus robuste et le plus reproductible pour définir le profil de la tumeur neuroblastique. Les patients sont répartis en quatre grands groupes de risque : très faible, faible, intermédiaire et haut sur la base de la survie sans événements à 5 ans. Cette stratification prend en compte les facteurs pronostiques suivants : l'âge au diagnostic, l'histologie de la tumeur, l'amplification du gène MYCN, l'aberration 11q et la ploïdie tumorale [67].

Tableau 6 : Classification pré-thérapeutique d'après le INRG.

INRG Stage	Age (months)	Histologic Category	Grade of Tumor Differentiation	MYCN	11q Aberration	Ploidy	Pretreatment Risk Group
L1/L2		GN maturing; GNB intermixed					A Very low
L1		Any, except GN maturing or GNB intermixed		NA			B Very low
				Amp			K High
L2	< 18	Any, except GN maturing or GNB intermixed		NA	No		D Low
					Yes		G Intermediate
	≥ 18	GNB nodular; neuroblastoma	Differentiating	NA	No		E Low
					Yes		H Intermediate
					Amp		N High
M	< 18			NA		Hyperdiploid	F Low
	< 12			NA		Diploid	I Intermediate
	12 to < 18			NA		Diploid	J Intermediate
	< 18			Amp			O High
	≥ 18						P High
MS	< 18			NA	No		C Very low
					Yes		Q High
					Amp		R High

Nous avons évoqué précédemment les différents marqueurs biologiques dosés lors du diagnostic du neuroblastome. Ils ont, ainsi que d'autres, un potentiel prédictif important permettant d'apprécier la masse tumorale initiale et son évolution sous traitement et de définir le pronostic [68]. Parmi ces différents paramètres, on distingue :

- Les neuroblastomes les plus graves ou indifférenciés se caractérisent une excrétion urinaire élevée en dopamine, acide homovanillique (HVA), une excrétion moindre en acide vanylmandélique (VMA) et un rapport VMA/HVA bas.
- Le taux des LDH au moment du diagnostic est un marqueur du volume tumoral et/ou de son renouvellement rapide ; un taux élevé (> 1500 UI/L) est associé d'une façon significative à une survie inférieure en particulier chez les enfants de plus d'un an, et à une amplification de l'oncogène MYCN. Les LDH possèdent une valeur pronostique plus importante pour les neuroblastomes localisés.
- Le taux de la ferritine sérique est élevé (> 142 ng/ml) en cas de neuroblastome avec extension locorégionale ou métastatique.
- La neurone-spécifique-énolase (NSE) est une protéine cytoplasmique associée aux cellules neuronales dont le taux élevé (>100 ng/ml) est corrélé avec un pronostic défavorable [69].
- Le disialoganglioside GD2 est une molécule présente à la surface des neuroblastes, et son dosage peut être indicatif de la progression tumorale du neuroblastome.

Néanmoins, ces marqueurs ne sont pas tous utilisés en routine et ils ne sont pas spécifiques du neuroblastome. Par conséquent, aucun d'eux n'est inclus comme un élément indispensable dans la stratification pronostique dans les études multicentriques [68].

10. Prise en charge thérapeutique :

La chirurgie, la chimiothérapie, la radiothérapie ou encore la greffe des cellules souches hématopoïétiques sont les méthodes de référence pour le traitement des tumeurs neuroblastiques [70].

En raison de la grande variabilité clinique et pronostique du neuroblastome, deux protocoles thérapeutiques sont adaptés par la société internationale d'oncologie pédiatrique, en se basent principalement sur la classification INRG pour les traitements des patients de risque faible ou intermédiaire (protocole LINES) et sur la classification INSS pour les tumeurs de haut risque (protocole HR-NB/SIOPEN) [71].

10.1. Neuroblastome de risques faible et intermédiaire :

D'une manière générale, le traitement des tumeurs localisées de bas risque (INSS 1, 2A et 2B) est basé uniquement sur une résection chirurgicale, tandis que les tumeurs avec extension locorégionale (INSS 3) ou non opérables nécessitent une chimiothérapie néoadjuvante, puis une exérèse tumorale totale ou subtotale sans mutilation [72].

10.2. Neuroblastome de haut risque :

Les neuroblastomes de haut risque constituent un défi thérapeutique et nécessitent des thérapies lourdes, incluant chimiothérapie pré-opératoire, chirurgie, chimiothérapie myéloablative, radiothérapie et parfois greffe de cellule souches hématopoïétiques.

La stratégie thérapeutique actuelle intègre trois phases : une phase d'induction visant à réduire la taille de la tumeur, une phase de consolidation, puis une phase d'entretien pour l'éradication de la maladie résiduelle minimale (MRM) [73].

La phase d'induction consiste en différents cycles de chimiothérapie, comprenant généralement des sels de platine tels que le carboplatine ou le cisplatine, des poisons du fuseau tels que la vincristine, des anti-topoisomérases de type II telles que l'étoposide et des agents alkylants tels que le cyclophosphamide. Cette phase est suivie de la résection chirurgicale de la tumeur lorsqu'elle est possible [74].

La phase de consolidation consiste en une chimiothérapie myéloablative associée à deux agents alkylants, le busulfan et le melphalan, suivie d'une autogreffe de cellules souches hématopoïétiques et d'une radiothérapie [75]. Cette dernière joue un rôle important dans le contrôle local des tumeurs. La greffe de cellules souches permet un renouvellement complet de la moelle osseuse hématopoïétique dans les formes les plus sévères de neuroblastome, réduisant le risque de récurrence par rapport à une thérapie de consolidation avec une chimiothérapie simple.

L'isotrétinoïne (13-cis-RA) a montré son efficacité lors de la phase d'entretien, pour la prise en charge de la maladie résiduelle minimale. Cette molécule induit une différenciation des neuroblastes et l'apoptose *in vitro*. Il en résulte une diminution de la prolifération des cellules neuroblastiques *in vivo* [76].

En cas de tumeurs très agressives, des thérapeutiques innovantes ont été évaluées, le plus souvent en complément aux thérapeutiques de référence, telle que les anticorps monoclonaux et l'irradiation métabolique spécifique. D'autres thérapies émergentes peuvent également être proposées : les inhibiteurs de l'angiogenèse, de la tyrosine kinase, anti-sens ou autres modificateurs biologiques [73].

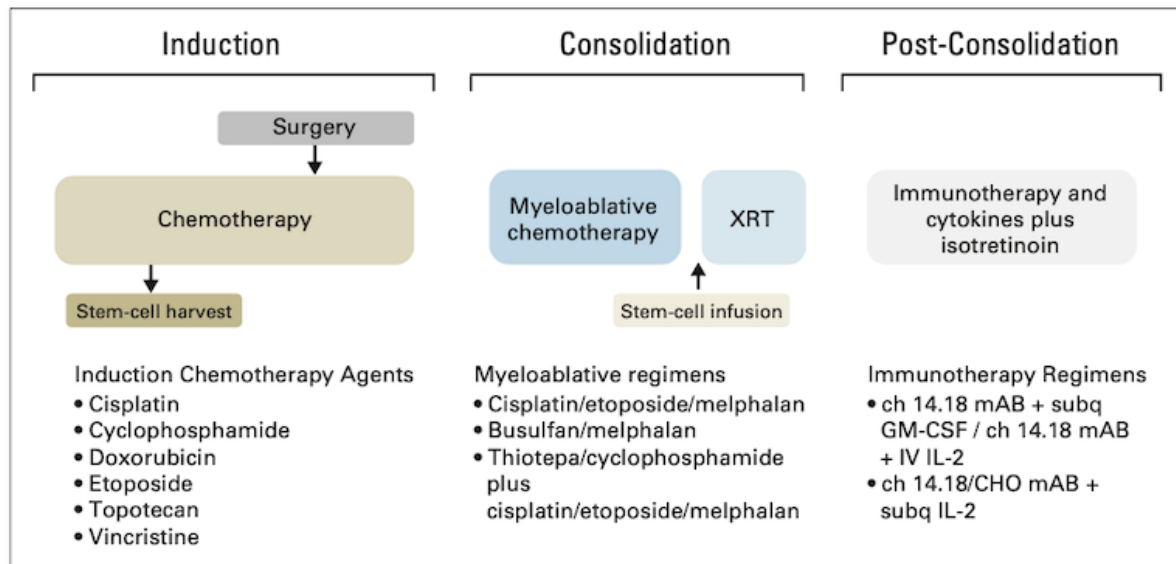


Figure 18: Stratégie actuelle et standard du traitement des neuroblastomes à haut risque.

10.3. Évaluation de la réponse au traitement :

L'évaluation de la réponse thérapeutique repose sur des arguments cliniques, biologiques et scintigraphiques. La régression, voire même la disparition de la tumeur primitive, la diminution du taux des catécholamines urinaires et une disparition de l'infiltration ostéo-médullaire à l'issue de la phase d'induction orientent vers une bonne réponse au traitement et est de bon pronostic [77].

Le suivi régulier de l'infiltration médullaire est assuré par la réalisation de myélogrammes ou de biopsies ostéo-médullaires (BOM) et par la scintigraphie au MIBG. Il permet la réévaluation précoce de la réponse thérapeutique et par conséquent de décider de la poursuite du traitement. Par exemple, l'autogreffe n'est réalisée que lorsque le bilan ostéo-médullaire est négatif et que

l'on observe moins de 3 spots lumineux en scintigraphie au MIBG [78].

En cas de neuroblastome réfractaire ou en rechute, une chimiothérapie de rattrapage peut être envisagée. Le bevacizumab (anticorps anti-VEGF) est actuellement testé dans cette situation via le protocole BEACON en association avec l'irinotecan et le temozolomide [73].

