

UNIVERSITE MOHAMMED V
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT-

ANNEE: 2012

THESE N°: 137

**LES PARTICULARITES GENETIQUES
DU NEUROBLASTOME**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le :.....

PAR

Mlle. Fatima Zahra RHOUNI

Née le 12 Août 1986 à Kénitra

Pour l'Obtention du Doctorat en Médecine

MOTS CLES: Neuroblastome – Altérations génétiques – Pronostic.

JURY

Mr. M. KHATTAB

Professeur de Pédiatrie

Mr. O. CHOKAIRI

Professeur d'Histologie-Embryologie

Mme. S. SEFIANI

Professeur d'Anatomie Pathologique

Mr. M. ABDELHAK

Professeur de Chirurgie Pédiatrique

PRESIDENT

RAPPORTEUR

JUGES

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا
إنك أنت العليم الحكيم

اللهم
صلى الله
عليه وسلم

سورة البقرة: الآية: 32

اللهم إنا نسألك علما نافعا وقلبا خاشعا وشفاء
من كل داء وسقم





UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Docteur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI

ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Najia HAJJAJ
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes
Professeur Mohammed JIDDANE
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Ali BENOMAR
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Yahia CHERRAH
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

PROFESSEURS :

Février, Septembre, Décembre 1973

1. Pr. CHKILI Taieb Neuropsychiatrie

Janvier et Décembre 1976

2. Pr. HASSAR Mohamed Pharmacologie Clinique

Mars, Avril et Septembre 1980

3. Pr. EL KHAMLI Abdeslam Neurochirurgie

4. Pr. MESBAHI Redouane Cardiologie

Mai et Octobre 1981

5. Pr. BOUZOUBAA Abdelmajid Cardiologie
6. Pr. EL MANOUAR Mohamed Traumatologie-Orthopédie
7. Pr. HAMANI Ahmed* Cardiologie
8. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih Chirurgie Cardio-Vasculaire
9. Pr. SBIHI Ahmed Anesthésie – Réanimation
10. Pr. TAOBANE Hamid* Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

11. Pr. ABROUQ Ali* Oto-Rhino-Laryngologie

- | | | |
|-----|------------------------------|-----------------------------|
| 12. | Pr. BENOMAR M'hammed | Chirurgie-Cardio-Vasculaire |
| 13. | Pr. BENSOUDA Mohamed | Anatomie |
| 14. | Pr. BENOSMAN Abdellatif | Chirurgie Thoracique |
| 15. | Pr. LAHBABI ép. AMRANI Naïma | Physiologie |

Novembre 1983

- | | | |
|-----|-------------------------------|---------------------|
| 16. | Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir* | Pneumo-phtisiologie |
| 17. | Pr. BALAFREJ Amina | Pédiatrie |
| 18. | Pr. BELLAKHDAR Fouad | Neurochirurgie |
| 19. | Pr. HAJJAJ ép. HASSOUNI Najia | Rhumatologie |
| 20. | Pr. SRAIRI Jamal-Eddine | Cardiologie |

Décembre 1984

- | | | |
|-----|----------------------------------|-------------------------|
| 21. | Pr. BOUCETTA Mohamed* | Neurochirurgie |
| 22. | Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil | Radiothérapie |
| 23. | Pr. MAAOUNI Abdelaziz | Médecine Interne |
| 24. | Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi | Anesthésie -Réanimation |
| 25. | Pr. NAJI M'Barek * | Immuno-Hématologie |
| 26. | Pr. SETTAF Abdellatif | Chirurgie |

Novembre et Décembre 1985

- | | | |
|-----|---------------------------------------|---|
| 27. | Pr. BENJELLOUN Halima | Cardiologie |
| 28. | Pr. BENS Aid Younes | Pathologie Chirurgicale |
| 29. | Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa | Neurologie |
| 30. | Pr. IHRAI Hssain * | Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale |
| 31. | Pr. IRAQI Ghali | Pneumo-phtisiologie |
| 32. | Pr. KZADRI Mohamed | Oto-Rhino-laryngologie |

Janvier, Février et Décembre 1987

- | | | |
|-----|--------------------------------------|------------------------------|
| 33. | Pr. AJANA Ali | Radiologie |
| 34. | Pr. AMMAR Fanid | Pathologie Chirurgicale |
| 35. | Pr. CHAHED OUZZANI Houria ép.TAOBANE | Gastro-Entérologie |
| 36. | Pr. EL FASSY FIHRI Mohamed Taoufiq | Pneumo-phtisiologie |
| 37. | Pr. EL HAITEM Naïma | Cardiologie |
| 38. | Pr. EL MANSOURI Abdellah* | Chimie-Toxicologie Expertise |
| 39. | Pr. EL YAACOUBI Moradh | Traumatologie Orthopédie |
| 40. | Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah | Gastro-Entérologie |
| 41. | Pr. LACHKAR Hassan | Médecine Interne |
| 42. | Pr. OHAYON Victor* | Médecine Interne |
| 43. | Pr. YAHYAOUI Mohamed | Neurologie |

Décembre 1988

- | | | |
|-----|---------------------------------|-----------------------|
| 44. | Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib | Chirurgie Pédiatrique |
| 45. | Pr. DAFIRI Rachida | Radiologie |
| 46. | Pr. FAIK Mohamed | Urologie |

- | | | |
|-----|---------------------|--------------------------|
| 47. | Pr. HERMAS Mohamed | Traumatologie Orthopédie |
| 48. | Pr. TOLOUNE Farida* | Médecine Interne |

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

- | | | |
|-----|------------------------------------|--------------------------|
| 49. | Pr. ADNAOUI Mohamed | Médecine Interne |
| 50. | Pr. AOUNI Mohamed | Médecine Interne |
| 51. | Pr. BENAMEUR Mohamed* | Radiologie |
| 52. | Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali | Cardiologie |
| 53. | Pr. CHAD Bouziane | Pathologie Chirurgicale |
| 54. | Pr. CHKOFF Rachid | Pathologie Chirurgicale |
| 55. | Pr. FARCHADO Fouzia ép.BENABDELLAH | Pédiatrie |
| 56. | Pr. HACHIM Mohammed* | Médecine-Interne |
| 57. | Pr. HACHIMI Mohamed | Urologie |
| 58. | Pr. KHARBACH Aïcha | Gynécologie -Obstétrique |
| 59. | Pr. MANSOURI Fatima | Anatomie-Pathologique |
| 60. | Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda | Neurologie |
| 61. | Pr. SEDRATI Omar* | Dermatologie |
| 62. | Pr. TAZI Saoud Anas | Anesthésie Réanimation |

Février Avril Juillet et Décembre 1991

- | | | |
|-----|-------------------------------------|--|
| 63. | Pr. AL HAMANY Zaïtounia | Anatomie-Pathologique |
| 64. | Pr. ATMANI Mohamed* | Anesthésie Réanimation |
| 65. | Pr. AZZOUZI Abderrahim | Anesthésie Réanimation |
| 66. | Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM | Néphrologie |
| 67. | Pr. BELKOUCHI Abdelkader | Chirurgie Générale |
| 68. | Pr. BENABDELLAH Chahrazad | Hématologie |
| 69. | Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif | Chirurgie Générale |
| 70. | Pr. BENSOUDA Yahia | Pharmacie galénique |
| 71. | Pr. BERRAHO Amina | Ophtalmologie |
| 72. | Pr. BEZZAD Rachid | Gynécologie Obstétrique |
| 73. | Pr. CHABRAOUI Layachi | Biochimie et Chimie |
| 74. | Pr. CHANA El Houssaine* | Ophtalmologie |
| 75. | Pr. CHERRAH Yahia | Pharmacologie |
| 76. | Pr. CHOKAIRI Omar | Histologie Embryologie |
| 77. | Pr. FAJRI Ahmed* | Psychiatrie |
| 78. | Pr. JANATI Idrissi Mohamed* | Chirurgie Générale |
| 79. | Pr. KHATTAB Mohamed | Pédiatrie |
| 80. | Pr. NEJMI Maati | Anesthésie-Réanimation |
| 81. | Pr. OUAALINE Mohammed* | Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène |
| 82. | Pr. SOULAYMANI Rachida ép.BENCHEIKH | Pharmacologie |
| 83. | Pr. TAOUFIK Jamal | Chimie thérapeutique |

Décembre 1992

- | | | |
|-----|---------------------|--------------------|
| 84. | Pr. AHALLAT Mohamed | Chirurgie Générale |
| 85. | Pr. BENOUDA Amina | Microbiologie |

86. Pr. BENSOUDA Adil
87. Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
88. Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza
89. Pr. CHRAIBI Chafiq
90. Pr. DAOUDI Rajae
91. Pr. DEHAYNI Mohamed*
92. Pr. EL HADDOURY Mohamed
93. Pr. EL OUAHABI Abdessamad
94. Pr. FELLAT Rokaya
95. Pr. GHAFIR Driss*
96. Pr. JIDDANE Mohamed
97. Pr. OUZZANI TAIBI Med Charaf Eddine
98. Pr. TAGHY Ahmed
99. Pr. ZOUHDI Mimoun

Anesthésie Réanimation
Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Anesthésie Réanimation
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale
Microbiologie

Mars 1994

100. Pr. AGNAOU Lahcen
101. Pr. AL BAROUDI Saad
102. Pr. BENCHERIFA Fatiha
103. Pr. BENJAAFAR Nouredine
104. Pr. BENJELLOUN Samir
105. Pr. BEN RAIS Nozha
106. Pr. CAOUI Malika
107. Pr. CHRAIBI Abdelmjid
108. Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT
109. Pr. EL AOUDAD Rajae
110. Pr. EL BARDOUNI Ahmed
111. Pr. EL HASSANI My Rachid
112. Pr. EL IDRISSI LAMGHARI Abdennaceur
113. Pr. EL KIRAT Abdelmajid*
114. Pr. ERROUGANI Abdelkader
115. Pr. ESSAKALI Malika
116. Pr. ETTAYEBI Fouad
117. Pr. HADRI Larbi*
118. Pr. HASSAM Badredine
119. Pr. IFRINE Lahssan
120. Pr. JELTHI Ahmed
121. Pr. MAHFOUD Mustapha
122. Pr. MOUDENE Ahmed*
123. Pr. OULBACHA Said
124. Pr. RHRAB Brahim
125. Pr. SENOUCI Karima ép. BELKHADIR
126. Pr. SLAOUI Anas

Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Ophtalmologie
Radiothérapie
Chirurgie Générale
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Gynécologie Obstétrique
Immunologie
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Médecine Interne
Chirurgie Cardio- Vasculaire
Chirurgie Générale
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Traumatologie- Orthopédie
Chirurgie Générale
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire

Mars 1994

- 127. Pr. ABBAR Mohamed*
- 128. Pr. ABDELHAK M'barek
- 129. Pr. BELAIDI Halima
- 130. Pr. BRAHMI Rida Slimane
- 131. Pr. BENTAHILA Abdelali
- 132. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
- 133. Pr. BERRADA Mohamed Saleh
- 134. Pr. CHAMI Ilham
- 135. Pr. CHERKAoui Lalla Ouafae
- 136. Pr. EL ABBADI Najia
- 137. Pr. HANINE Ahmed*
- 138. Pr. JALIL Abdelouahed
- 139. Pr. LAKHDAR Amina
- 140. Pr. MOUANE Nezha

Urologie
Chirurgie – Pédiatrique
Neurologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Gynécologie – Obstétrique
Traumatologie – Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Neurochirurgie
Radiologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

- 141. Pr. ABOUQUAL Redouane
- 142. Pr. AMRAoui Mohamed
- 143. Pr. BAIDADA Abdelaziz
- 144. Pr. BARGACH Samir
- 145. Pr. BEDDOUCHE Amokrane*
- 146. Pr. BENAZZOUZ Mustapha
- 147. Pr. CHAARI Jilali*
- 148. Pr. DIMOU M'barek*
- 149. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine*
- 150. Pr. EL MESNAoui Abbes
- 151. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
- 152. Pr. FERHATI Driss
- 153. Pr. HASSOUNI Fadil
- 154. Pr. HDA Abdelhamid*
- 155. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
- 156. Pr. IBRAHIMY Wafaa
- 157. Pr. MANSOURI Aziz
- 158. Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
- 159. Pr. RZIN Abdelkader*
- 160. Pr. SEFIANI Abdelaziz
- 161. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Urologie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Gynécologie Obstétrique
Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
Cardiologie
Urologie
Ophtalmologie
Radiothérapie
Ophtalmologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Génétique
Réanimation Médicale