	Primary	Metastases	Markers
CR	No tumour	No metastases (chest, abdomen, liver, bone, bone marrow, nodes, etc)	HVA or VMA normal
VGPR	Decrease >90% but <100%	No metastases (as above except bone); no new bone metastases; all pre-existing metastases improved	HVA or VMA decreased >90%
PR	Decrease 50-90%	No new metastases; 50-90% decrease in measurable sites; 0-1 bone-marrow samples with tumour; bone metastases same as VGPR	HVA or VMA decreased 50-90%
MR	No new tumours; >50% decrease of any measurable tumour (primary or metastases) with <50% decrease in any other; <25% increase in any existing tumour*	No new tumours or metastases; >50% decrease of any measurable tumours or metastases (primary or metastases) with <50% decrease in any other; <25% increase in any existing tumours or metastases*	NA
NR	No new tumours; <50% decrease but <25% increase in any existing tumour*	No new tumours or metastases; <50% decrease but <25% increase in any existing tumours or metastases*	NA
PD	Any new tumour; increase of any measurable tumour by >25%; previous negative marrow positive for tumour	Any new tumour or metastases; increase of any measurable tumour or metastases by >25%; previous negative marrow positive for tumour or metastases	NA

CR=complete response. HVA=homovanillic acid. VMA=vanillylmandelic acid. VGPR=very good partial response. PR=partial response. MR=mixed response. NA=not applicable. NR=no response. PD=progressive disease. *Quantitative assessment does not apply to marrow disease.

Tableau 7 : Réponse tumorale selon l'INRC (International Neuroblastoma Response Criteria).

II. Évaluation de l'extension médullaire des neuroblastomes :

1. Intérêt :

Plus de la moitié des patients atteints du neuroblastome présentent une maladie disséminée au moment du diagnostic, avec des métastases préférentiellement médullaires [9].

L'évaluation correcte de la moelle osseuse est très utile et cruciale pour la stratification pronostique des patients et la détermination de la stratégie thérapeutique. Mais son intérêt ne s'arrête pas là, puisque la quantification des cellules tumorales au niveau médullaire et le suivi de leur évolution sous-chimiothérapie est un élément fondamental pour l'évaluation de la réponse au traitement et le management des formes réfractaires et chimio-résistantes. En outre, la présence d'une localisation médullaire permet aussi de confirmer le diagnostic du neuroblastome quand les autres critères sont insuffisants [79].

La recherche d'un envahissement médullaire peut aussi se révéler utile pour éliminer la présence de cellules tumorales dans le greffon des cellules souches hématopoïétiques, avant l'autogreffe, dans le cas où ce traitement est envisagé [80].

2. Prélèvements :

Les recommandations actuelles sont de réaliser quatre myélogrammes et deux biopsies ostéo-médullaires, puisque les métastases médullaires sont souvent sous formes d'îlots disséminés, donc des prélèvements multiples vont augmenter la chance d'en trouver [81].

En pratique, la ponction et la biopsie de la moelle osseuse se font habituellement en même temps. Elles sont réalisées, à l'aide d'un trocard, au niveau des deux crêtes iliaques chez l'enfant sous anesthésie générale [50].

L'aspiration du suc médullaire ramène un échantillon cellulaire et les carottes médullaires retirées apportent un échantillon tissulaire, dont l'expertise de l'exécutant conditionne la qualité des résultats rendus [50].

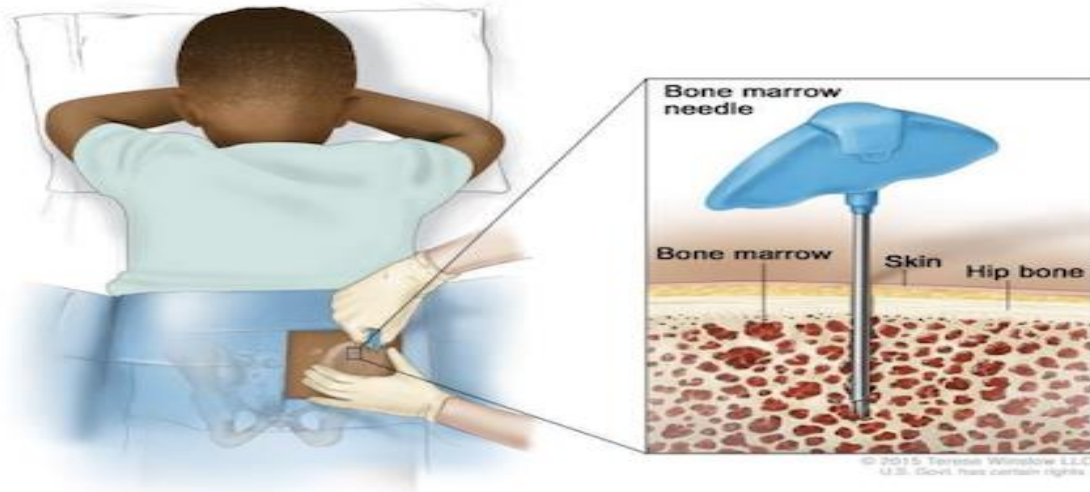


Figure 19: Aspiration et biopsie médullaires.

3. Méthodes d'analyse :

Aux méthodes cytologiques et histologiques classiques s'ajoutent des techniques plus modernes de purification cellulaire pour améliorer la détection d'un envahissement médullaire minime et focal. Ces techniques sont souvent couplées à une reconnaissance préalable immunologique, voire génétique ou de biologie moléculaire des cellules malignes.

Afin d'éviter des faux positifs qui pourraient entraîner un sur-traitement et, à l'inverse, des faux négatifs dont la prise en charge serait par la suite inappropriée, la technique de détection optimale doit être adaptée et praticable pour les jeunes enfants, sensible mais aussi spécifique.

3.1. Étude cytologique :

Il n'existe aucune supériorité de l'étude histologique sur l'étude cytologique en terme de sensibilité, la lecture des myélogrammes présente alors un intérêt similaire à celui de la biopsie ostéo-médullaire et ne peut pas être remplacée par cette dernière [82].

La détection morphologique des cellules neuroblastiques se fait en microscopie optique sur des frottis de la moelle osseuse étalés à partir d'un pool des différents prélèvements puis colorés au May-Grünwald-Giemsa (MGG) [83].

La lecture de la totalité des lames est nécessaire pour permettre un résultat fiable et éviter les faux négatifs. Cette méthode exige une grande expertise en oncologie pédiatrique de la part des cytologistes [9].

Les frottis doivent être examinés au faible et fort grossissement. Un faible grossissement est utilisé pour évaluer la densité cellulaire et rechercher la présence de grands nids ou amas de cellules tumorales, et un grossissement plus élevé pour identifier les petits nids de cellules tumorales ou toute cellule unique potentielle du neuroblastome et pour reconnaître les structures de différenciation [50].

Le neuroblastome fait partie des tumeurs à petites cellules rondes, avec un rapport nucléocytoplasmique élevé. Il est composé de cellules indifférenciées de taille homogène, au noyau dense hyperchromatique et au cytoplasme basophile. Des prolongements neuritiques indiquent souvent l'amorce de différenciation de ces neuroblastes. La principale caractéristique morphologique du neuroblastome est l'agencement des cellules neuroblastiques en rosettes de Homer Wright autour d'un centre fibrillaire [84].

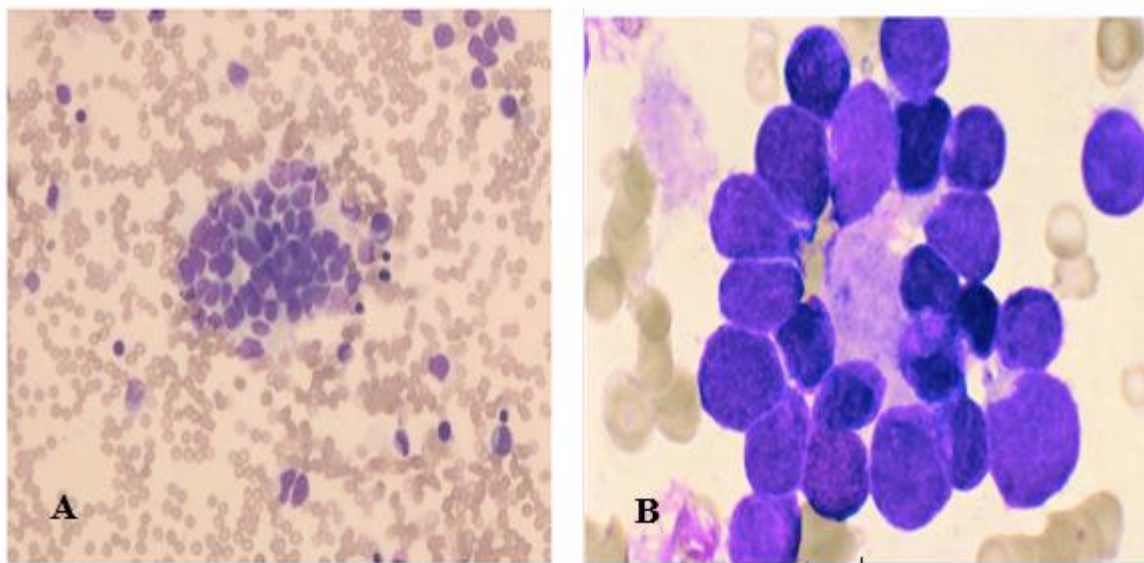


Figure 20: Frottis médullaires montrant l'invasion de la moelle par les cellules tumorales d'un neuroblastome. A : Amas de neuroblaste x400. B : Aspect en rosettes x1000.

Bien qu'il s'agisse d'un événement rare, les cellules du neuroblastome peuvent subir une maturation d'une façon spontanée ou post-thérapeutique ; si des caractéristiques de différenciation sont détectées dans >5% des cellules tumorales, cela doit être signalé comme "présence de cellules du neuroblastome en voie de différenciation" [81].

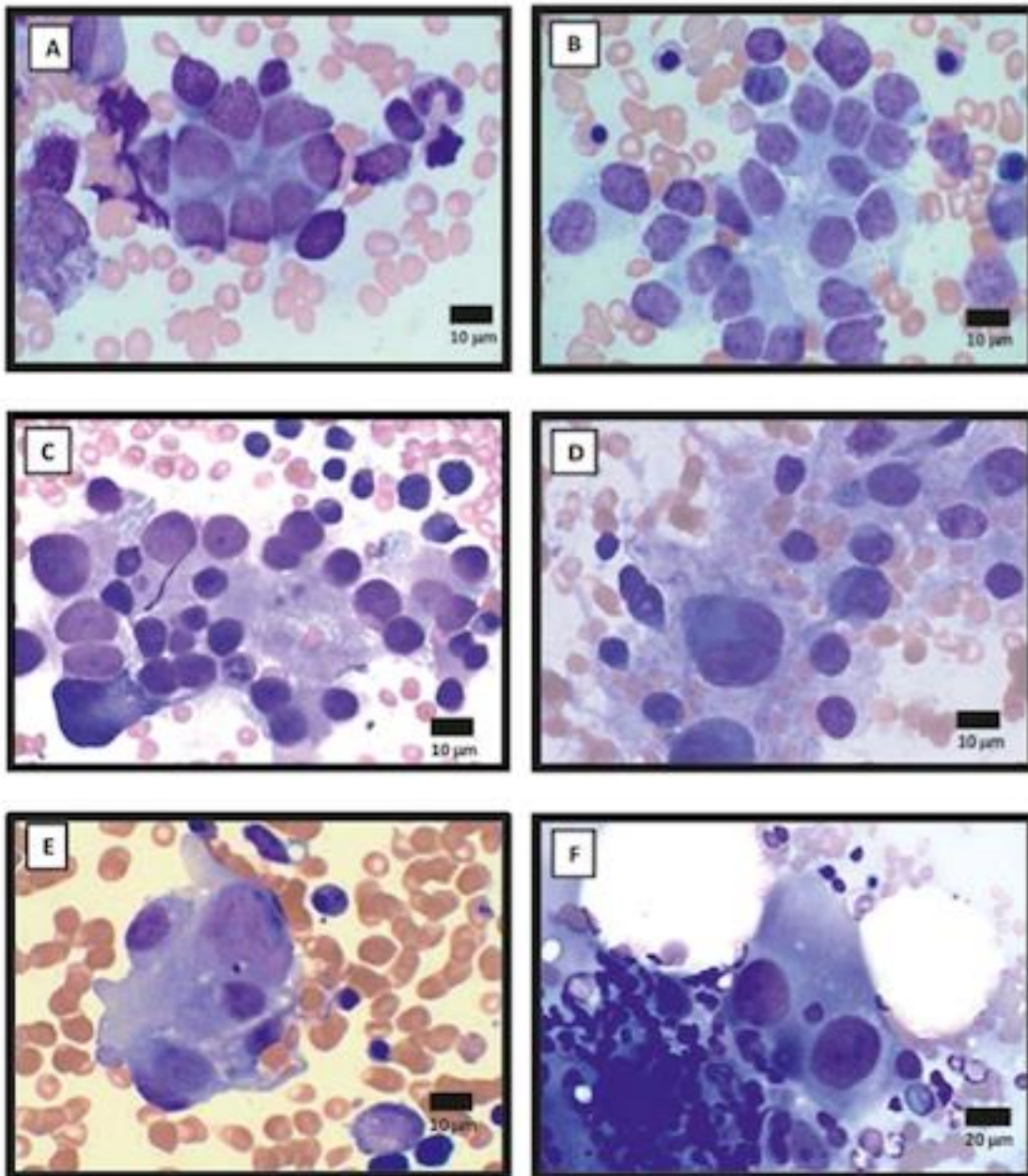


Figure 21: Caractéristiques cytomorphologiques de la différenciation.

(A et B) Nids de cellules du neuroblastome avec des neuroblastes peu différenciés. (C) Amas de cellules du neuroblastome présentant diverses caractéristiques de différenciation : taille croissante des cellules, noyaux plus gros avec des nucléoles bleuâtres, membrane nucléaire plus distincte, chromatine plus grossière, cytoplasme polychromatique, et neutrophile entre les cellules. (D) Les cellules en cours de différenciation sont augmentées de taille, avec une chromatine plus compacte et à gros grains, une membrane nucléaire plus distincte, des nucléoles bleuâtres peu nombreux, et une cellule binucléée. (E) Amas de cellules tumorales avec 5 cellules en voie de différenciation : gros noyaux avec de gros nucléoles et un cytoplasme polychromatique étendu. (F) Nid de cellules tumorales avec des cellules indifférenciées et une cellule géante différenciée de type ganglionnaire avec un cytoplasme abondant et 2 noyaux et de la chromatine supplémentaire. Les deux noyaux contiennent 3 à 4 nucléoles bleuâtres.

3.1. Étude histologique :

Dans le cas du neuroblastome, l'analyse histologique de référence pour l'évaluation de l'infiltration médullaire repose sur la coloration HES et l'immunomarquage des biopsies ostéo-médullaires [85].

La coloration par HES (Hématoxyline-Eosine-Safran) est une technique simple mais elle ne possède pas une très grande sensibilité, d'où l'intérêt de l'associer à l'immunohistochimie (IHC) [86].

Différents marqueurs ont été utilisés pour améliorer la détection des neuroblastes avec des degrés variables de réussite. Ainsi, les antigènes cibles hautement spécifiques pour lesquels l'IHC est sans ambiguïté comprennent la synaptophysine, la tyrosine hydroxylase (TH), la chromogranine A (CgA) et le PHOX2B. D'autres marqueurs sont également utilisés, notamment le CD 56 (cluster de différenciation 56) et la PGO (Protein Gene Product) [86].

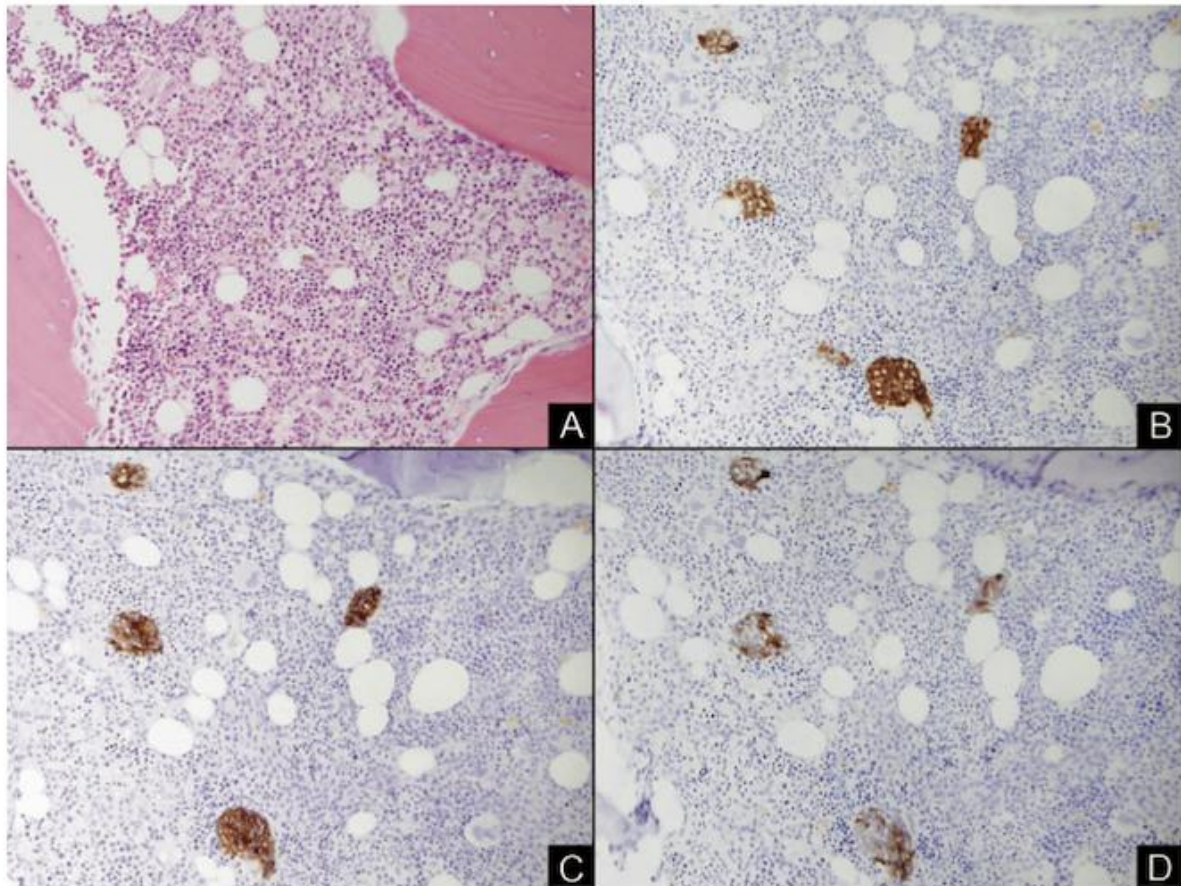


Figure 22: Coupe colorée par HES (A) d'un patient atteint du neuroblastome, avec des grappes de cellules tumorales métastatiques mises en évidence par la PGP9.5 (B), la synaptophysine (C) et la tyrosine hydroxylase (D) x100.

3.2. RT-PCR :

La RT-PCR (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction) en temps réel est une technique sensible pour la détection des cellules tumorales disséminées et elle est hautement recommandée dans le cadre de la maladie résiduelle minimale où l'envahissement médullaire par les neuroblastes est de 5 % [87].

Néanmoins, aucun ARNm spécifique du neuroblastome n'a été identifié. La cible la plus évaluée, dans ce contexte, est la tyrosine hydroxylase qui est la première enzyme de la voie de synthèse des catécholamines [88].

En effet, la détection par RT-PCR du transcrite de la tyrosine hydroxylase est une méthode qualitative et quantitative qui, à la fois, oriente vers l'existence de cellules tumorales circulantes et mesure le degré d'infiltration médullaire. Par contre, aucune transcription n'a été retrouvée dans le tissu hématopoïétique du sujet sain, ce qui atteste d'une bonne spécificité de la technique et lui confère une forte valeur prédictive positive [81.89].