Décembre 1996

- 162. Pr. AMIL Touriya*
- 163. Pr. BELKACEM Rachid
- 164. Pr. BELMAHI Amin
- 165. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
- 166. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Chirurgie réparatrice et plastique
Ophtalmologie
Chirurgie Générale

167. Pr. EL MELLOUKI Ouafae*	Parasitologie
168. Pr. GAOUZI Ahmed	Pédiatrie
169. Pr. MAHFOUDI M'barek*	Radiologie
170. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid	Chirurgie Générale
171. Pr. MOHAMMADI Mohamed	Médecine Interne
172. Pr. MOULINE Soumaya	Pneumo-phtisiologie
173. Pr. OUADGHIRI Mohamed	Traumatologie-Orthopédie
174. Pr. OUZEDDOUN Naima	Néphrologie
175. Pr. ZBIR EL Mehdi*	Cardiologie

Novembre 1997

176. Pr. ALAMI Mohamed Hassan	Gynécologie-Obstétrique
177. Pr. BEN AMAR Abdesselem	Chirurgie Générale
178. Pr. BEN SLIMANE Lounis	Urologie
179. Pr. BIROUK Nazha	Neurologie
180. Pr. BOULAICH Mohamed	O.R.L.
181. Pr. CHAOUIR Souad*	Radiologie
182. Pr. DERRAZ Said	Neurochirurgie
183. Pr. ERREIMI Naima	Pédiatrie
184. Pr. FELLAT Nadia	Cardiologie
185. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra	Radiologie
186. Pr. HAIMEUR Charki*	Anesthésie Réanimation
187. Pr. KANOUNI NAWAL	Physiologie
188. Pr. KOUTANI Abdellatif	Urologie
189. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid	Chirurgie Générale
190. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ	Pédiatrie
191. Pr. NAZI M'barek*	Cardiologie
192. Pr. OUAHABI Hamid*	Neurologie
193. Pr. SAFI Lahcen*	Anesthésie Réanimation
194. Pr. TAOUFIQ Jallal	Psychiatrie
195. Pr. YOUSFI MALKI Mounia	Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

196. Pr. AFIFI RAJAA	Gastro-Entérologie
197. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali*	Pneumo-phtisiologie
198. Pr. ALOUANE Mohammed*	Oto-Rhino-Laryngologie
199. Pr. BENOMAR ALI	Neurologie
200. Pr. BOUGTAB Abdesslam	Chirurgie Générale
201. Pr. ER RIHANI Hassan	Oncologie Médicale
202. Pr. EZZAITOUNI Fatima	Néphrologie
203. Pr. KABBAJ Najat	Radiologie
204. Pr. LAZRAK Khalid (M)	Traumatologie Orthopédie

Novembre 1998

205. Pr. BENKIRANE Majid*	Hématologie
---------------------------	-------------

206. Pr. KHATOURI ALI*
207. Pr. LABRAIMI Ahmed*

Cardiologie
Anatomie Pathologique

Janvier 2000

208. Pr. ABID Ahmed*
209. Pr. AIT OUMAR Hassan
210. Pr. BENCHERIF My Zahid
211. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd
212. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
213. Pr. CHAOUI Zineb
214. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
215. Pr. ECHARRAB El Mahjoub
216. Pr. EL FTOUH Mustapha
217. Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
218. Pr. EL OTMANY Azzedine
219. Pr. GHANNAM Rachid
220. Pr. HAMMANI Lahcen
221. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim
222. Pr. ISMAILI Hassane*
223. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss
224. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
225. Pr. TACHINANTE Rajae
226. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

227. Pr. AIDI Saadia
228. Pr. AIT OURHROUI Mohamed
229. Pr. AJANA Fatima Zohra
230. Pr. BENAMR Said
231. Pr. BENCHEKROUN Nabiha
232. Pr. CHERTI Mohammed
233. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
234. Pr. EL HASSANI Amine
235. Pr. EL IDGHIRI Hassan
236. Pr. EL KHADER Khalid
237. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
238. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
239. Pr. HSSAIDA Rachid*
240. Pr. LACHKAR Azzouz
241. Pr. LAHLOU Abdou
242. Pr. MAFTAH Mohamed*
243. Pr. MAHASSINI Najat
244. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
245. Pr. NASSIH Mohamed*
246. Pr. ROUIMI Abdelhadi

Neurologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Ophtalmologie
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie
Oto-Rhino-Laryngologie
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anesthésie-Réanimation
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Neurochirurgie
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
Neurologie

Décembre 2001

247. Pr. ABABOU Adil	Anesthésie-Réanimation
248. Pr. AOUAD Aicha	Cardiologie
249. Pr. BALKHI Hicham*	Anesthésie-Réanimation
250. Pr. BELMEKKI Mohammed	Ophtalmologie
251. Pr. BENABDELJLIL Maria	Neurologie
252. Pr. BENAMAR Loubna	Néphrologie
253. Pr. BENAMOR Jouda	Pneumo-phtisiologie
254. Pr. BENELBARHDADI Imane	Gastro-Entérologie
255. Pr. BENNANI Rajae	Cardiologie
256. Pr. BENOUACHANE Thami	Pédiatrie
257. Pr. BENYOUSSEF Khalil	Dermatologie
258. Pr. BERRADA Rachid	Gynécologie Obstétrique
259. Pr. BEZZA Ahmed*	Rhumatologie
260. Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi	Anatomie
261. Pr. BOUHOUCHE Rachida	Cardiologie
262. Pr. BOUMDIN El Hassane*	Radiologie
263. Pr. CHAT Latifa	Radiologie
264. Pr. CHELLAOUI Mounia	Radiologie
265. Pr. DAALI Mustapha*	Chirurgie Générale
266. Pr. DRISSI Sidi Mourad*	Radiologie
267. Pr. EL HAJOUI Ghziel Samira	Gynécologie Obstétrique
268. Pr. EL HIJRI Ahmed	Anesthésie-Réanimation
269. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid	Neuro-Chirurgie
270. Pr. EL MADHI Tarik	Chirurgie-Pédiatrique
271. Pr. EL MOUSSAIF Hamid	Ophtalmologie
272. Pr. EL OUNANI Mohamed	Chirurgie Générale
273. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil	Radiologie
274. Pr. ETTAIR Said	Pédiatrie
275. Pr. GAZZAZ Miloudi*	Neuro-Chirurgie
276. Pr. GOURINDA Hassan	Chirurgie-Pédiatrique
277. Pr. HRORA Abdelmalek	Chirurgie Générale
278. Pr. KABBAJ Saad	Anesthésie-Réanimation
279. Pr. KABIRI EL Hassane*	Chirurgie Thoracique
280. Pr. LAMRANI Moulay Omar	Traumatologie Orthopédie
281. Pr. LEKEHAL Brahim	Chirurgie Vasculaire Périphérique
282. Pr. MAHASSIN Fattouma*	Médecine Interne
283. Pr. MEDARHRI Jalil	Chirurgie Générale
284. Pr. MIKDAME Mohammed*	Hématologie Clinique
285. Pr. MOHSINE Raouf	Chirurgie Générale
286. Pr. NABIL Samira	Gynécologie Obstétrique
287. Pr. NOUINI Yassine	Urologie
288. Pr. OUALIM Zouhir*	Néphrologie
289. Pr. SABBAH Farid	Chirurgie Générale
290. Pr. SEFIANI Yasser	Chirurgie Vasculaire Périphérique

291. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia
292. Pr. TAZI MOUKHA Karim

Pédiatrie
Urologie

Décembre 2002

293. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
294. Pr. AMEUR Ahmed *
295. Pr. AMRI Rachida
296. Pr. AOURARH Aziz*
297. Pr. BAMOU Youssef *
298. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
299. Pr. BENBOUAZZA Karima
300. Pr. BENZEKRI Laila
301. Pr. BENZZOUBEIR Nadia*
302. Pr. BERNOUSSI Zakiya
303. Pr. BICHRA Mohamed Zakariya
304. Pr. CHOHO Abdelkrim *
305. Pr. CHKIRATE Bouchra
306. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
307. Pr. EL ALJ Haj Ahmed
308. Pr. EL BARNOUSSI Leila
309. Pr. EL HAOURI Mohamed *
310. Pr. EL MANSARI Omar*
311. Pr. ES-SADEL Abdelhamid
312. Pr. FILALI ADIB Abdelhai
313. Pr. HADDOUR Leila
314. Pr. HAJJI Zakia
315. Pr. IKEN Ali
316. Pr. ISMAEL Farid
317. Pr. JAAFAR Abdeloihab*
318. Pr. KRIOULE Yamina
319. Pr. LAGHMARI Mina
320. Pr. MABROUK Hfid*
321. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
322. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
323. Pr. MOUSTAINE My Rachid
324. Pr. NAITLHO Abdelhamid*
325. Pr. OUJILAL Abdelilah
326. Pr. RACHID Khalid *
327. Pr. RAISS Mohamed
328. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
329. Pr. RHOU Hakima
330. Pr. SIAH Samir *
331. Pr. THIMOU Amal
332. Pr. ZENTAR Aziz*
333. Pr. ZRARA Ibtisam*

Anatomie Pathologique
Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Rhumatologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Psychiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Gynécologie Obstétrique
Dermatologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Ophtalmologie
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Traumatologie Orthopédie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Traumatologie Orthopédie
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Traumatologie Orthopédie
Médecine Interne
Oto-Rhino-Laryngologie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Générale
Pneumophtisiologie
Néphrologie
Anesthésie Réanimation
Pédiatrie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique

PROFESSEURS AGREGES :

Janvier 2004

334. Pr. ABDELLAH El Hassan	Ophtalmologie
335. Pr. AMRANI Mariam	Anatomie Pathologique
336. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas	Oto-Rhino-Laryngologie
337. Pr. BENKIRANE Ahmed*	Gastro-Entérologie
338. Pr. BENRAMDANE Larbi*	Chimie Analytique
339. Pr. BOUGHALEM Mohamed*	Anesthésie Réanimation
340. Pr. BOULAADAS Malik	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
341. Pr. BOURAZZA Ahmed*	Neurologie
342. Pr. CHAGAR Belkacem*	Traumatologie Orthopédie
343. Pr. CHERRADI Nadia	Anatomie Pathologique
344. Pr. EL FENNI Jamal*	Radiologie
345. Pr. EL HANCHI ZAKI	Gynécologie Obstétrique
346. Pr. EL KHORASSANI Mohamed	Pédiatrie
347. Pr. EL YOUNASSI Badreddine*	Cardiologie
348. Pr. HACHI Hafid	Chirurgie Générale
349. Pr. JABOUIRIK Fatima	Pédiatrie
350. Pr. KARMANE Abdelouahed	Ophtalmologie
351. Pr. KHABOUZE Samira	Gynécologie Obstétrique
352. Pr. KHARMAZ Mohamed	Traumatologie Orthopédie
353. Pr. LEZREK Mohammed*	Urologie
354. Pr. MOUGHIL Said	Chirurgie Cardio-Vasculaire
355. Pr. NAOUMI Asmae*	Ophtalmologie
356. Pr. SAADI Nozha	Gynécologie Obstétrique
357. Pr. SASSENOU ISMAIL*	Gastro-Entérologie
358. Pr. TARIB Abdelilah*	Pharmacie Clinique
359. Pr. TIJAMI Fouad	Chirurgie Générale
360. Pr. ZARZUR Jamila	Cardiologie

Janvier 2005

361. Pr. ABBASSI Abdellah	Chirurgie Réparatrice et Plastique
362. Pr. AL KANDRY Sif Eddine*	Chirurgie Générale
363. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid	Microbiologie
364. Pr. ALLALI Fadoua	Rhumatologie
365. Pr. AMAR Yamama	Néphrologie
366. Pr. AMAZOUZI Abdellah	Ophtalmologie
367. Pr. AZIZ Noureddine*	Radiologie
368. Pr. BAHIRI Rachid	Rhumatologie
369. Pr. BARKAT Amina	Pédiatrie
370. Pr. BENHALIMA Hanane	Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
371. Pr. BENHARBIT Mohamed	Ophtalmologie
372. Pr. BENYASS Aatif	Cardiologie
373. Pr. BERNOUSSI Abdelghani	Ophtalmologie

374. Pr. BOUKLATA Salwa	Radiologie
375. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed	Ophtalmologie
376. Pr. DOUDOUH Abderrahim*	Biophysique
377. Pr. EL HAMZAoui Sakina	Microbiologie
378. Pr. HAJJI Leila	Cardiologie
379. Pr. HESSISSEN Leila	Pédiatrie
380. Pr. JIDAL Mohamed*	Radiologie
381. Pr. KARIM Abdelouahed	Ophtalmologie
382. Pr. KENDOOUSSI Mohamed*	Cardiologie
383. Pr. LAAROUSSI Mohamed	Chirurgie Cardio-vasculaire
384. Pr. LYAGOUBI Mohammed	Parasitologie
385. Pr. NIAMANE Radouane*	Rhumatologie
386. Pr. RAGALA Abdelhak	Gynécologie Obstétrique
387. Pr. SBIHI Souad	Histo-Embryologie Cytogénétique
388. Pr. TNACHERI OUZZANI Btissam	Ophtalmologie
389. Pr. ZERAIDI Najia	Gynécologie Obstétrique