Elle est pratiquée préférentiellement au niveau de la moelle osseuse qu'au niveau du sang périphérique et elle permet une sensibilité de détection entre 1 à 10 cellules neuroblastiques dans 10^6 cellules sanguines normales [81].

3.3. Cytométrie en flux :

La CMF est une technique rapide et précise qui permet une analyse multiparamétrique et individuelle des cellules présentes dans un milieu liquide. L'étude des sous-populations cellulaires se fait grâce à la mise en évidence des marqueurs de surface ou intracellulaires caractéristiques, à l'aide des anticorps monoclonaux [90].

Tout comme la majorité des cancers neuroendocrines, les cellules neuroblastiques n'expriment pas le CD45, exprimé de façon différentielle par l'ensemble des cellules hématopoïétiques leucocytaires, et expriment fortement le CD56. En revanche, elles expriment de manière spécifique et homogène le disialoganglioside GD2. Cet antigène présente un fort intérêt pour la détection des métastases médullaire, d'autant plus qu'il n'est pas exprimé par les cellules hématopoïétiques normales. L'analyse cytofluorimétrique de la moelle osseuse permet donc, d'évaluer le pourcentage des cellules tumorales GD2+ CD45- CD56+ et de répondre, ainsi, à la question d'un envahissement tumoral métastatique [91.92].

Toutefois, la sensibilité de la cytométrie en flux est limitée, puisqu'une cellule neuroblastique sur 10^4 - 10^5 cellules mononuclées peut être détectée. Pour cette raison, elle n'est pas recommandée pour la détection des métastases médullaires [92]. Par conséquent, le GD2, bien qu'il s'agisse d'un marqueur spécifique du neuroblastome, il peut être exploré par d'autres techniques plus sensibles, telle que l'immunocytologie et l'immunohistochimie [93].

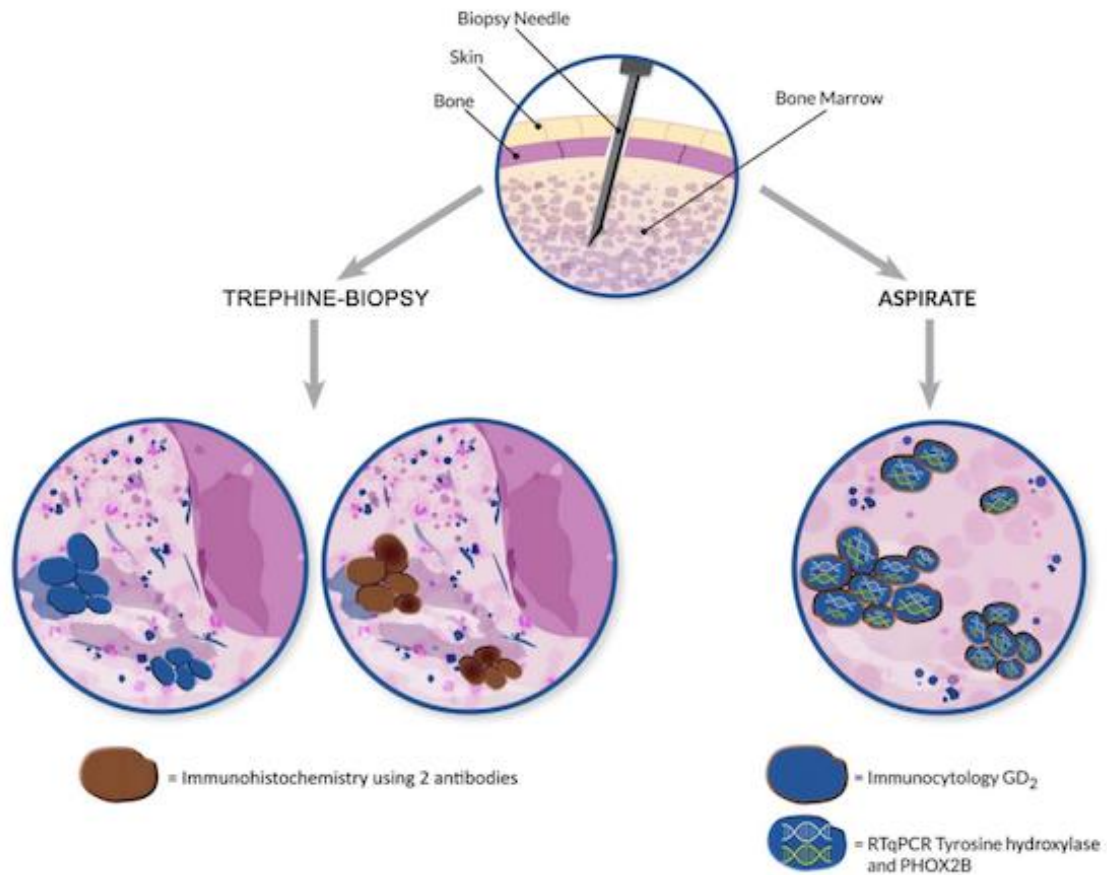


Figure 23: Recommandations consensuelles pour l'évaluation de l'extension médullaire.

D'autres méthodes peuvent servir à améliorer la sensibilité et la spécificité de l'analyse quantitative de la moelle osseuse, y compris l'immunofluorescence automatique, l'hybridation in situ en fluorescence et l'évaluation de l'indice d'intégrité de l'ARN. Cependant, la dépendance de ces tests à l'égard d'un équipement spécialisé interdit leur inclusion dans les recommandations standards pour l'évaluation de l'extension médullaire du neuroblastome [94].

III. DISCUSSION DE NOS RÉSULTATS :

1. Discussion des données épidémiologiques :

Le neuroblastome est une maladie rare, il représente environ 8 à 10% des affections malignes pédiatriques. La fréquence du neuroblastome dans les pays développés est relativement plus élevée [19]. Elle est rapportée en Suède dans 14,3% des cas [95], en France dans 8% des cas [16], aux USA dans 7,8% des cas [96] et en Belgique dans 7,4% des cas [97]. Dans les populations africaines et asiatiques les fréquences sont plus basses, ceci peut être expliqué par une prévalence augmentée des autres cancers de l'enfant au sein de ces populations [98]. Dans notre étude, le neuroblastome représente 5.5% des indications de l'ensemble des myélogrammes reçus.

Tableau 8 : Fréquence du neuroblastome dans certains pays.

	Pays	Étude / Durée	Nombre de cas	Fréquence (%)
Amérique du nord /Europe	Suède	L. Jungman et al. (1983- 2007) [95]	355	14.3
	France	Brigitte et al. (2000-2004) [16]	703	8%
	USA	PARK et al. 2008 [96]		7.8
	Belgique	Jankowski et al. (1985-2016) [97]	49	7.4
Afrique	Abidjan	F. Traoré et al. [98]		3
	Bamako			3
	Dakar			4
	Niger	O. Ochicha et al. (2001- 2010) [99]	12	2.7

	Antananarivo	F. Traoré et al. [98]		7,5
	Lomé			5
	Lubumbashi			3
	Algérie			7
Asie	Iraq	C. Stiller (9 ans) [100]	115	4,8
	Japon		260	7,6
	Chine		132	3,8
	Notre série	2020-2021 (2 ans)	57	5.5

Le neuroblastome est une tumeur embryonnaire pédiatrique, affectant préférentiellement le nourrisson et le jeune enfant généralement âgé de moins de cinq ans. L'âge de nos patients variait entre 1 mois et 14 ans, avec un âge moyen de 37 mois, résultat comparable à celui retrouvé aux USA et en France, mais supérieur à celui rapporté par la plupart des séries, notamment en Afrique du Sud (18 mois), en Espagne (20.5 mois) et en Belgique (28 mois). Ceci peut être attribué à la régression spontanée du neuroblastome chez le nourrisson, l'absence d'une stratégie du diagnostic prénatal des neuroblastomes et à la non spécificité des symptômes, ce qui entraîne un retard diagnostic.

Dans notre série, une nette prédominance masculine a été observée avec un sexe ratio de 3.07. La majorité des études publiées ont également fait état de cette prédominance masculine, notamment au Mali et en France avec un sexe ratio de 2.1 et 1.4 respectivement [101]. Cependant, une prédominance du sexe féminin a été identifiée en Afrique du Sud (sexe ratio de 0.9).

Tableau 9 : Données démographiques dans différents pays.

ÉTUDE	ÂGE MOYEN (MOIS)	SEXE RATIO
USA [22]	37.8	1.2
France [101]	36.5	1.4
Espagne [102]	20.5	1.3
Belgique [97]	28	1.2
Afrique du Sud [103]	18	0.9
Mali [98]	48	2.1
Notre étude	37	3.07

2. Discussion des données cliniques :

La présentation clinique du neuroblastome dépend essentiellement de la localisation de la tumeur primitive. Cette dernière peut se développer à tout point du système nerveux sympathique principalement au niveau abdominal et surrénalien car ils ont riche en organes adrénergiques [36]. De notre pars, l'abdomen était le siège préférentiel des tumeurs neuroblastiques (76%) avec une atteinte majoritaire de la glande surrénale, ce qui concordent avec l'ensemble les données de la littérature et les différentes études menées à travers le monde.

Tableau 10 : Fréquence des localisations primitives du neuroblastome selon les séries.

ÉTUDE	Nombre de cas	Localisations de la tumeur primitive		
		Abdominale	Thoracique	Cervicale
Allemagne [105]	4463	79%	16%	4%
Belgique [104]	23	82.6%	17.4%	-
Espagne [102]	182	70.8%	12.9	1.7%
France [101]	46	87%	9%	2%
Notre étude	57	76%	9%	5%

3. Discussion des données histologiques :

L'analyse histologique a permis de confirmer le diagnostic du neuroblastome dans 85 à 100% des cas selon les séries [106]. Dans notre expérience, l'étude anatomopathologique a posé le diagnostic du neuroblastome chez tous les patients. L'aspect histologique le plus observé était celui du neuroblastome peu différencié (61%), suivi du neuroblastome indifférencié (32%) et du neuroblastome différenciant (7%), résultat similaire à celui rapporté en Espagne [101].

Tableau 11 : Aspects histologiques du neuroblastome selon différentes études.

	Espagne [101]	Chine [107]	Notre série
Nombre de cas	182	36	57
Neuroblastome indifférencié	19.2%	69.4%	32%
Neuroblastome peu différencié	61%		61%
Neuroblastome différenciant	6.6%	30.6%	7%

4. Discussion des données cytologiques :

Près de 60% des enfants atteints du neuroblastome ont une maladie métastatique au moment du diagnostic. La moelle osseuse représente un site électif de l'extension neuroblastique [1.2].

En France, une étude réalisée par Anne d'Andon et al portant sur 173 cas, a objectivé une atteinte de la moelle osseuse dans 20 % des cas et 49 % des cas lors d'une atteinte ostéo-médullaire [108].

En Belgique, l'envahissement médullaire a été rapporté chez 30% des cas par Piette et al [102]. Également en Chine, SHAO a démontré la présence d'une infiltration médullaire dans 30.5% des cas [107]. Ces résultats sont comparables à celui de notre étude dans laquelle l'atteinte médullaire concernait 42% des cas.

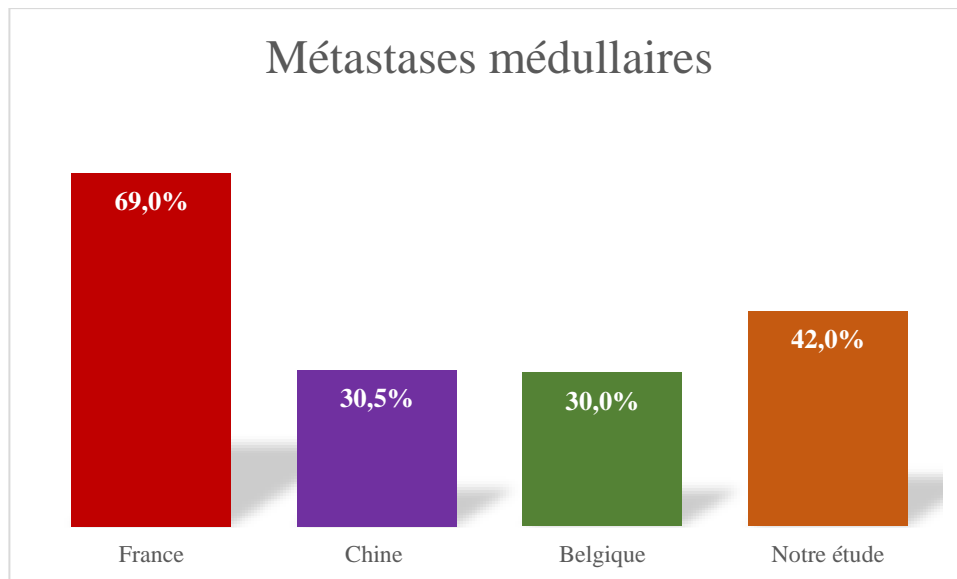


Figure 24 : Fréquence des métastases médullaires dans différentes régions.

L'âge est un facteur pronostique important pour les patients atteints de neuroblastome. La dissémination tumorale et la réponse au traitement dépendent souvent de l'âge des patients au moment du diagnostic [106]. Ainsi, l'étude menée en Chine a confirmé que le taux de rechutes et de métastases diminuait significativement chez les patients âgés de moins de 18 mois [107]. De même, DUBOIS et al. ont prouvé que les enfants dont l'âge est supérieur ou égal à un an ont plus de chance de développer des métastases médullaires par rapport aux enfants dont l'âge est inférieur à un an. Ceci est en accord avec nos résultats puisque tous les enfants ayant des atteintes médullaires avaient un âge plus de 18 mois [109].

Dans notre expérience, la fréquence des métastases médullaires n'était pas particulièrement différente entre les patients atteints de neuroblastome indifférencié ou peu différencié et ceux atteints de neuroblastome différenciant, un résultat semblable est constaté par SHAO et al [107]. Cependant, selon AMBROS et al, un MKI élevé et des nucléoles proéminents étaient associés à un mauvais pronostic et un risque accru de métastases [110].

CONCLUSION

Conclusion

Le neuroblastome est une affection maligne pédiatrique d'origine embryonnaire. Il arrive au premier rang des tumeurs solides extra-crâniennes de l'enfant. Il est caractérisé par une hétérogénéité clinique, génétique et évolutive rendant le diagnostic et le suivi très délicats. L'ampleur et l'agressivité de la tumeur dépendent de nombreux facteurs pronostiques, notamment l'âge du patient au moment du diagnostic, l'histologie de la tumeur, le stade de la maladie et l'amplification de l'oncogène MYCN. La connaissance croissante de la physiopathologie du neuroblastome et les nouveaux systèmes de stratification des patients offrent de plus en plus des possibilités de prise en charge ciblée et adéquate.

Les métastases médullaires du neuroblastome sont très fréquentes et doivent être recherchées systématiquement lors du bilan initial de la maladie. De nombreuses méthodes sont mises à notre disposition pour explorer la moelle osseuse et améliorer la détection des neuroblastes. Cependant, une lecture soignée du myélogramme de la part d'un cytologiste expérimenté, est largement suffisante pour confirmer ou infirmer la présence d'un envahissement médullaire, d'autant plus que plusieurs échantillons sont prélevés.

Le manque de certaines informations cliniques et biologiques et la non disponibilité des techniques modernes de recherche des métastases médullaires étaient les principales difficultés rencontrées au cours de la réalisation de notre travail. En outre, la biopsie ostéo-médullaire n'était pas effectuée chez tous les patients qui nous a empêché d'établir une comparaison entre les méthodes cytologique et histologique en matière d'évaluation de l'extension médullaire. Une étude globale incluant tous les moyens du diagnostic de l'invasion médullaire par les neuroblastes sera d'un grand intérêt.

Au terme de cette étude, nous avons confirmé, d'une part, la fréquence élevée de l'atteinte médullaire au cours du neuroblastome, en particulier au début de la maladie et, d'une autre part, l'importance remarquable de l'âge comme facteur prédictif de l'extension médullaire de la tumeur neuroblastique.

RÉSUMÉS

Résumé

Titre : Extension médullaire dans le neuroblastome : A propos de 57 cas.

Auteur : SEKKAL Imane.

Directeur de mémoire : Pr. AZLARAB MASRAR.

Mots clés : Neuroblastome- Métastases- Moelle osseuse- Myélogramme.

Le neuroblastome est une tumeur maligne de l'enfant, développée à partir du système nerveux sympathique. La tumeur est caractérisée par une présentation clinique variable et un pouvoir métastatique important. La mise en évidence de métastases à distance, principalement au niveau de la moelle osseuse, constitue un critère pronostique et thérapeutique majeur.

Le but de notre travail est de décrire les aspects épidémiologiques, cliniques et histologiques du neuroblastome et de déterminer le taux d'envahissement médullaire par les neuroblastes.

Il s'agit d'une étude rétrospective sur une période de 2 ans, allant du Janvier 2020 au Décembre 2021. Elle intéresse 57 cas du neuroblastome répertoriés et pris en charge à l'hôpital d'enfants de Rabat et diagnostiqués, dans le cadre d'un bilan d'extension, au Laboratoire Central d'Hématologie du CHU Ibn Sina de Rabat.

Nous avons reçu 1036 myélogrammes, dont 57 ont été réalisés pour évaluer l'extension médullaire du neuroblastome, soit une fréquence de 5.5%. L'âge moyen de nos patients était de 37 mois avec un sex-ratio de 3.09. Les localisations primitives abdominales étaient les plus fréquentes (76%) dominées par la tumeur surrénalienne (44%). L'aspect histologique le plus observé était celui du neuroblastome peu différencié (61%), suivi du neuroblastome indifférencié (32%). Les métastases médullaires étaient décelées chez 42% des cas, dont tous les patients avaient un âge supérieur à 18 mois et 79% étaient en phase initiale de la maladie.

Globalement, nos résultats sont concordants avec les données de la littérature. En effet, notre étude a montré un taux élevé de l'atteinte médullaire au moment du diagnostic et que l'âge supérieur à 18 mois est associé à un risque accru de dissémination tumorale. Par conséquent, des efforts considérables doivent être déployés en matière de sensibilisation afin de garantir un diagnostic précoce et un pronostic meilleur de la tumeur neuroblastique.

ABSTRACT

Title: Bone marrow extension in neuroblastoma: About 57 cases.

Author: SEKKAL Imane.

Supervisor: Pr. Azlarab MASRAR.

Key words: Neuroblastoma- Metastases- Bone marrow- Myelogram.

Neuroblastoma is a malignant tumor of the child, developed from the sympathetic nervous system. The tumor is characterized by a variable clinical presentation and an important metastatic power. The presence of distant metastases, mainly in the bone marrow, is a major prognostic and therapeutic criteria.

The objective of our study is to describe the epidemiological, clinical and histological aspects of neuroblastoma and to determine the rate of bone marrow invasion by neuroblasts.

This is a retrospective study over a period of 2 years, from January 2020 to December 2021. It concerns 57 cases of neuroblastoma listed and treated at the Children's Hospital of Rabat and diagnosed, as part of an extension evaluation, at the Central Laboratory of Hematology of the Ibn Sina University Hospital of Rabat.

We received 1036 myelograms, of which 57 were realized to evaluate the bone marrow extension of neuroblastoma, which represents a frequency of 5.5%. The mean age of our patients was 37 months with a sex ratio of 3.09. Primary abdominal locations were the most frequent (76%) dominated by adrenal tumor (44%). The most common histological appearance was the poorly differentiated neuroblastoma (61%), followed by undifferentiated neuroblastoma (32%). Bone marrow metastasis was detected in 42% of cases, all of which were older than 18 months and 79% were in the early phase of the disease.

Globally, our results are in accordance with the data of the literature. In fact, our study showed a high rate of bone marrow involvement at the time of diagnosis and that age greater than 18 months is associated with an increased risk of tumor dissemination. Therefore, considerable efforts should be made in terms of sensitization to ensure an early diagnosis and a better prognosis of the neuroblastic tumor.