AVRIL 2006

423. Pr. ACHEMLAL Lahsen*	Rhumatologie
424. Pr. AFIFI Yasser	Dermatologie
425. Pr. AKJOUJ Said*	Radiologie
426. Pr. BELGNAoui Fatima Zahra	Dermatologie
427. Pr. BELMEKKI Abdelkader*	Hématologie
428. Pr. BENCHEIKH Razika	O.R.L
429. Pr. BIYI Abdelhamid*	Biophysique
430. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine	Chirurgie - Pédiatrique
431. Pr. BOULAHYA Abdellatif*	Chirurgie Cardio – Vasculaire
432. Pr. CHEIKHAoui Younes	Chirurgie Cardio – Vasculaire
433. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas	Gynécologie Obstétrique
434. Pr. DOGHMI Nawal	Cardiologie
435. Pr. ESSAMRI Wafaa	Gastro-entérologie
436. Pr. FELLAT Ibtissam	Cardiologie
437. Pr. FAROUDY Mamoun	Anesthésie Réanimation
438. Pr. GHADOUANE Mohammed*	Urologie
439. Pr. HARMOUCHE Hicham	Médecine Interne
440. Pr. HANAFI Sidi Mohamed*	Anesthésie Réanimation
441. Pr. IDRIS LAHLOU Amine	Microbiologie
442. Pr. JROUNDI Laila	Radiologie
443. Pr. KARMOUNI Tariq	Urologie
444. Pr. KILI Amina	Pédiatrie
445. Pr. KISRA Hassan	Psychiatrie
446. Pr. KISRA Mounir	Chirurgie – Pédiatrique
447. Pr. KHARCHAFI Aziz*	Médecine Interne
448. Pr. LAATIRIS Abdelkader*	Pharmacie Galénique

449. Pr. LMIMOUNI Badreddine*
 450. Pr. MANSOURI Hamid*
 451. Pr. NAZIH Naoual
 452. Pr. OUANASS Abderrazzak
 453. Pr. SAFI Soumaya*
 454. Pr. SEKKAT Fatima Zahra
 455. Pr. SEFIANI Sana
 456. Pr. SOUALHI Mouna
 457. Pr. TELLAL Saida*
 458. Pr. ZAHRAOUI Rachida

Parasitologie
 Radiothérapie
 O.R.L
 Psychiatrie
 Endocrinologie
 Psychiatrie
 Anatomie Pathologique
 Pneumo – Phtisiologie
 Biochimie
 Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

458. Pr. LARAQUI HOUSSEINI Leila
 459. Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
 460. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid
 461. Pr. LALAOU SALIM Jaafar *
 462. Pr. BAITE Abdelouahed *
 463. Pr. TOUATI Zakia
 464. Pr. OUZZIF Ez zohra*
 465. Pr. BALOUCH Lhousaine *
 466. Pr. SELKANE Chakir *
 467. Pr. EL BEKKALI Youssef *
 468. Pr. AIT HOUSSA Mahdi *
 469. Pr. EL ABSI Mohamed
 470. Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *
 471. Pr. ACHOUR Abdessamad*
 472. Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
 473. Pr. GHARIB Nouredine
 474. Pr. TABERKANET Mustafa *
 475. Pr. ISMAILI Nadia
 476. Pr. MASRAR Azlarab
 477. Pr. RABHI Monsef *
 478. Pr. MRABET Mustapha *
 479. Pr. SEKHSOKH Yessine *
 480. Pr. SEFFAR Myriame
 481. Pr. LOUZI Lhoussain *
 482. Pr. MRANI Saad *
 483. Pr. GANA Rachid
 484. Pr. ICHOU Mohamed *
 485. Pr. TACHFOUTI Samira
 486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine
 487. Pr. MELLAL Zakaria
 488. Pr. AMMAR Haddou *
 489. Pr. AOUI Sarra

Anatomie pathologique
 Anesthésie réanimation
 Anesthésier réanimation
 Anesthésie réanimation
 Anesthésie réanimation
 Cardiologie
 Biochimie
 Biochimie
 Chirurgie cardio vasculaire
 Chirurgie cardio vasculaire
 Chirurgie cardio vasculaire
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie plastique
 Chirurgie vasculaire périphérique
 Dermatologie
 Hématologie biologique
 Médecine interne
 Médecine préventive santé publique et hygiène
 Microbiologie
 Microbiologie
 Microbiologie
 Virologie
 Neuro chirurgie
 Oncologie médicale
 Ophtalmologie
 Ophtalmologie
 Ophtalmologie
 ORL
 Parasitologie

490. Pr. TLIGUI Houssain
 491. Pr. MOUTAJ Redouane *
 492. Pr. ACHACHI Leila
 493. Pr. MARC Karima
 494. Pr. BENZIANE Hamid *
 495. Pr. CHERKAOUI Naoual *
 496. Pr. EL OMARI Fatima
 497. Pr. MAHI Mohamed *
 498. Pr. RADOUANE Bouchaib*
 499. Pr. KEBDANI Tayeb
 500. Pr. SIFAT Hassan *
 501. Pr. HADADI Khalid *
 502. Pr. ABIDI Khalid
 503. Pr. MADANI Naoufel
 504. Pr. TANANE Mansour *
 505. Pr. AMHAJJI Larbi *

Parasitologie
 Parasitologie
 Pneumo phtisiologie
 Pneumo phtisiologie
 Pharmacie clinique
 Pharmacie galénique
 Psychiatrie
 Radiologie
 Radiologie
 Radiothérapie
 Radiothérapie
 Radiothérapie
 Réanimation médicale
 Réanimation médicale
 Traumatologie orthopédie
 Traumatologie orthopédie

Mars 2009

Pr. BJIJOU Younes
 Pr. AZENDOUR Hicham *
 Pr. BELYAMANI Lahcen*
 Pr. BOUHSAIN Sanae *
 Pr. OUKERRAJ Latifa
 Pr. LAMSAOURI Jamal *
 Pr. MARMADE Lahcen
 Pr. AMAHZOUNE Brahim*
 Pr. AIT ALI Abdelmounaim *
 Pr. BOUNAIM Ahmed *
 Pr. EL MALKI Hadj Omar
 Pr. MSSROURI Rahal
 Pr. CHTATA Hassan Toufik *
 Pr. BOUI Mohammed *
 Pr. KABBAJ Nawal
 Pr. FATHI Khalid
 Pr. MESSAOUDI Nezha *
 Pr. CHAKOUR Mohammed *
 Pr. DOGHMI Kamal*
 Pr. ABOUZAHIR Ali*
 Pr. ENNIBI Khalid *
 Pr. EL OUENNASS Mostapha
 Pr. ZOUHAIR Said*
 Pr. L'kassimi Hachemi*
 Pr. AKHADDAR Ali*
 Pr. AIT BENHADDOU El hachmia

Anatomie
 Anesthésie Réanimation
 Anesthésie Réanimation
 Biochimie
 Cardiologie
 Chimie Thérapeutique
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Dermatologie
 Gastro-entérologie
 Gynécologie obstétrique
 Hématologie biologique
 Hématologie biologique
 Hématologie clinique
 Médecine interne
 Médecine interne
 Microbiologie
 Microbiologie
 Microbiologie
 Neuro-chirurgie
 Neurologie

Pr. AGADR Aomar *
 Pr. KARBOUBI Lamya
 Pr. MESKINI Toufik
 Pr. KABIRI Meryem
 Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *
 Pr. BASSOU Driss *
 Pr. ALLALI Nazik
 Pr. NASSAR Ittimade
 Pr. HASSIKOU Hasna *
 Pr. AMINE Bouchra
 Pr. BOUSSOUGA Mostapha *
 Pr. KADI Said *

Pédiatrie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Pneumo-phtisiologie
 Radiologie
 Radiologie
 Radiologie
 Rhumatologie
 Rhumatologie
 Traumatologie orthopédique
 Traumatologie orthopédique

Octobre 2010

Pr. AMEZIANE Taoufik*
 Pr. ERRABIH Ikram
 Pr. CHERRADI Ghizlan
 Pr. MOSADIK Ahlam
 Pr. ALILOU Mustapha
 Pr. KANOUNI Lamya
 Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
 Pr. DARBI Abdellatif*
 Pr. EL HAFIDI Naima
 Pr. MALIH Mohamed*
 Pr. BOUSSIF Mohamed*
 Pr. EL MAZOUZ Samir
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar
 Pr. EL SAYEGH Hachem
 Pr. MOUJAHID Mountassir*
 Pr. RAISSOUNI Zakaria*
 Pr. BOUAITY Brahim*
 Pr. LEZREK Mounir
 Pr. NAZIH Mouna*
 Pr. LAMALMI Najat
 Pr. ZOUAIDIA Fouad
 Pr. BELAGUID Abdelaziz
 Pr. DAMI Abdellah*
 Pr. CHADLI Mariama*

Médecine interne
 Gastro entérologie
 Cardiologie
 Anesthésie Réanimation
 Anesthésie réanimation
 Radiothérapie
 Radiologie
 Radiologie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Médecine aërotique
 Chirurgie plastique et réparatrice
 Chirurgie pédiatrique
 Urologie
 Chirurgie générale
 Traumatologie orthopédie
 ORL
 Ophtalmologie
 Hématologie
 Anatomie pathologique
 Anatomie pathologique
 Physiologie
 Biochimie chimie
 Microbiologie

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES
PROFESSEURS

1. Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
2. Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie
3. Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
4. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
5. Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
6. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
7. Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
8. Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
9. Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia	Biochimie
10. Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
11. Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
12. Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
13. Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootéchnie
14. Pr. FAOUZI Moulay El Abbes	Pharmacologie
15. Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
16. Pr. IBRAHIMI Azeddine	
17. Pr. KABBAJ Ouafae	Biochimie
18. Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
19. Pr. REDHA Ahlam	Biochimie
20. Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
21. Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
22. Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
23. Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

**** Enseignants Militaires***

Dédicaces

A mes très chers parents :

Pour tous les efforts et les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien-être tout au long des années, je ne saurais exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne.

J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondés en moi

Puisse ce travail être un début de mes récompenses envers vous.

Que Dieu tout puissant vous garde et vous procure santé bonheur et longue vie...

A mon adorable soeur Farah:

Je ne pourrais exprimer à travers ces lignes tous les sentiments d'amour et de tendresse que j'ai pour toi.

Tu es pour moi la soeur, l'amie et la confidente sur laquelle je peux compter.

Merci pour la joie que tu me procures, ainsi qu'à la petite famille. Tu es bel et bien le petit "chef-d'oeuvre" des RHOUNI.

Je te dédie ce travail, te souhaite tout le bonheur du monde et encore plus de succès dans ta vie professionnelle.

A mon cher frère Driss, son épouse et ses enfants Rania et Youssef:

En témoignage de l'affection que j'ai pour toi.

Tu es pour moi le frère et le complice.

Merci pour ton soutien et d'avoir répondu présent à chaque fois que j'avais besoin de toi.

A mes adorables neveux Rania et Youssef pour le bonheur qu'ils ont apporté à notre foyer.

*A la mémoire de mes grands parents,
de ma tante Fatima KERROUMI et de mon oncle Khalid CHBOUKI:*

*Vos prières, vos encouragements m'avaient accompagné tout au long de
mes études et avaient été pour moi d'un grand soutien.*

*Je sais à quel point il vous tenait à coeur de voir enfin arriver ce jour où
votre petite fille/nièce prêterait le serment d'Hippocrate et porterait le titre de
docteur en médecine, vous auriez été tellement fiers.*

Aujourd'hui, je vous rends hommage à travers ce modeste travail.

*Que Dieu vous accorde sa miséricorde et vous accueille dans son saint
paradis.*

A mes très chères tantes Khadija et Habiba MOUSSAIF:

Pour l'affection, la tendresse et l'amour que vous m'avez toujours donnés.

*Pour le soutien et le dévouement dont vous avez fait preuve tout au long
de mes études.*

*Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus
profond et mon affection la plus sincère.*

Que Dieux vous garde et vous protège.

A mes oncles Driss, Rachid et Aziz MOUSSAIF:

En témoignage de mon respect et de mon profond attachement.