ملخص

العنوان: الإنبثات النخاعي في الورم الأرومي العصبي: حوالى 57 حالة.

المؤلف: السقال إيمان.

مدير الأطروحة: أ. عز العرب مسرار.

الكلمات المفتاحية: الورم الأرومي العصبي- الإنبثات- نخاع العظم- تصوير نخاع العظام.

الورم الأرومي العصبي هو ورم خبيث يصيب الأطفال، ينشأ من الجهاز العصبي الودي. يتميز الورم بمظهر سريري متغير وقوة نقيلية كبيرة. يمثل إظهار النقائل البعيدة، خاصة في نخاع العظام معياراً تنبؤياً وعلاجياً رئيسياً. الهدف من عملنا هو وصف الجوانب الوبائية والسريرية والنسجية للورم الأرومي العصبي وتحديد معدل غزو نخاع العظام من قبل الخلايا العصبية.

هذه دراسة بأثر رجعي على مدى عامين، من يناير 2020 إلى ديسمبر 2021. وتتعلق 57 حالة من ورم أرومي عصبي تم إدراجها ومعالجتها في مستشفى الأطفال في الرباط وتم تشخيصها، في إطار التقييم الموسع، في مختبر أمراض الدم المركزي بالمركز الاستشفائي الجامعي ابن سينا بالرباط.

تلقينا 1036 صورة نخاع العظام، 57 منها أجريت لتقييم الامتداد النخاعي للورم الأرومي العصبي، أي بمعدل 5.5%. كان متوسط عمر مرضانا 37 شهراً مع هيمنة مطلقة للذكور. كانت مواقع البطن الأولية هي الأكثر شيوعاً (76%) التي يسيطر عليها ورم الغدة الكظرية (44%). كان المظهر النسيجي الأكثر ملاحظة هو ورم أرومي عصبي ضعيف التمايز (61%)، يليه ورم أرومي عصبي غير متميز (32%). تم الكشف عن نقائل نخاع العظام في 42% من الحالات، وكان جميع المرضى أكبر من 18 شهراً وكان 79% منهم في المرحلة الأولية من المرض. بشكل عام، نتائجنا متوافقة مع بيانات الأدبيات. في الواقع، أظهرت دراستنا ارتفاع معدل إصابة النخاع العظمي في وقت التشخيص، وأن العمر الذي يزيد عن 18 شهراً يرتبط بزيادة خطر انتشار الورم. لذلك، يجب بذل جهود كبيرة في التوعية لضمان التشخيص المبكر والتطور الأفضل للورم العصبي.

RÉFÉRENCES

- [1] John M et al. Recent Advances in Neuroblastoma. *N Engl J Med* 2010; 362:2202-11.
- [2] Maris JM, Hogarty MD, Bagatell R, Cohn SL. Neuroblastoma. *The Lancet*. 2007 Jun 23; 369:2106–20.
- [3] Rubie H. Neuroblastome. *Encyclopédie médico chirurgicale de pédiatrie* 2001 ; 4 : 12.
- [4] D. COUANET, D. VALTEAU-COUANET, Neuroblastome. *Encycl Med Chir (Paris), Pédiatrie*, 4-100-E-80, 2006, 15.
- [5] Davidoff AM. Neuroblastoma. *Seminars in Pediatric Surgery*. 2012 Feb; 21(1):2–14.
- [6] Y. Pérel et al. Le pronostic du neuroblastome de l'enfant. *Méthodes d'étude et utilisation en pratique clinique. Archives de pédiatrie* 11 (2004) 834–842.
- [7] Keikhaei B, Pedram M, Popak B, et al. Signs and symptoms of Neuroblastoma. *Journal of Medicine and Medical Science* 2012; 3(4): 243-246.
- [8] Rousseau. R, Wittmann, S V. Combaret. Neuroblastome de l'enfant : challenges et perspectives. *Oncologie* 2006; 8: 580–586.
- [9] Morandi, F., M.V. Corrias & V. Pistoia. 2015. Evaluation of bone marrow as a metastatic site of human neuroblastoma. In “MARROW,” ed. by M. Zaidi. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1335: 23–31.
- [10] Aronica PA, Pirrotta VT, Yunis EJ, Penchansky L. Detection of neuroblastoma in the bone marrow: biopsy versus aspiration. *J Pediatr Hematol Oncol*. 1998; 20:330-334.
- [11] Schleiermacher G, Janoueix-Lerosey I, Delattre O. Recent insights into the biology of neuroblastoma. *Int J Cancer*. 2014 Nov 15;135(10):2249–61.
- [12] CLAUDIU V. COTTA, MD, PHD, SERGEJ KONOPLEV, MD, PHD, L. JEFFREY MEDEIROS, MD, CARLOS E. BUESO-RAMOS, MD, PHD, metastatic tumors in bone marrow: histopathology and advances in the biology of the tumor cells and bone marrow environment, *Annals of Diagnostic Pathology* 10 (2006) 169-192.
- [13] D. PLANTAZ, D. PASQUIER, J.F. DYON, M. FAVROT, M. BOST, Neuroblastomes : aspects cliniques, biologiques et thérapeutiques actuels, *Médecine Nucléaire - Imagerie*

fonctionnelle et métabolique, vol.25 - n°4, 2001.

[14] Plantaz D.— Neuroblastome ou sympathoblastome, janvier 2004. Université de Médecine de Grenoble.

[15] Esiashvili N, Goodman M, Ward K, Marcus RB, Johnstone PAS. Neuroblastoma in adults: Incidence and survival analysis based on SEER data. *Pediatr Blood Cancer*. 2007 Jul;49(1):41–6.

[16] Lacour B, Guyot-Goubin A, Guissou S, Bellec S, Désandes E, Clavel J. Incidence of childhood cancer in France: National Children Cancer Registries, 2000-2004. *Eur J Cancer Prev*. 2010 May;19(3):173–81.

[17] Schilling FH, Spix C, Berthold F, Erttmann R, Fehse N, Hero B, et al. Neuroblastoma screening at one year of age. *N Engl J Med*. 2002 Apr 4;346(14):1047–53.

[18] Interiano RB, Davidoff AM. Current Management of Neonatal Neuroblastoma. *Curr Pediatr Rev*. 2015;11(3):179–87.

[19] Heck JE, Ritz B, Hung RJ, Hashibe M, Boffetta P. The epidemiology of neuroblastoma: a review. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2009 Mar;23(2):125–43.

[20] Hesseling P. B, Ankone K, Wessels G, Schneider J. W, Du Plessis L, Moore S. Neuroblastoma in southern Africa: epidemiological features, prognostic factors and outcome. *Annals of Tropical Paediatrics* 1999; 19: 357-363.

[21] Barahioui M, Fehri M, Hessissen L, Zamiaty S. Les neuroblastomes. *Revue Marocaine des maladies de l'enfant*. 2004 ;4 :46-55.

[22] Parsons LN, Gheorghe G, Yan K, Simpson P, Jarzembowski JA. Improving detection of metastatic neuroblastoma in bone marrow core biopsies: a proposed immunohistochemical approach. *Pediatr Dev Pathol*. 2016; 19:230-236.

[23] Schilling, F.H., C. Spix, F. Berthold, R. Erttmann, J. Sander, J. Treuner, and J. Michaelis. 2003. Children may not benefit from neuroblastoma screening at 1 year of age. Updated results of the population based controlled trial in Germany. *Cancer letters*. 197:19–28.

[24] Tsubono, Y., and S. Hisamichi. 2004. A halt to neuroblastoma screening in Japan. *The*

New England journal of medicine. 350:2010–1.

[25] Brodeur GM. Neuroblastoma: biological insights into a clinical enigma. *Nature reviews* 2003;3: 203-16.

[26] Thiele CJ. Neuroblastoma: In (Ed.) Masters, J. *Human Cell Culture*. Lancaster, UK: Kluwer Academic Publishers; 1998.

[27] TONINI, Gian Paolo, LONGO, Luca, COCO, Simona, *et al.* Familial neuroblastoma: a complex heritable disease. *Cancer letters*, 2003, vol. 197, no 1-2, p. 41-45.

[28] Mosse YP, Laudenslager M, Longo L, et al. Identification of ALK as a major familial neuroblastoma predisposition gene. *Nature* 2008;455: 930-5.

[29] Bachetti, T., D. Di Paolo, S. Di Lascio, V. Mirisola, C. Brignole, M. Bellotti, I. Caffa, C. Ferraris, M. Fiore, D. Fornasari, R. Chiarle, S. Borghini, U. Pfeffer, M. Ponzoni, I. Ceccherini, and P. Perri. 2010. PHOX2B-mediated regulation of ALK expression: in vitro identification of a functional relationship between two genes involved in neuroblastoma. *PLoS ONE*. 5.

[30] Bosse KR, Diskin SJ, Cole KA, Wood AC, Schnepf RW, Norris G, et al. Common Variation at BARD1 Results in the Expression of an Oncogenic Isoform That Influences Neuroblastoma Susceptibility and Oncogenicity. *Cancer Research*. 2012 Apr 15 ;72(8) :2068–78.

[31] Janoueix-Lerosey I, Schleiermacher G, Michels E, Mosseri V, Ribeiro A, Lequin D, et al. Overall Genomic Pattern Is a Predictor of Outcome in Neuroblastoma. *J Clin Oncol*. 2009 Mar 1 ; 27(7) :1026–33.

[32] JANOUEIX-LEROSEY, I., BRUGIÈRES, L., et DELATTRE, O. Nouvelles données sur l'origine génétique du neuroblastome. *Médecine & enfance*, 2009, vol. 29, no 10, p. 475-479.

[33] Esiashvili, N., C. Anderson, and H.M. Katzenstein. 2009. Neuroblastoma. *Current problems in cancer*. 33 :333–60.

[34] MORDANT, P., LE PIMPEC-BARTHES, F., et RIQUET, M. Tumeurs nerveuses du médiastin de l'adulte. *Revue de Pneumologie clinique*, 2010, vol. 66, no 1, p. 81-94.