A mes cousins et cousines:

Les CHBOUKI, les JIT, les MOUSSAIF, les BOUSSELHAMI et les RHOUNI.

A toute ma famille

A mes amis:

En souvenir des moments agréables passés ensemble et pour vos soutien et encouragement.

Je remercie particulièrement Youness, Zaynab , Mohammed, Rêda, Nouzha et Fadma.

*A toutes celles et ceux qui me sont chers et que j'ai omis
involontairement de citer.*

Remerciements

A mon maître et président de thèse

Monsieur Mohammed KHATTAB

*Professeur agrégé et chef de service d'Hématologie et d'Oncologie
Pédiatrique A l'hôpital d'enfants de Rabat*

Vous me faite le grand honneur d'accepter la présidence du jury de cette thèse.

Quels chance et plaisir d'avoir l'opportunité de compter parmi vos étudiants et de bénéficier ainsi de vos compétences professionnelles et connaissances scientifiques. Votre expertise sera donc un atout précieux dans la discussion de cette thèse.

Acceptez, Monsieur le professeur, le témoignage de ma reconnaissance et l'assurance de mon respect.

A mon maître et rapporteur de thèse

Monsieur Omar CHOKAIRI

*Professeur agrégé et chef de laboratoire
d'Histologie-Embryologie et Cytogénétique*

*Veillez bien accepter mes sincères remerciements pour avoir contribué à
l'élaboration de ce travail par vos disponibilité et patience.*

*Votre modestie et gentillesse représentent un modèle que je serais
heureuse de suivre. Mais au-delà des mots de remerciements, je louerai en vous
l'amabilité, la courtoisie et la générosité.*

*Puisse ce travail être à la hauteur de la confiance que vous m'avez
accordée.*

A mon maitre et juge de thèse

Madame Sana SEFIANI

Professeur agrégé et chef de laboratoire d'Anatomie-Pathologique

A l'hôpital des spécialités de Rabat

*J'ai eu la chance de vous avoir parmi les membres du jury et vous remercie
d'avoir accepté, en toute simplicité, de juger ce travail.*

*Marquée par vos qualités humaines, par vos connaissances scientifiques,
je me permets de vous exprimer toute mon estime et sincère reconnaissance.*

A mon maitre et juge de thèse

Monsieur M'barek ABDELHAK

Professeur agrégé de Chirurgie Pédiatrique

A l'Hôpital d'Enfants de Rabat

Je suis très heureuse de l'honneur que vous me faites en acceptant de juger ce travail.

Votre compétence professionnelle et votre générosité méritent d'être particulièrement soulignées et suivies dans l'exercice de nos fonctions.

Acceptez donc toute ma reconnaissance et mon profond respect.

A mon cousin Docteur Nabil KHALLOUFI

Il m'est difficile de trouver les mots justes et sincères pour t'exprimer mon affection et mes pensées : simplement vraies les unes et les autres.

J'ai trouvé en toi, non seulement le cousin, mais le frère aîné, l'ami dévoué et toujours disponible.

En témoignage de tout cela, de l'amitié que tu témoigne à toute la famille, je te dédie ce travail avec les « Ouilî Ouilî » qui n'ont de sens que pour nous.

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	: Acide désoxyribonucléique.
BDNF	: Brain-derived neurotrophic factor.
CGH	: Comparative Genomic Hybridization / Hybridation génomique comparative.
CN-LOH	: Copy Neutral Loss of Heterozygosity / perte d'hétérozygotie à copie neutre.
COG	: Children's Oncology Group.
CR	: Complete Response / Réponse complète au traitement.
DKK3	: Dickkopf (X. leavis) homolog 3.
DM	: Double minute.
DOPA	: Dopamine.
FISH	: Fluorescence <i>in situ</i> hybridization / Hybridation <i>in situ</i> en fluorescence.
GD2	: Disialoganglioside.
GN	: Ganglioneurome.
GNB	: Ganglioneuroblastome.
GST	: gène suppresseur de tumeur.
HSR	: Homogeneously Staining Region.
HVA	: Acides vanyllactique et homovanillique.
INPC	: International Neuroblastoma Pathology Classification.
INRC	: International Neuroblastoma Response Criteria.
INRGSS	: International Neuroblastoma Risk Group Staging System.
INSS	: International Neuroblastoma Staging System.

LDH	: Lactate déshydrogénase.
LIF	: Leukemia inhibitory factor.
LOH	: Loss of Heterozygosity / Perte d'hétérozygotie.
Mb	: mégabase.
MKI	: Mitosis-Karyorrhexis Index / Index mitose-caryorrhexie.
MYCN	: v-myc avian myelocytomatosis viral related oncogene neuroblastoma-derived.
MR	: Mixed Response / Réponse mixte au traitement.
NB	: Neuroblastome.
NGF	: Neuronal growth factor.
NR	: Non response / Non-réponse au traitement.
NSE	: Neuron-specific-enolase.
ODC	: Ornithine decarboxylase.
PCR	: Polymerase Chain Reaction / Réaction en chaîne par polymérase.
DP	: Disease Progression / Progression de la maladie.
PR	: Partial Response / Réponse partielle au traitement.
SKP2	: S-phase kinase –associated protein 2.
VGPR	: Very Good Partial Response / Très bonne réponse partielle au traitement.
VMA	: Vanylmandelic Acid / Acide vanylmandélique.
Trk	: Tyrosine kinase.
TP35INP1	: Tumor protein p53inducible nuclear protein 1.



Liste des figures

Figure 1. Formation de la crête neurale.

Figure 2. Localisations anatomiques possible d'un neuroblastome primitif et incidence relative.

Figure 3. Présentations cliniques du neuroblastome.

Figure 4. Syndrome de Hutchinson.

Figure 5. Syndrome du Pepper.

Figure 6. Métabolisme des catécholamines urinaires.

Figure 7. Radiographie thoracique.

Figure 8. Echographie lombaire droite.

Figure 9. Garçon 5 ans, neuroblastome surrénalien droit. Scanner avec injection i.v de produit de contraste, coupe axiale (A), frontale (B) et sagittale (C).

Figure 10. Fille, 2 mois. Neuroblastome lombaire. Imagerie par résonance magnétique en incidences sagittale et axiale.

Figure 11. Garçon, 4 ans. Neuroblastome surrénalien gauche. Scintigraphie à la mIBG.

Figure 12. Garçon, 18 mois. Neuroblastome métastatique. Scanner crânien avec injection i. v de produit de contraste.

Figure 13. Histologie de coupes de tumeurs neuroblastiques.

Figure 14. Classification des neuroblastomes en histologie favorable ou non favorable selon les différents critères de l'INPC.

Figure 15. Garçon de 2 ans. NB surrénalien droit. Scanner initial (A) et après chimio thérapie(B).

Figure 16. Mécanismes d'angiogénèse dans le neuroblastome.

Figure 17. Amplification du gène MYCN en cytogénétique standard.

Figure 18. Principe de la FISH.

Figure 19. Résultats typiques obtenus par analyse FISH du gène MYCN dans le neuroblastome.

Figure 20. Illustration du système lumineux permettant d'analyser simultanément jusqu'à 100 molécules.

Figure 21. Histogrammes de fluorescence verte.

Figure 22. Hybridation génomique comparative (CGH) sur métaphases normales. Déséquilibre de fluorescence détectant des anomalies quantitatives.

Figure 23. Principe de réalisation de l'hybridation génomique comparative sur microarrays.

Figure 24. Mécanismes mitotiques de la formation de la perte d'hétérozygotie à copie-neutre (CN-LOH).

Figure 25. Amplification du gène MYCN.

Figure 26. Hétérogénéité du nombre de copies MYCN parmi les cellules tumorales dans un échantillon unique de diagnostic, comprenant les amplifications sous la forme double-minute (A), HSR (B), ou sans amplification (C).

Figure 27. Gain du chromosome 17q.

Figure 28. Délétion du chromosome 1 p montrée par plusieurs techniques.

Figure 29. Modèle génétique de progression du neuroblastome.

Figure 30. Les différents profils génomiques tumoraux du neuroblastome déterminés en CGH-array.

Figure 31. Modèle hypothétique de la progression du neuroblastome.

Figure 32. Modèle de succession des événements génétiques rendant compte des différentes variétés de neuroblastome. Corrélation avec les caractéristiques anatomopathologiques, cliniques et évolutives.



- Tableau 1.** Classification de l'International Neuroblastome Staging System (INSS).
- Tableau 2.** Classification de l'International Neuroblastome Risk Group Staging System (INRGSS).
- Tableau 3.** Fréquences respectives du neuroblastome selon l'âge et le stade d'extension tumorale.
- Tableau 4.** Classification en fonction des critères cliniques et biologiques.
- Tableau 5.** Chimiothérapies conventionnelles.
- Tableau 6.** Schéma du consensus de l'International Neuroblastoma Risk Group Classification (INRG) pour la classification préthérapeutique.
- Tableau 7.** Score de Philadelphie.
- Tableau 8.** Prise en charge des neuroblastomes de risque intermédiaire selon les caractéristiques biologiques définies par le Children's Oncology Group (COG).
- Tableau 9.** La réponse au traitement selon les critères de l'International Neuroblastoma Reponse Criteria (INRC).
- Tableau 10.** Consensus des marqueurs génétiques couramment utilisés pour la stratification thérapeutique et proposés pour de futures analyses.
- Tableau 11.** Les régions signalées comme faisant l'objet de perte d'hétérozygotie dans les neuroblastomes.
- Tableau 12.** Résumé des actions de MYCN potentiellement impliquées dans la progression des neuroblastomes.
- Tableau 13.** Anomalies chromosomiques récurrentes observées dans les neuroblastomes.



Sommaire

Introduction	1
Rappel embryologique	4
Revue de la littérature	8
1. Définition, épidémiologie	9
2. Aspects diagnostiques	10
2-1) Diagnostic clinique	10
2-1-1) Symptômes liés à la tumeur primitive	10
2-1-2) Symptômes liés aux tumeurs « en sablier »	12
2-1-3) Symptômes liés aux métastases	13
2-1-4) Syndromes associés	15
2-2) Marqueurs biologiques	15
2-2-1) Les catécholamines urinaires	15
2-2-2) Neuron specific enolase	17
2-2-3) La ferritine	17
2-2-4) Lactate déshydrogénase (LDH)	17
2-2-5) Vasoactive intestinal peptide	18
2-3) Apport de l'imagerie	18
2-3-1) A l'étape diagnostique	18
2-3-2) Bilan d'extension métastatique	26
2-3-3) Imagerie et surveillance	28
2-4) Bilan médullaire	29
2-5) Diagnostic histologique	29

3. Facteurs pronostiques	30
3-1) Facteurs pronostiques anatomo-cliniques.....	30
3-1-1) Stade de la tumeur : classification INSS	30
3-1-2) L'âge au diagnostic.....	32
3-2) Facteurs biologiques	33
3-2-1) Marqueurs biologiques	33
3-2-2) Histologie	34
3-3) Facteurs génétiques.....	37
3-4) Classification des critères cliniques et biologiques	38
4- Prise en charge thérapeutique.....	39
4-1) Moyens thérapeutiques	39
4-1-1) La chirurgie.....	39
4-1-2) La chimiothérapie.....	40
4-1-3) La radiothérapie	42
- La radiothérapie externe	42
- La radiothérapie ciblée.....	43
4-2) Stratégie thérapeutique selon les différents groupes.....	43
4-3) Réponse au traitement.....	47
5) Nouvelles stratégies thérapeutiques.....	49
5-1) L'immunothérapie anti-tumorale.....	49
5-2) Traitement anti-angiogénique	50
5-3) Agents différenciateurs : les rétinoïdes.....	52

Particularités génétiques du Neuroblastome	54
1. L'apport des techniques de pointe pour la detection des anomalies genetiques	55
1.1 Cytogénétique standard	55
1.2 Hybridation in situ en fluorescence	56
1.3 Cytométrie de flux	58
1.4 Hybridation génomique comparative	60
1.5 Hybridation génomique comparative sur micropuces	62
1.6 Amplification multiplex de sonde nucléique dépendant des ligatures (MLPA)	64
1.7 INRG consensus des techniques recommandées pour l'investigation des marqueurs génétiques	64
2) Les anomalies génétiques.....	66
2.1-Anomalies de nombre: ploïdie	66
2.2-La perte d'hétérozygotie	67
2.3-Les anomalies de structure : gain de matériel génétique.....	69
2.3.1) Amplification du gène MYNC	69
2.3.2.) Gain du chromosome 17q	73
2.4-Anomalies de structure: perte de matériel génétique	75
2-4-1) Délétion du chromosome 1p.....	75
2-4-2) Délétion du chromosome 11q.....	77
2-4-3) LOH du chromosome 14q	78
2-4-4) autres délétions chromosomiques	79

2.5-Anomalies d'expression de gènes	80
2-5-1) Neurotrophines et récepteurs	80
2-5-2) l'expression de CD44	81
2-5-3) La télomérase	81
2-5-4) Multi-drug resistance associated protein.....	82
3. Classification du neuroblastome en sous-types genetiques	82
3.1- Division du Nb en deux profils distincts	82
3.2- Classification génomique des NB	84
4. Modèle génétique de progression du neuroblastome :	86
5- Corrélation entre le modèle génétique du développement du neuroblastome et les différents facteurs pronostiques	89
6- Stratification thérapeutique en fonction des profils génomiques	90
Conclusion et perspectives	92
Résumé	94
Bibliographie	98



Introduction

Le neuroblastome est la première tumeur de l'enfant après les tumeurs du système nerveux central, représentant environ 10% des cancers de l'enfant diagnostiqués avant l'âge de 15 ans.

C'est une tumeur maligne embryonnaire du système nerveux sympathique post-ganglionnaire. Elle peut se développer en n'importe quel point de l'organisme où existent des structures nerveuses sympathiques, à savoir le long du rachis et au niveau de la surrenale, réalisant parfois des tumeurs extrêmement évolutives et volumineuses.

Le neuroblastome est une tumeur remarquable par sa grande hétérogénéité clinique, avec la possibilité soit de maturation cellulaire et de régression spontanée, même à un stade métastatique, soit de progression tumorale menaçante en dépit d'un traitement multimodal intensif. Cette caractéristique cache en fait des maladies différentes, aux propriétés biologiques et moléculaires bien distinctes.

La grande hétérogénéité du neuroblastome a également suscité, depuis de nombreuses années, la recherche de facteurs pronostiques afin d'identifier les différents groupes de risque et d'adapter au mieux le traitement.

Le neuroblastome est enfin la première tumeur pour laquelle la connaissance moléculaire a guidé la prise en charge thérapeutique. En effet, l'existence d'une amplification de l'oncogène MYCN conduit à intensifier le traitement, indépendamment de l'âge de l'enfant et du stade tumoral. L'analyse des éléments moléculaires et génétiques continue de s'affiner et permettra d'adapter encore mieux le traitement des patients non seulement à leur âge et à l'étendue de leur tumeur mais aussi aux caractéristiques biologiques de celle-ci. Des approches collaboratives internationales tendent actuellement à appliquer

une nouvelle stratégie thérapeutique adaptée au « profil génomique » qui prend en compte l'ensemble des altérations génétiques, plutôt que des marqueurs génétiques isolé.

Rappel embryologique

Dès le 19^e jour du développement embryonnaire, l'ectoderme se transforme en tube neural primitif. Plus tard, des amas cellulaires se détachent du tube neural lorsqu'il se replie sur lui-même et représentent la future crête neurale (**figure 1**). Ces cellules, dotées d'un grand potentiel migratoire, vont migrer vers de nombreux endroits du corps pour donner naissance au système nerveux périphérique, c'est-à-dire les neurones et les cellules gliales des systèmes nerveux sympathique, parasympathique et sensoriel, ainsi qu'à certaines cellules non neuronales en périphérie du système nerveux telles que les cellules de Schwann [1,2].

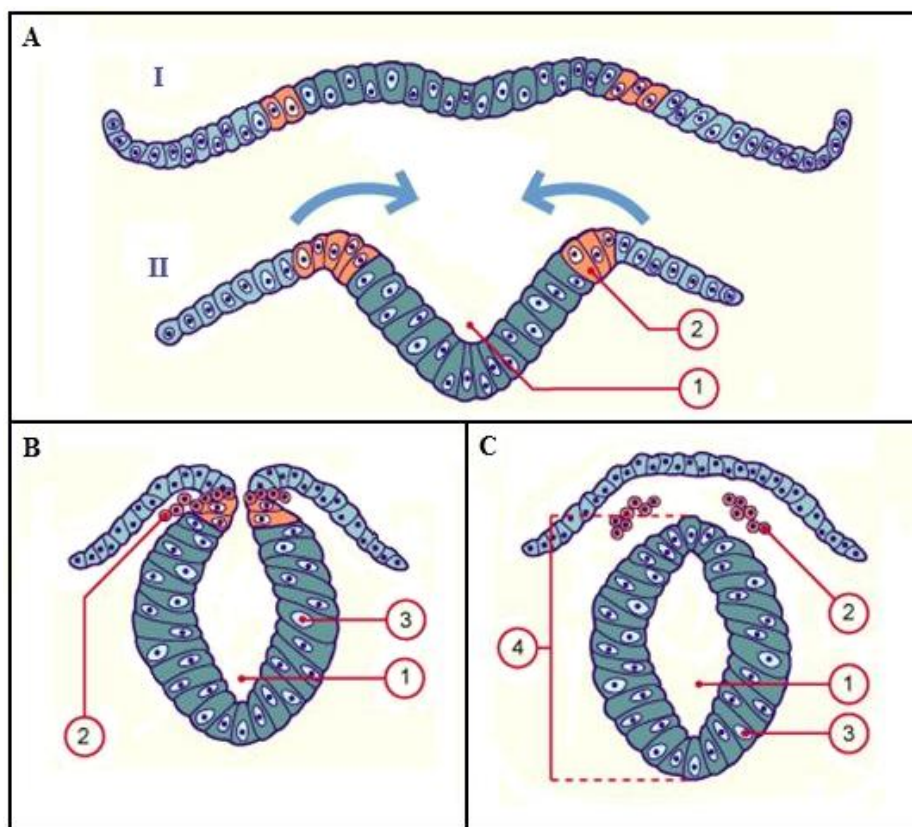


Figure 1. Formation de la crête neurale. [2] Lors du développement embryonnaire, la plaque neurale (AI) se replie sur elle-même (AII), les flèches en indiquent le sens. Il y a alors formation de la gouttière neurale (1) et les cellules orange (2), constituant les cellules de la crête neurale en devenir, commencent à se détacher (B, 2) du neuroépithélium (B, 3). La gouttière neurale devient alors le canal épendymaire (C, 1), alors que le tube neural est formé (C, 4) et que les cellules de la crête neurale sont prêtes à migrer (C, 2).

Les cellules de la crête neurale sont initialement des cellules souches pluripotentes, mais leur potentiel de différenciation se restreint avec le développement. Elles peuvent demeurer indifférenciées, elles sont alors appelées neuroblastes, ou se différencier en cellules ganglionnaires et en cellules de Schwann; elles sont alors considérées matures [3,4]. Les cellules de la crête neurale peuvent subir une transformation maligne; il s'agit alors de tumeurs neuroblastiques, qui comprennent les tumeurs des ganglions du système nerveux sympathique et de la médullosurrénale. Certaines caractéristiques communes se retrouvent dans la famille des tumeurs neuroblastiques : la différenciation spontanée ou induite par thérapie des neuroblastes primitifs en éléments matures, la possibilité de régression spontanée et une vaste hétérogénéité des comportements clinique et pronostic.

Le neuroblastome (NB), tumeur maligne du système nerveux sympathique, est le membre le plus important de cette famille. Les tumeurs peuvent donc survenir tout au long du système nerveux (SN) sympathique, ce qui explique l'ancienne nomenclature du NB : le sympathoblastome. Toutefois, la plupart des tumeurs surviennent dans l'abdomen (65%), souvent dans la médullosurrénale (35%). Les autres vont se développer dans les ganglions sympathiques paraspinaux à différents sites, incluant le cou (5%), le thorax (20%) et le pelvis (5%) (**figure 2**) [3-5]. Des localisations inhabituelles telles le thymus, le poumon, le rein, le médiastin antérieur, l'estomac peuvent survenir.

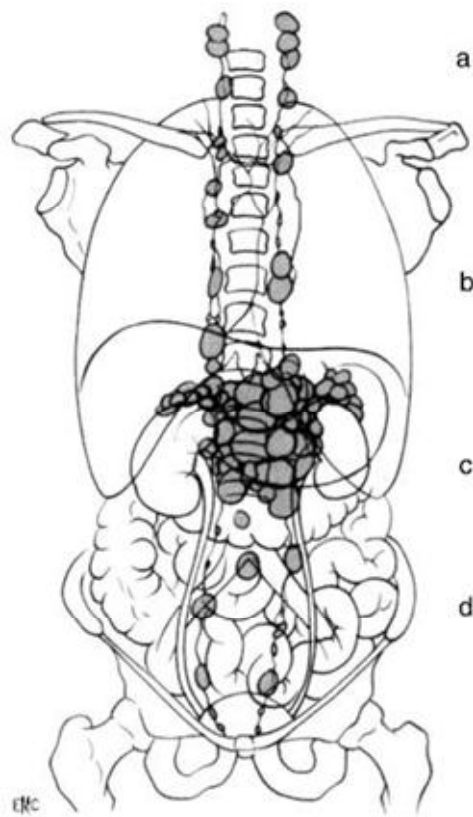


Figure 2. Localisations anatomiques possibles d'un NB primitif et incidence relative [6].

a. cervicale (5%) ; b. thoracique (20%) ; c. abdominale (60%); d. pelvienne (5%)

Revue de la littérature

1. Définition, épidémiologie

Le NB est la tumeur solide extracrânienne la plus fréquente du jeune enfant. Il contribue à la mortalité infantile par cancer, et est responsable de 15% de décès chez cette jeune population [3,7]. Le NB représente environ 7-10% de tous les cancers pédiatriques [3]. L'incidence semble uniforme à travers le monde, elle est généralement la plus élevée lors des cinq premières années de vie. Cette incidence est de l'ordre d'un cas pour 8000 à 10000 naissances [3,5,7-9]. Selon les données de la littérature, l'âge moyen au diagnostic est de 18 mois. Environ 40% des patients sont diagnostiqués avant un an, 75% avant 4 ans, 90% avant 5 ans et 98% avant l'âge de 10 ans [3,10,11].

L'étiologie des NB n'est pas connue. Il semble que les facteurs environnementaux ne soient pas impliqués [12]. Cependant, une prédisposition génétique est retrouvée dans 1 à 1.5% des cas. Ces NB familiaux ont une transmission autosomique dominante avec une pénétrance incomplète [13]. Par ailleurs, aucun facteur de risque majeur n'a été identifié, il est toutefois possible d'avoir une association entre NB et certaines malformations congénitales chez les enfants de moins d'un an [3], telles que la maladie de Hirschsprung [14] et la neurofibromatose de type I [15].

2. Aspects diagnostiques :

2-1) Diagnostic clinique :

Le NB est caractérisé par une grande hétérogénéité clinique. La symptomatologie clinique varie selon la topographie de la tumeur primitive, l'existence ou non de métastases, ou d'un syndrome paranéoplasique.

2-1-1) Symptômes liés à la tumeur primitive :

Ils sont liés à la compression des organes de voisinage. Au niveau abdominal, le NB resté longtemps latent, peut être découvert à l'occasion de vagues douleurs abdominales, ou devant la découverte d'une masse visible, dure, irrégulière et fixée à la palpation, ou encore lors d'un examen systématique.

Au niveau thoracique ou cervical, le NB est révélé par des signes en rapport avec une compression œsophagienne (dysphagie), trachéale (dyspnée), ou nerveuse dans le cadre du syndrome de Claude Bernard Horner avec myosis, ptosis et énophtalmie. La tumeur peut également être palpée au niveau du creux sus claviculaire ou des espaces intercostaux (**figure 3**). Sa découverte peut se faire de manière fortuite sur un cliché pulmonaire motivé par d'autres raisons [6].