[35] ALLALI, N. et DAFIRI, R. RP20 Neuroblastomes pelviens. *Journal de Radiologie*, 2004,

vol. 85, no 9, p. 1562.

[36] BOUSSETTA, K., ZERZERI-BRINI, I., FALFOUL, A., et al. Le neuroblastome de l'enfant : Difficultés diagnostiques. A propos d'une observation. Revue maghrébine de pédiatrie, 2001, vol. 11, no 4, p. 219-222.

[37] Yoram Gueniche, Aurore Coulomb, Sabine Irtan, Julie Lemale, Guy Leverger, Sabah Boudjemaa, Diarrhée aqueuse chronique chez l'enfant : une étiologie à ne pas méconnaître, Annales de Pathologie, 2022,

[38] EL JAZIRI, Hanane. Les métastases médullaires des cancers : aspects hématologiques. 2013. Thèse de doctorat.

[39] DESTOMBE, Claire, BOTTON, Estelle, LE GAL, Grégoire, et al. Intérêt des différents moyens diagnostiques pour la recherche du cancer primitif devant une métastase osseuse. Revue du rhumatisme, 2007, vol. 74, no 1, p. 92-97.

[40] SIVAPATHASUNDARAM, A., NICOLAS, N., TISSOT, H., et al. Nodules de régénération et métastases hépatiques de neuroblastome : comparaison de deux cas. Médecine Nucléaire, 2022, vol. 46, no 2, p. 64-65.

[41] CHELLAOUI, M., NIOMBELLA, T. H., CHAT, L., et al. RP28 Métastases inhabituelles dans le neuroblastome : nodules rénaux. Journal de Radiologie, 2005, vol. 86, no 10, p. 1568.

[42] KERDUDO, C., CORRADINI, N., MICHON, J., et al. Neuroblastome surrénalien bilatéral et syndrome de Pepper : à propos de quatre observations. Archives de pédiatrie, 2004, vol. 11, no 12, p. 1450-1456.

[43] ALOUI-KASBI, N., FELAH, S., BELLAGHA, I., et al. Le neuroblastome : apport de l'imagerie. Journal de pédiatrie et de puériculture, 2004, vol. 17, no 1, p. 28-33.

[44] MATRANE, A., BSISS, M. A., EL ISSAMI, S., et al. Impact diagnostique de l'imagerie hybride TEMP/TDM dans la prise en charge des neuroblastomes. Expérience du service de médecine nucléaire du CHU Mohammed VI de Marrakech. Médecine Nucléaire, 2013, vol. 37, no 10-11, p. 477-485.

[45] HORSMANS, Yves, DESAGER, Jean-Pierre, et HARVENGT, C. Sensibilité et spécificité

du dosage des catécholamines urinaires et de leurs métabolites acides dans le diagnostic du neuroblastome chez l'enfant. Bulletin du cancer, 1990, vol. 77, no 10, p. 985.

[46] CANDITO, M., BILLAUD, E., CHAUFFERT, M., et al. Diagnostic biochimique du phéochromocytome et du neuroblastome. In : Annales de biologie clinique. 2002. p. 15-36.

[47] Lonergan GJ, Schwab CM, Suarez ES, Carlson CL. Neuroblastoma, Ganglioneuroblastoma, and Ganglioneuroma: Radiologic-Pathologic Correlation. Radio Graphics. 2002 Jul; 22(4):911–34.

[48] MCCARVILLE, M. B. Imaging neuroblastoma: what the radiologist needs to know. Cancer Imaging, 2011, vol. 11, no 1A, p. S44.

[49] SRIDI, S. et CHARFI, H. Étude comparative entre la TDM et la scintigraphie à la MIBG dans le bilan d'extension du neuroblastome. In : Annales d'Endocrinologie. Elsevier Masson, 2016. p. 425.

[50] PEIN, F., HARTMANN, O., SAKIROGLU, C., et al. Recherche d'un envahissement de la moelle osseuse lors du diagnostic de tumeur solide chez l'enfant. Méthodes, résultats et interprétation. Archives de pédiatrie, 1995, vol. 2, no 6, p. 580-588.

[51] MANENQ, Christine. Évaluation de la détection des cellules métastatiques médullaires de neuroblastome par cytométrie en flux multiparamétrique. 2016. Thèse de doctorat. Université de Lorraine.

[52] Huang, R., N.K. Cheung, J. Vider, et al. 2011. MYCN and MYC regulate tumor proliferation and tumorigenesis directly through BMI1 in human neuroblastomas. FASEB J. 25: 4138–4149.

[53] Svensson K, Zeidman R, Trollér U, Schultz A, Larsson C. Protein kinase C beta1 is implicated in the regulation of neuroblastoma cell growth and proliferation. Cell Growth Differ. 2000 Dec;11(12):641–8.

[54] Teitz, T., M. Inoue, M.B. Valentine, et al. 2013. Th-MYCN mice with caspase-8 deficiency develop advanced neuroblastoma with bone marrow metastasis. Cancer Res. 73 : 4086– 4097.

[55] Wan, T.S., E.S. Ma, G.C. Chan, et al. 2004. Investigation of MYCN status in

neuroblastoma by fluorescence in situ hybridization. *Int. J. Mol. Med.* 14 : 981–987.

[56] KHALLOUFI, N., OULAHYANE, R., BARKIYOU, M., et al. ASPECTS CYTOGENETIQUES ET MOLECULAIRES DU NEUROBLASTOME. *Journal Marocain des Sciences Médicales*, 2009, vol. 16, no 4.

[57] Attiyeh, E.F., W.B. London, Y.P. Mosse, Q. Wang, C. Winter, D. Khazi, P.W. McGrady, R.C. Seeger, A.T. Look, H. Shimada, G.M. Brodeur, S.L. Cohn, K.K. Matthay, and J.M. Maris. 2005. Chromosome 1p and 11q deletions and outcome in neuroblastoma. *The New England journal of medicine.* 353:2243–53.

[58] MORA, Jaume, LAVARINO, Cinzia, ALAMINOS, Miguel, et al. Comprehensive analysis of tumoral DNA content reveals clonal ploidy heterogeneity as a marker with prognostic significance in locoregional neuroblastoma. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 2007, vol. 46, no 4, p. 385-396.

[59] SOKOL, Elizabeth et DESAI, Ami V. The evolution of risk classification for neuroblastoma. *Children*, 2019, vol. 6, no 2, p. 27.

[60] Brodeur GM, Pritchard J, Berthold F, Carlsen NL, Castel V, Castelberry RP, et al. Revisions of the international criteria for neuroblastoma diagnosis, staging, and response to treatment. *J Clin Oncol* 1993; 11:1466–77.

[61] Cohn SL, Pearson AD, London WB, et al: The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) classification system: An INRG Task Force report. *J Clin Oncol* 27 :289-297, 2009.

[62] Peuchmaur M. Les tumeurs neuroblastiques périphériques, classification anatomopathologique. *Ann Pathol* 2004; 24: 556-67.

[63] Taggart DR, London WB, Schmidt ML, DuBois SG, Monclair TF, Nakagawara A, et al. Prognostic Value of the Stage 4S Metastatic Pattern and Tumor Biology in Patients With Metastatic Neuroblastoma Diagnosed Between Birth and 18 Months of Age. *J Clin Oncol.* 2011 Nov 20;29(33):4358–64.

[64] Peuchmaur M, d'Amore ESG, Joshi VV, Hata J, Roald B, Dehner LP, et al. Revision of the International Neuroblastoma Pathology Classification: Confirmation of favorable and

unfavorable prognostic subsets in ganglioneuroblastoma, nodular. *Cancer*. 2003 Nov 15; 98(10):2274–81.

[65] Pinto NR, Applebaum MA, Volchenbom SL, Matthay KK, London WB, Ambros PF, et al. Advances in Risk Classification and Treatment Strategies for Neuroblastoma. *J Clin Oncol*. 2015 Sep 20;33(27):3008–17.

[66] IRWIN, Meredith S., NARANJO, Arlene, ZHANG, Fan F., et al. Revised neuroblastoma risk classification system: A report from the children's oncology group. *Journal of Clinical Oncology*, 2021, vol. 39, no 29, p. 3229-3241.

[67] MONCLAIR, Tom, BRODEUR, Garrett M., AMBROS, Peter F., et al. The international neuroblastoma risk group (INRG) staging system: an INRG task force report. *Journal of clinical oncology*, 2009, vol. 27, no 2, p. 298.

[68] MUELLER, Sabine et MATTHAY, Katherine K. Neuroblastoma: biology and staging. *Current oncology reports*, 2009, vol. 11, no 6, p. 431-438.

[69] FERRARO, Simona, BRAGA, Federica, LUKSCH, Roberto, et al. Measurement of serum neuron-specific enolase in neuroblastoma: is there a clinical role?. *Clinical Chemistry*, 2020, vol. 66, no 5, p. 667-675.

[70] MACFARLAND, Suzanne et BAGATELL, Rochelle. Advances in neuroblastoma therapy. *Current opinion in pediatrics*, 2019, vol. 31, no 1, p. 14-20.

[71] TONINI, Gian Paolo, NAKAGAWARA, Akira, et BERTHOLD, Frank. Towards a turning point of neuroblastoma therapy. *Cancer Letters*, 2012, vol. 326, no 2, p. 128-134.

[72] TOLBERT, Vanessa P. et MATTHAY, Katherine K. Neuroblastoma: clinical and biological approach to risk stratification and treatment. *Cell and tissue research*, 2018, vol. 372, no 2, p. 195-209.

[73] VALTEAU-COUANET, Dominique, SCHLEIERMACHER, Gudrun, SARNACKI, Sabine, et al. High-risk neuroblastoma treatment strategy: The experience of the SIOPEN group. *Bulletin du Cancer*, 2018, vol. 105, no 10, p. 918-924.

[74] Koster, D.A., K. Palle, E.S.M. Bot, M.-A. Bjornsti, and N.H. Dekker. 2007. Antitumour

drugs impede DNA uncoiling by topoisomerase I. *Nature*. 448:213–217.