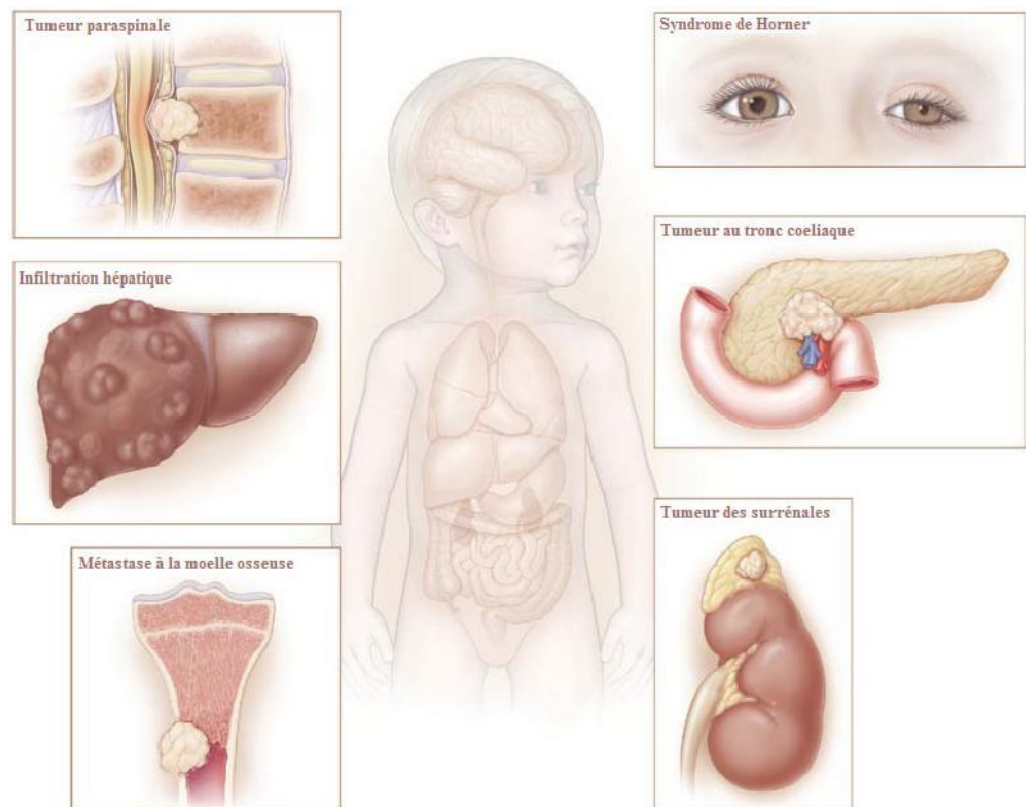


Figure 3. Présentations cliniques du neuroblastome [5]

La majorité des NB sont localisés dans les surrénales, mais elles peuvent être partout dans le SN sympathique. Les tumeurs de haut grade peuvent infiltrer les structures environnantes, entourer les nerfs et les vaisseaux tels le tronc cœliaque et être difficilement opérables. Les NB au niveau de la colonne spinale peuvent causer le syndrome de Horner par compression. Les métastases se retrouvent typiquement dans les ganglions lymphatiques et dans la moelle osseuse, ces dernières pouvant infiltrer l'os cortical, mais peuvent également se retrouver au foie.

Dans la localisation pelvienne, le NB est révélé par des troubles sphinctériens à type de constipation (compression rectale), des troubles urinaires (rétention), lymphatiques ou veineux. Il faut noter que les tumeurs primitives sont rarement multifocales.

2-1-2) Symptômes liés aux tumeurs « en sablier » :

L'extension intrarachidienne en sablier du NB est à l'origine de symptômes en rapport avec une compression médullaire ou rachidienne, tels que des troubles de la marche, des rachialgies, une mono ou paraplégie ou encore des troubles sphinctériens. Ces symptômes sont particulièrement difficiles à identifier avant l'âge de l'acquisition de la marche et de la propreté [16].

Cette extension en sablier représente environ 12% des NB [6]. Elle est plus fréquemment associée aux tumeurs thoraciques, et doit être recherchée systématiquement devant la découverte d'une tumeur pararachidienne.

2-1-3) Symptômes liés aux métastases :

Les symptômes liés aux métastases sont souvent révélateurs puisque 60% des NB sont d'emblée métastatiques [17]. Il peut s'agir d'une altération de l'état général, d'une symptomatologie ostéoarticulaire douloureuse localisée ou diffuse, trompeuse, souvent à l'origine d'une boiterie rapportée à tort à des douleurs de croissance ou à un traumatisme. Les métastases orbitaires sont à l'origine d'hématomes périorbitaires survenant spontanément, pouvant être associés ou non à une exophtalmie définissant le **syndrome de Hutchinson** (**figure 4**).

Chez le nourrisson, les métastases sont le plus souvent hépatiques : on palpe alors une hépatomégalie volumineuse associée parfois à des nodules sous-cutanées bleuâtres ; cette forme particulière définit le **syndrome de Pepper** qui doit faire évoquer le diagnostic de NB (**figure 5**).

Chez les enfants plus âgés, l'envahissement médullaire se manifeste par un purpura et une anémie, pouvant faire croire à une leucémie.

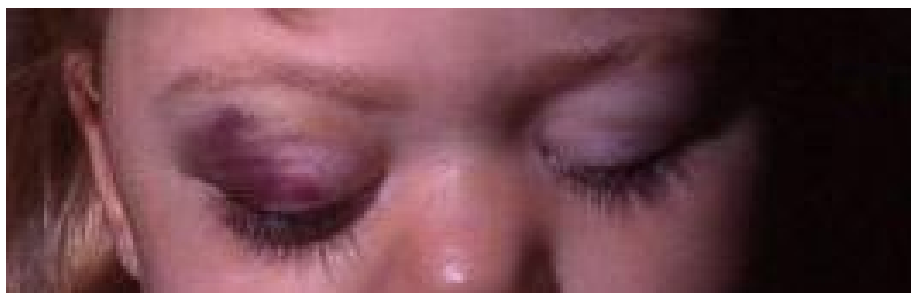


Figure 4. Syndrome de Hutchinson
(retirée de : D. Plantaz)



Figure 5. Syndrome de Pepper
(retirée de : D. Plantaz)

2-1-4) Syndromes associés :

Le NB peut exceptionnellement être révélé par une diarrhée chronique sécrétoire rebelle, en cas de tumeur sécrétante de VIP (vaso-active intestinal peptide) ; elle ne disparaîtra qu'après exérèse chirurgicale de la tumeur.

Un syndrome opso-cérébello-myoclonique (syndrome cérébelleux, mouvements anormaux et ataxie oculaire) est associé à un NB dans 50% des cas ; il révèle souvent des tumeurs de pronostic favorable mais laisse fréquemment place à des séquelles neurologiques [18,19].

Une hypertension artérielle, associée à des accès de sueur et de pâleur, peut être retrouvée ; elle serait plus liée à une compression d'une artère rénale qu'à une sécrétion excessive de catécholamines.

De rares cas de syndrome de Cushing, de fièvre au long cours, d'anémie et de coagulopathies de consommation ont été rapportés dans la littérature [20].

2-2) Marqueurs biologiques

2-2-1) Les catécholamines urinaires

Les cellules neuroblastiques ont la faculté de synthétiser des catécholamines, et de les dégrader jusqu'aux métabolites terminaux, dépourvus de toute activité hypertensive, grâce à l'équipement enzymatique qu'elles possèdent. Ces catécholamines sécrétées en quantité anormalement élevée par les cellules tumorales, sont déversées dans le sang, puis éliminées par les urines (**figure 6**), c'est à ce niveau que leur détection est la plus aisée.

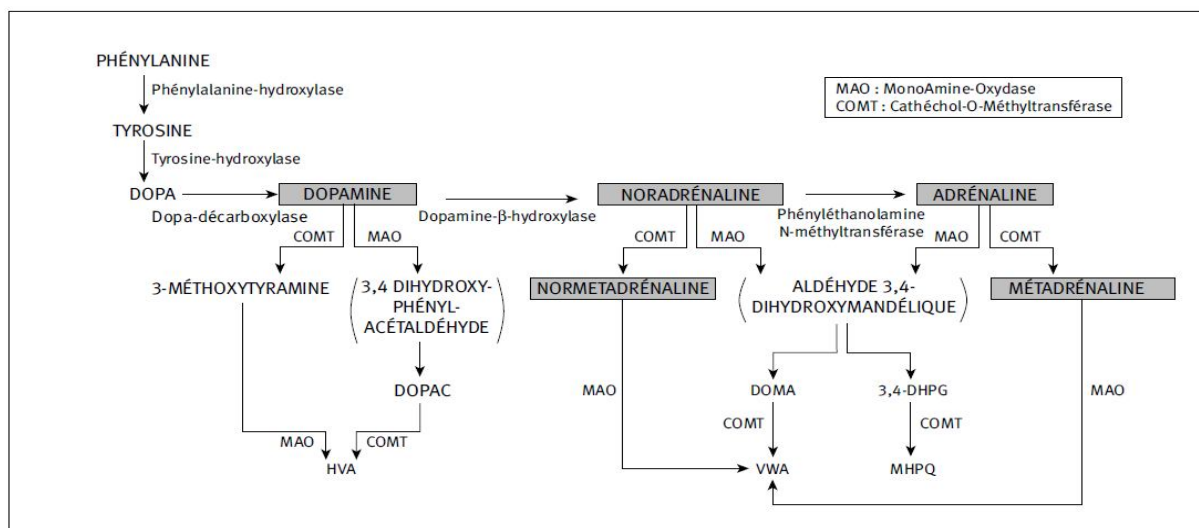


Figure 6. Métabolisme des catécholamines urinaires [21].

Les trois métabolites des catécholamines essentiels à doser pour le diagnostic de NB sont : la *dopamine* et l'*acide homovanillique* (HVA), dont l'augmentation est liée à l'activité de la tyrosine hydroxylase, et l'*acide vanylmandélique* (VMA) dont l'augmentation est due à l'hypercatabolisme de la noradrénaline. Le dosage doit se faire sur les urines de 24h, du fait que l'élimination urinaire des trois métabolites est irrégulière, expliquant les faux négatifs du spot test. En effet, seule la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) donne des résultats fiables.

Le dosage des catécholamines urinaires présente deux intérêts majeurs :

- Diagnostique : 90% des NB sont sécrétants [20,22]. La sécrétion est d'autant plus pathologique que l'histologie est immature, la tumeur primitive est grosse, et le stade avancé. C'est sur ces anomalies que le dépistage systématique est fondé [23].
- Pronostique : certains auteurs ont rapporté qu'un rapport de VMA/HVA supérieur ou égal à 1,5 est considéré comme un facteur de pronostic favorable [24]. La surveillance de ces métabolites permet de suspecter

une récurrence lors du suivi ultérieur, mais il faut noter que 5% des enfants guéris peuvent présenter un taux anormal [25].

2-2-2) Neuron specific enolase

Le neuron specific enolase (NSE) appartient à la famille des émolases, enzymes de la glycolyse. Son intérêt n'est pas tant diagnostique, puisque l'on retrouve une élévation de la NSE dans d'autres tumeurs solides et les leucémies [26], que pronostique car son taux est corrélé au stade et a un impact négatif sur la survie [27,28].

2-2-3) La ferritine

Cette protéine de transport et de stockage du fer est observée à des taux circulants élevés dans certaines situations tumorales [29]. Dans le NB, son taux est proportionnel au stade et semble prédire une mauvaise réponse au traitement. Sa valeur pronostique est cependant souvent effacée par sa corrélation avec d'autres facteurs biologiques [30].

2-2-4) Lactate déshydrogénase (LDH)

L'élévation des LDH a été constatée dans un grand nombre d'affections malignes, son taux est un marqueur non spécifique du volume tumoral ou de son renouvellement rapide. Certains auteurs ont établi une corrélation entre l'augmentation des LDH et d'autres facteurs péjoratifs. Ainsi, dans l'étude du Pediatric Oncology Group (POG), les enfants porteurs d'un NB avec LDH élevée ont une probabilité de survie à 20%, tandis que les autres ont une probabilité de survie à 80% [31].

2-2-5) Vasoactive intestinal peptide

Le vasoactive intestinal peptide (VIP), polypeptide de la famille des sécrétines, est parfois responsable de diarrhée motrice sévère, symptôme retrouvé dans 2% des neuroblastomes [6].

2-3) Apport de l'imagerie :

2-3-1) A l'étape diagnostique :

□ La radiologie conventionnelle

→ La radiothorax :

Elle est le premier examen à réaliser en cas de signe d'appel thoracique. L'analyse sémiologique, en présence d'un élargissement médiastinal, permet de rechercher des microcalcifications et de localiser la masse dans le médiastin postérieur. Ce cliché montre parfois, en cas de NB abdominal étendu à l'espace inframédiastinal postérieur, le déplacement d'une ligne paramédiastinale (syndrome de l'iceberg) (**figure 7**) [17].



Figure 7. Radiographie thoracique. [17] Neuroblastome de siège médiastinal postérieur, rétrothoracique (flèches blanches)

Au niveau du rachis, cet examen peut mettre en évidence un élargissement d'un espace interpédiculaire évocateur d'une tumeur en sablier, ou encore une atteinte osseuse ostéolytique. Il peut montrer des métastases pulmonaires qui sont exceptionnelles lors du diagnostic [32,33].