[75] Ducassou A, Gambart M, Munzer C, Padovani L, Carrie C, Haas-Kogan D, et al. Long-term side effects of radiotherapy for pediatric localized neuroblastoma: Results from clinical trials NB90 and NB94. *Strahlentherapie und Onkologie*. 2015 Jul; 191(7):604–12.

[76] Yu AL, Gilman AL, Ozkaynak MF, London WB, Kreissman SG, Chen HX, et al. Anti-GD2 Antibody with GM-CSF, Interleukin-2, and Isotretinoin for Neuroblastoma. *N Engl J Med*. 2010 Sep 30;363(14):1324–34.

[77] PARK, Julie R., BAGATELL, Rochelle, COHN, Susan L., et al. Revisions to the international neuroblastoma response criteria: a consensus statement from the National Cancer Institute clinical trials planning meeting. *Journal of Clinical Oncology*, 2017, vol. 35, no 22, p. 2580.

[78] OLECKI, Elizabeth et GRANT, Christa N. MIBG in neuroblastoma diagnosis and treatment. *Seminars in pediatric surgery*. WB Saunders, 2019. p. 150859.

[79] MOSS, Thomas J., REYNOLDS, C. Patrick, SATHER, Harland N., et al. Prognostic value of immunocytologic detection of bone marrow metastases in neuroblastoma. *New England Journal of Medicine*, 1991, vol. 324, no 4, p. 219-226.

[80] FISH, J. D. et GRUPP, SAy. Stem cell transplantation for neuroblastoma. *Bone marrow transplantation*, 2008, vol. 41, no 2, p. 159-165.

[81] BURCHILL, Susan A., BEISKE, Klaus, SHIMADA, Hiroyuki, et al. Recommendations for the standardization of bone marrow disease assessment and reporting in children with neuroblastoma on behalf of the International Neuroblastoma Response Criteria Bone Marrow Working Group. *Cancer*, 2017, vol. 123, no 7, p. 1095-1105.

[82] Favrot MC, Frappaz D, Maritaz O, et al. Histological, cytological and immunological analyses are complementary for the detection of neuroblastoma cells in bone marrow. *Br J Cancer*. 1986 ;54 : 637-641.

[83] ABELLA-BOURGÈS N, TRUMEL C, CHABANNE L et al. Myélogramme et biopsie de moelle osseuse. *EMC-Vétérinaire*, 2005, vol. 2, no 2, p. 74-95.

- [84] Komada Y, Azuma E, Kamiya H, Sakurai M. Phenotypic profile of human neuroblastoma cell lines: association with morphological characteristics. *Br J Cancer*. 1986 Oct;54(4):711-5.
- [85] COTTA CLAUDIU V et al. "Metastatic tumors in bone marrow: histopathology and advances in the biology of the tumor cells and bone marrow environment." *Annals of diagnostic pathology* 10.3 (2006): 169-192.
- [86] Parsons LN, Gheorghe G, Yan K, Simpson P, Jarzembowski JA. Improving detection of metastatic neuroblastoma in bone marrow core biopsies: a proposed immunohistochemical approach. *Pediatr Dev Pathol*. 2016; 19:230-236.
- [87] Beiske K, Burchill SA, Cheung IY, et al; International Neuroblastoma Risk Group Task Force. Consensus criteria for sensitive detection of minimal neuroblastoma cells in bone marrow, blood and stem cell preparations by immunocytology and QRT-PCR: recommendations by the International Neuroblastoma Risk Group Task Force. *Br J Cancer*. 2009; 100:1627-1637.
- [88] Burchill SA, Lewis IJ, Abrams KR, Riley R, Imeson J, Pearson AD, et al. Circulating neuroblastoma cells detected by reverse transcriptase polymerase chain reaction for tyrosine hydroxylase mRNA are an independent poor prognostic indicator in stage 4 neuroblastoma in children over 1 year. *J Clin Oncol*. 2001 Mar 15; 19(6):1795–801.
- [89] TRAGER, Catarina, KOGNER, Per, LINDSKOG, MAGNUS, et al. Quantitative analysis of tyrosine hydroxylase mRNA for sensitive detection of neuroblastoma cells in blood and bone marrow. *Clinical chemistry*, 2003, vol. 49, no 1, p. 104-112.
- [90] Ferreira-Facio CS, Milito C, Botafogo V, Fontana M, Thiago LS, Oliveira E, et al. Contribution of Multiparameter Flow Cytometry Immunophenotyping to the Diagnostic Screening and Classification of Pediatric Cancer. Aziz SA, editor. *PLoS ONE*. 2013 Mar 5; 8(3): e55534.
- [91] Warzynski MJ, Graham DM, Axtell RA, Higgins JV, Hammers YA. Flow cytometric immunophenotyping test for staging/monitoring neuroblastoma patients. *Cytometry*. 2002 Dec 15 ;50(6) :298–304.
- [92] MANENQ, Christine, LESESVE, Jean-François, DREUMONT, Natacha, et al. Combined

use of multiparametric flow cytometry and cytomorphology to enhance detection of neuroblastoma metastatic cells in bone marrow. *International Journal of Laboratory Hematology*, 2020, vol. 42, no 1, p. 52-60.

[93] Schumacher-Kuckelkorn R, Volland R, Gradehandt A, Hero B, Simon T, Berthold F Lack of immunocytological GD2 expression on neuroblastoma cells in bone marrow at diagnosis, during treatment and at recurrence. *Pediatric Blood & Cancer*. 2016; DOI 10.1002/pbc.26184.

[94] MÉHES, Gabor, LUEGMAYR, Andrea, KORNMÜLLER, Rosa, et al. Detection of disseminated tumor cells in neuroblastoma: 3 log improvement in sensitivity by automatic immunofluorescence plus FISH (AIPF) analysis compared with classical bone marrow cytology. *The American journal of pathology*, 2003, vol. 163, no 2, p. 393-399.

[95] LJUNGMAN, Gustaf, JAKOBSON, Åke, BEHRENDTZ, Mikael, et al. Incidence and survival analyses in children with solid tumours diagnosed in Sweden between 1983 and 2007. *Acta paediatrica*, 2011, vol. 100, no 5, p. 750-757.

[96] PARK, Julie R., EGGERT, Angelika, et CARON, Huib. Neuroblastoma: biology, prognosis, and treatment. *Pediatric Clinics of North America*, 2008, vol. 55, no 1, p. 97-120.

[97] JANKOWSKI, M., DRESSE, Marie-Françoise, FORGET, Patricia, et al. Épidémiologie des cancers de l'enfant, une étude monocentrique (1985-2016). *Revue Médicale de Liège*, 2019, vol. 74, no 3.

[98] Traoré F, Eshun F, Togo B, et al. Neuroblastoma in Africa: A Survey by the Franco-African Pediatric Oncology Group. *Journal of Global Oncology*, 2016; JGO001214.

[99] Ochicha O, Gwarzo A, & Gwarzo D. Pediatric malignancies in Kano, northern Nigeria. *World Journal of Pediatrics* 2012; 8(3), 235-239.

[100] Stiller CA, & Parkin DM. International variations in the incidence of neuroblastoma. *International journal of cancer* 1992 ; 52(4) : 538-543.

[101] ROMINA COSTANZIA. Évolution de la prise en charge diagnostique et thérapeutique des neuroblastomes métastatiques au cours des 25 dernières années, thèse pour obtenir le grade de Docteur en Médecine, Faculté de Médecine de Nancy, le 10 Septembre 2012.

- [102] BURGUES, Octavio, NAVARRO, Samuel, NOGUERA, Rosa, et al. Prognostic value of the International Neuroblastoma Pathology Classification in Neuroblastoma (Schwannian stroma-poor) and comparison with other prognostic factors: a study of 182 cases from the Spanish Neuroblastoma Registry. *Virchows Archiv*, 2006, vol. 449, no 4, p. 410-420.
- [103] Hesselning PB, Ankone K, Wessels G, et al. Neuroblastoma in southern Africa: Epidemiological features, prognostic factors and outcome. *Annals of Tropical Paediatrics : International Child Health*, 1999 ; 19(4): 357-363.
- [104] PIETTE, Catherine, DRESSE, Marie-Françoise, FORGET, Patricia, et al. Les neuroblastomes de l'enfant. A propos de 23 cas. *Revue Médicale de Liège*, 2005, vol. 60, no 3.
- [105] BERTHOLD, Frank, SPIX, Claudia, KAATSCH, Peter, et al. Incidence, survival, and treatment of localized and metastatic neuroblastoma in Germany 1979–2015. *Pediatric Drugs*, 2017, vol. 19, no 6, p. 577-593.
- [106] TEMPLE, William C., VO, Kieuhoa T., MATTHAY, Katherine K., et al. Association of image-defined risk factors with clinical features, histopathology, and outcomes in neuroblastoma. *Cancer medicine*, 2021, vol. 10, no 7, p. 2232-2241.
- [107] SHAO, Jing Bo, LU, Zheng Hua, HUANG, Wen Yan, et al. A single center clinical analysis of children with neuroblastoma. *Oncology Letters*, 2015, vol. 10, no 4, p. 2311-2318.
- [108] DR. ANNE D'ANDON, DR. FRANÇOIS PEIN, DR. DOMINIQUE VALTEAU-COUANET, DR. DOMINIQUE COUANET, DR. OLIVIER HARTMANN. *Le neuroblastome*, Institut Gustave-Roussy, septembre 2004.
- [109] DUBOIS, Steven G., KALIKA, Yan, LUKENS, John N., et al. Metastatic sites in stage IV and IVS neuroblastoma correlate with age, tumor biology, and survival. *Journal of pediatric hematology/oncology*, 1999, vol. 21, no 3, p. 181-189.
- [110] Ambros IM, Hata J, Joshi VV, Roald B, Dehner LP, Tüchler H, Pötschger U and Shimada H: Morphologic features of neuro- blastoma (Schwannian stroma-poor tumors) in clinically favorable and unfavorable groups. *Cancer* 94: 1574-1583, 2002.