→ L'abdomen sans préparation :

Il n'est pas indispensable au diagnostic. Lorsqu'il est réalisé, on peut retrouver une masse abdominale, sous la forme d'une opacité médiane, refoulant les clartés digestives. Au sein de cette opacité, on peut retrouver dans 50% des cas, de fines calcifications punctiformes pré ou para-vertébrales, peu denses, groupées en nuage, très évocatrices de NB.

Il peut montrer par ailleurs, des modifications osseuses liées aux extensions intrarachidiennes et foraminales (amincissement des arcs postérieurs des côtes, érosion des pédicules, élargissement des distances interpédiculaires, scalloping vertébral). [33,34]

□ L'échographie

L'échographie est l'examen de première intention en matière d'exploration des masses abdomino-pelviennes de l'enfant. Elle présente l'avantage d'être une technique simple, réalisée en temps réel et ne nécessitant pas de prémédication. Son caractère non invasif permet de répéter l'examen, notamment pour la surveillance sous traitement.

Le NB prend en règle l'aspect d'une masse échogène, hétérogène avec présence de zones hyperéchogènes en rapport avec des calcifications, de siège rétro-péritonéal extrarénal ou lombaire paravertébral. La tumeur est souvent mal limitée, il est alors difficile d'en préciser la taille et de la dissocier des

adénopathies. Elle englobe alors les axes artériels, et ceci est très évocateur du diagnostic [32,34], d'où l'intérêt de coupler l'examen morphologique aux techniques doppler (pulsé, couleur ou énergie) afin d'évaluer les rapports vasculaires (**figure 8**).

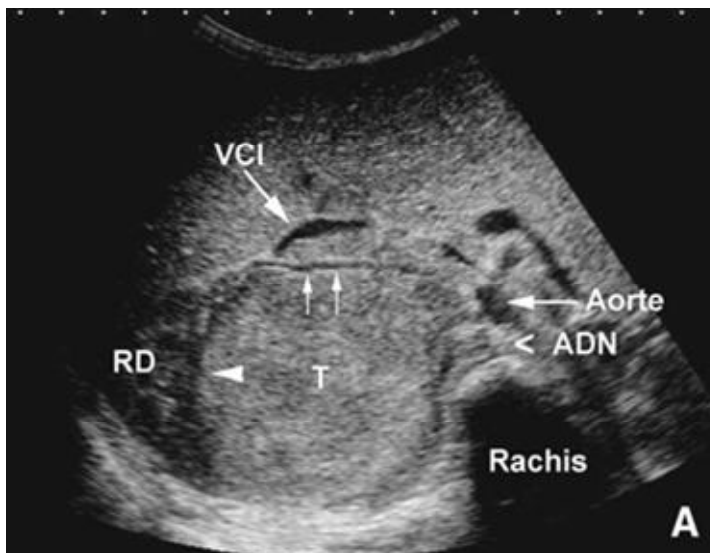


Figure 8. Echographie lombaire droite [17]

(vue axiale) réalisée chez un garçon de 3ans.

NB surrénalien droit.

L'échographie permet également d'évaluer en temps réel les rapports de la tumeur primitive avec les organes de voisinage, et de guider la ponction des tumeurs abdomino-pelviennes et thoraciques postérieures.

□ **La tomodensitométrie (TDM)**

La TDM est un examen plus délicat puisqu'il nécessite une prémédication chez le petit enfant, une préparation digestive, et une injection de produit de contraste. Cet examen offre l'avantage de localiser avec précision la tumeur primitive, d'établir ses rapports avec les organes de voisinage et les vaisseaux, ainsi que d'étudier les éventuelles atteintes osseuses et épidurales du crâne. La

TDM donne ainsi une vision globale de l'espace anatomique concerné (région cervico-thoracique, médiastin, cavité abdominale et pelvis) [35].

Une première analyse, sans injection de produit de contraste, est nécessaire pour identifier les calcifications tumorales, parfois situées très à distance de la tumeur primitive. Une injection de produit de contraste est ensuite réalisée pour étudier le rehaussement de la masse tumorale. Les NB se présentent alors comme des masses de densité tissulaire, contenant des calcifications fines et irrégulières dans 79% des cas [4ts], faiblement rehaussées par l'injection de produit de contraste, associées ou non à des adénopathies locorégionales et englobant les axes vasculaires (**figure 9**). La TDM permet également une étude concomitante des atteintes osseuses en fenêtre osseuse [32,34].

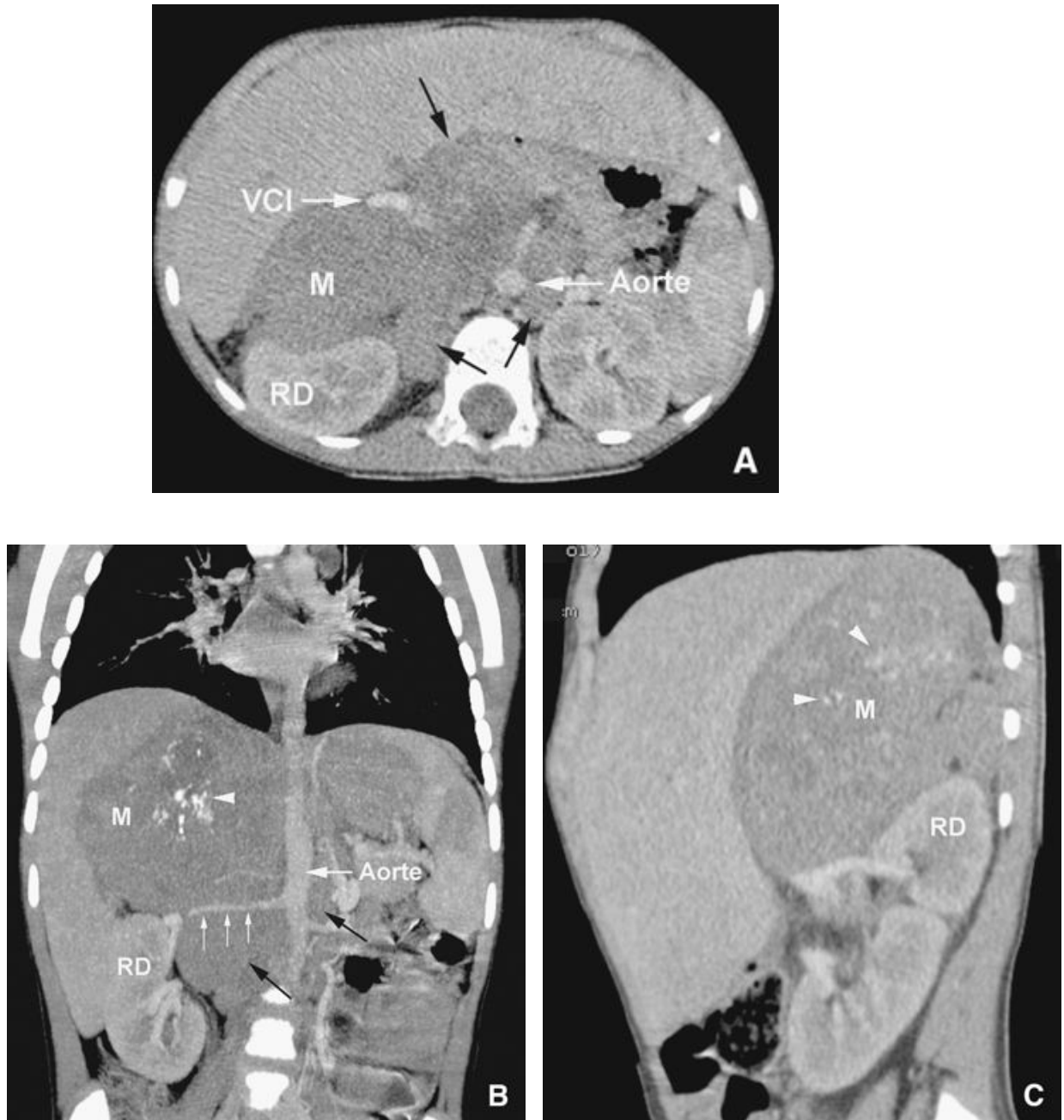


Figure 9. Garçon, 5ans. NB surrénalien droit. Scanner avec injection i.v. de produit de contraste, coupe axiale (A), frontale (B) et sagittale (C) : masse (M) calcifiée (flèche blanche) refoulant en dehors et en arrière le rein droit (RD). Adénopathies satellites para-aortiques (flèches noires) englobant la naissance du tronc cœliaque. Déplacement vers l'avant de la veine cave inférieure (VCI). Etirement de l'artère rénale droite (petites flèches blanches) [17].

□ **L'imagerie par résonance magnétique (IRM)**

C'est un examen de grande précision. Elle évalue au mieux les adénopathies, les rapports avec les vaisseaux, ou l'infiltration médiastinale postérieure éventuelle. C'est l'examen de choix pour les tumeurs en sablier, c'est pourquoi elle est indispensable dans les NB thoraciques en particulier (**figure 10. C et D**).

Elle nécessite une excellente prémédication, l'immobilité totale de l'enfant étant indispensable. Les antennes sont choisies en fonction de la taille de l'enfant et de la topographie de la tumeur primitive. Les séquences à réaliser sont au minimum des séquences de pondération T1 (spin-écho ou écho de gradient) en coupes de 4 à 5 mm, dans les trois plans de l'espace. L'utilisation du Gadolinium n'est pas systématique, de même que les séquences pondérées en T2 (avec saturation de graisse), elles peuvent néanmoins être utiles pour apprécier une extension pariétale, ou aux organes de voisinage. Les techniques d'angiographie par IRM ont été utilisées pour l'évaluation préopératoire non invasive des rapports vasculaires [35].

En pondération T1, les NB ont un signal légèrement supérieur à celui du muscle, en T2, un relatif hypersignal [36]. Les fines calcifications tumorales ne sont pas identifiées. Après injection de chélates de Gadolinium, les NB sont rehaussés de façon diffuse et souvent hétérogène [37].

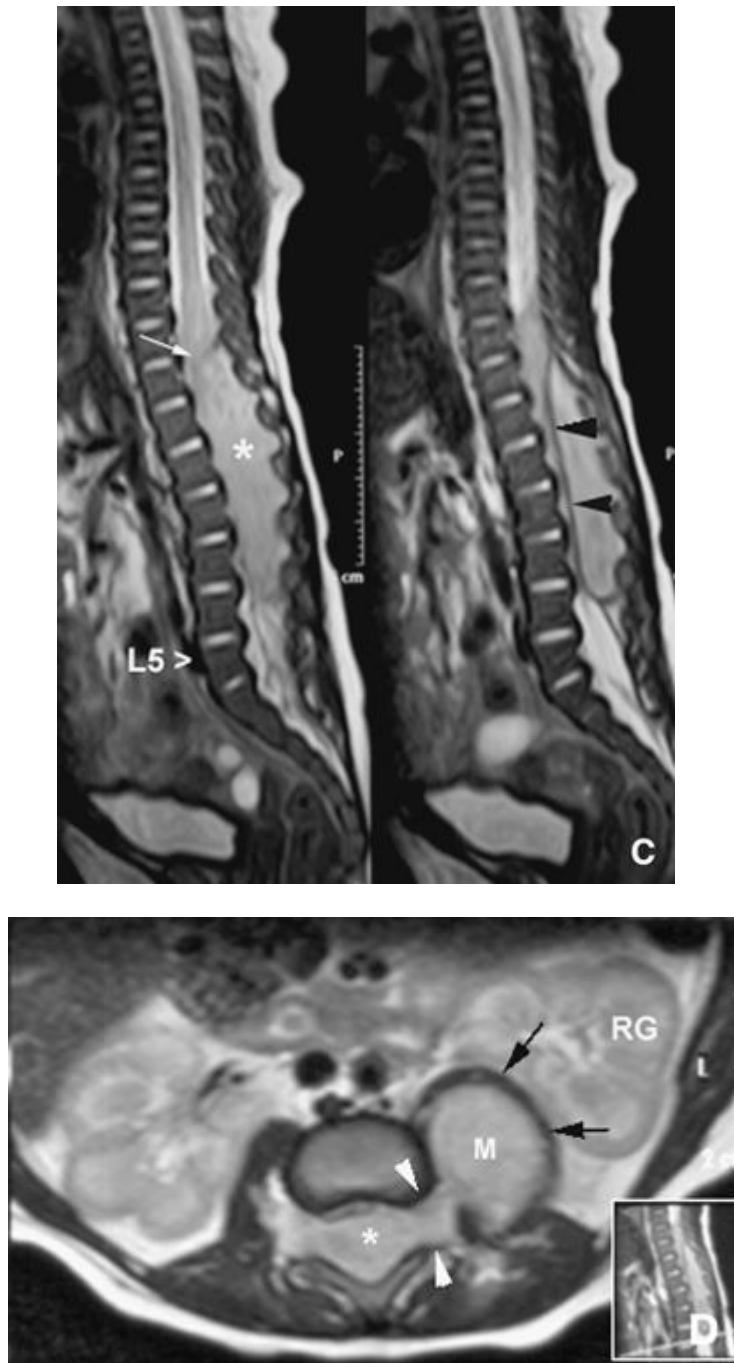


Figure 10. Fille, 2 mois. NB lombaire [17]. Imagerie par résonance magnétique (IRM) en incidence sagittale (C) et axiale (D) : masse intrarachidienne (*), refoulant le fourreau dural (têtes de flèches noires), étendues de D11 à L4 ; prolongement intraforaminal (têtes de flèches blanches), portion extrarachidienne (M) enchâssée sous le muscle psoas gauche (flèches noires).

. L'imagerie isotopique

→La scintigraphie à la mIBG

La méta-iodobenzylguanidine (mIBG) est concentrée par les granules chromaffines comme la noradrénaline et se concentre ainsi électivement dans les tissus adrénergiques [38,39]. Les fixations physiologiques sont salivaire, myocardique, hépatique, splénique, urinaire, pulmonaire, et à un faible degré surrénalienne.

La spécificité de cette technique approche 100 %. Toute fixation osseuse est anormale, y compris sur les zones de croissance. Pour la détection de la tumeur primitive, sa sensibilité est de 73 %, mais elle baisse à 45 % lorsque la tumeur primitive n'est pas sécrétante [40].

Comparativement à la méthode cyto-histologique, la sensibilité de la scintigraphie mIBG pour la détection des métastases ostéo-médullaires est de 90 %. Cette technique ne différencie pas les infiltrations médullaires des métastases osseuses (**figure 11 B**).

La sensibilité de la scintigraphie mIBG pour le diagnostic des localisations hépatiques est faible, estimée à 50 %, en raison de la fixation physiologique [40]. L'utilisation de ces isotopes peut également guider le chirurgien en peropératoire, à l'aide de sondes de détection dédiées.

Cette technique permet une meilleure définition des limites tumorales, un meilleur dépistage des adénopathies et aide à la détection des tumeurs non palpables dans les sites d'accès difficile, notamment lors de la chirurgie des récidives [41].

→La scintigraphie au technétium 99m

Seule technique scintigraphique jusqu'en 1984, elle mettait en évidence une fixation osseuse sur tout remaniement inflammatoire, spécifique ou non, de même lors des phénomènes de reconstruction. Elle garde son intérêt en cas de scintigraphie à la mIBG négative [42].

2-3-2) Bilan d'extension métastatique

L'extension hépatique est évaluée par l'échographie [17]. L'évaluation de l'extension ostéomédullaire est basée sur la scintigraphie mIBG [38], technique de référence permettant une évaluation globale de la maladie (**figure 11 B**). Dans les cas de NB non-fixant en mIBG, la recherche de métastases osseuses est réalisée par une scintigraphie osseuse conventionnelle (colloïde technétium). En cas d'exophtalmie, un scanner crânien est réalisé à la recherche d'une compression des nerfs optiques (**figure 12**) qui représente une indication d'irradiation de décompression en urgence [17].

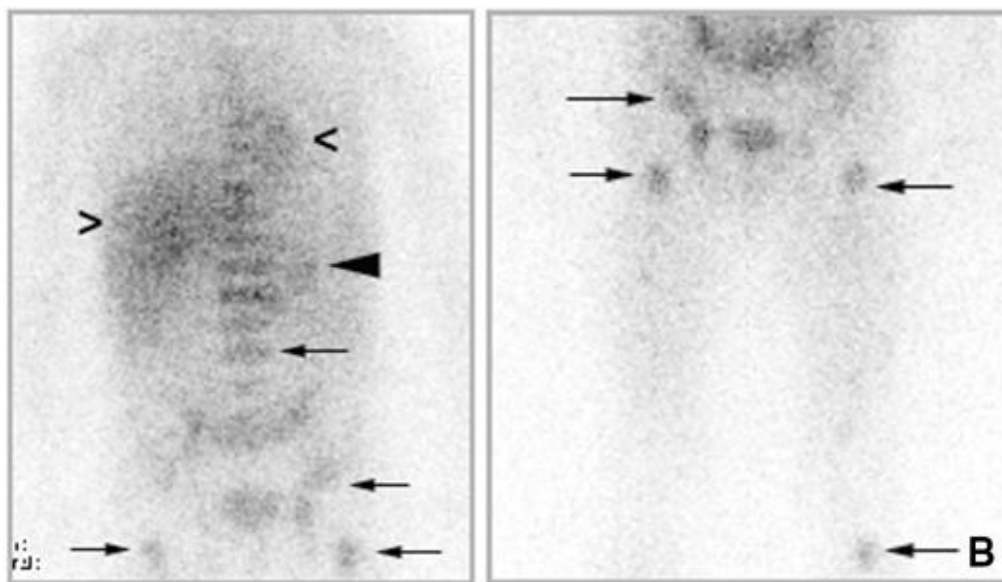


Figure 11. Garçon de 4 ans. NB surrénalien gauche [17]. Scintigraphie à la MIBG (B) : multiples fixations métastatiques dans la moelle osseuse (flèches noires) ; fixation physiologique cardiaque (<) et hépatique (>).



Figure 12. Garçon, 18 mois. NB métastatique. Scanner crânien avec injection i.v. de produit de contraste. Ostéolyse de la paroi orbitaire externe gauche avec tuméfaction péri-osseuses (têtes de flèches noires) responsable d'une compression du nerf optique gauche (flèche noire). [17].

Chez l'enfant de moins de un an, l'atteinte osseuse, individualisée comme facteur de mauvais pronostic, détermine en partie le choix du traitement. De nouvelles indications d'imagerie en découlent. Ainsi, devant un stade 4S avec fixations mIBG squelettiques, on réalise des clichés standards sur les zones fixantes, sauf pour la base du crâne où la TDM est plus sensible (coupes fines en filtre dur) [43].

L'IRM a été proposée pour l'évaluation des métastases médullaires [37,44]. Outre le fait qu'elle ne peut explorer facilement la totalité du squelette, l'IRM se heurte à deux difficultés : la première est un risque de faux négatifs chez le jeune

enfant, du fait de la richesse en moelle hématopoïétique du rachis. La deuxième est un risque de sous-estimation de la réponse au traitement d'induction, du fait d'un retard de normalisation du signal comparativement aux images scintigraphiques et aux prélèvements médullaires [45].

La réalisation systématique d'un examen TDM pulmonaire ou cérébral chez les enfants asymptomatiques n'est pas justifiée, compte tenu de la rareté de ces sites métastatiques au diagnostic.

2-3-3) Imagerie et surveillance

→ La tumeur primitive

La surveillance de la tumeur primitive repose sur la technique initialement choisie. Toutefois, pour les localisations abdomino-pelviennes, l'évaluation de la réduction de volume tumoral sous chimiothérapie peut le plus souvent être réalisée par échographie. La fréquence des contrôles est dictée par les protocoles.

L'imagerie de contrôle postopératoire sera réalisée à un mois d'intervalle de l'intervention, utilisant la même technique d'imagerie qu'en préopératoire, et ce à la recherche d'un éventuel reliquat tumoral.

L'existence de plages tissulaires mal limitées dans le lit opératoire, sans effet de masse, correspond à de simples remaniements inflammatoires ou fibreux qui disparaissent en règle progressivement sur les examens de surveillance [46].

→ Les localisations secondaires

La surveillance des localisations secondaires ostéomédullaires repose sur la scintigraphie à la mIBG, ou à défaut sur l'IRM. Celle des localisations hépatiques sur l'échographie. Pour les syndromes de Pepper, une hétérogénéité

hépatique en échographie ou en TDM peut persister plusieurs mois après la régression de l'hépatomégalie, et ne doit donc pas exclure le diagnostic de rémission complète [47].

2-4) Bilan médullaire

Près de 60% des patients atteints de NB présentent des métastases au moment du diagnostique. Les sites métastatiques sont médullaire, osseux ou les deux, dans 86% des cas. Les métastases sont recherchées par des myélogrammes ou des biopsies médullaires. Les prélèvements sont réalisés dans des sites différents ; deux sites différents doivent être évaluables avec deux techniques différentes [17].

Outre les méthodes de cytologie classique, l'utilisation de techniques d'immunohistochimie anticorps anti NSE, antigangliosides GD2, peut aider au diagnostique [48]. L'analyse médullaire est utilisée en biologie moléculaire dans le but d'analyser la maladie résiduelle en cours de traitement [49].

2-5) Diagnostic histologique :

Au terme du bilan clinique, biologique, et d'imagerie, le diagnostic de NB est fortement suspecté et l'évaluation de la dissémination est faite. Cependant, la certitude diagnostique repose sur l'analyse anatomopathologique de la tumeur.

Si la tumeur est localisée et facilement opérable, cette analyse sera pratiquée sur la pièce opératoire ; en revanche, si la tumeur est métastatique ou inopérable, du matériel tumoral sera prélevé au niveau de la tumeur primitive ou des métastases par la technique la moins invasive possible, et avant chimiothérapie [17]. Le diagnostic histologique sera détaillé dans la section « facteurs pronostiques ».

3. Facteurs pronostiques :

L'évolution à long terme des NB se caractérise par une grande hétérogénéité clinique. Certains NB, même à un stade métastatique, peuvent évoluer vers une régression puis une guérison spontanée, alors que d'autres évoluent défavorablement malgré l'intensité des thérapeutiques administrées.

La prise en compte de cette extrême hétérogénéité a conduit à une évaluation pronostique dont le but d'établir une stratification thérapeutique plus adaptée. Plusieurs facteurs entrent en compte pour déterminer le pronostic du NB, notamment des facteurs cliniques (âge de l'enfant au diagnostic, stade d'extension de la maladie), ainsi que des facteurs biologiques (histologie et marqueurs biologiques) et des données cytogénétiques [50].

Les chances de guérison diffèrent largement dans le NB. En effet, un enfant atteint d'un NB de **pronostic favorable**, comprenant les tumeurs de stades 1, 2 et 4s sans amplification de MYCN, a une chance de guérison supérieure à 80%, tandis que celui atteint d'un NB de **pronostic sévère**, c'est-à-dire âgé de plus de 18 mois avec un stade 4 ou âgé de moins de 18 mois avec amplification de MYCN (stade 3 ou 4), a moins de 30% de chances de guérir [50].

3-1) Facteurs pronostiques anatomo-cliniques

3-1-1) Stade de la tumeur : classification INSS

Certains facteurs cliniques et anatomiques ont un impact sur l'évolution au long terme des NB, parmi lesquelles, on retrouve le stade d'extension tumorale qui a fait l'objet d'un consensus international. C'est ainsi qu'a émergé l'International Neuroblastoma Staging System (INSS). Cette classification a été publiée en 1988 et révisée en 1993. Elle prend en compte les caractéristiques

cliniques, radiologiques, chirurgicales et pathologiques de la tumeur pour évaluer la dissémination du NB [17].

La classification INSS subdivise le NB en cinq stades numérotés de 1 à 4 en plus du stade 4S (**tableau 1**). La mise en évidence de métastases à distance est un critère majeur dans la classification du NB. En effet, dès la découverte d'une métastase à distance, la tumeur est classée stade 4, exceptées les métastases confinées à la peau, au foie et à la moelle osseuse qui sont classés 4S [50].

Tableau 1. Classification de l'International Neuroblastoma Staging System (INSS) [44]

Stade	Tumeur	Exérèse macroscopique	Ganglions locoréginaux	Métastases à distance
1	Localisée	Complète	Non	Non
2A	Localisée	Incomplète	Non	Non
2B	Localisée	Complète/incomplète	Oui, envahis (homolatéraux)	Non
3	- Unilatérale infiltrant la ligne médiane	Non résécable	Oui/non	Non
	- Ou unilatérale	Oui/non	Oui, envahis controlatéraux	
	- Ou médiane, bilatérale	Non résécable	Oui/non	
4	N'importe quel stade local			Os, moelle, ganglions à distance, foie...
4S	Comme stade 1 ou 2 Age < 1 an			Oui, mais seulement peau, foie, moelle

Tout récemment, le stade de la maladie au diagnostic a été renouvelé, passant de la classification définie selon l'INSS à celle définie par le

International Neuroblastoma Risk Group Classification (INRG) [51,52]. Cette nouvelle classification distingue les stades L1 et L2 (tumeurs localisées avec ou sans possibilités de chirurgie première selon des critères d'imagerie) des stades métastatiques M ou MS. Le pronostic des stades L1 et L2 est intermédiaire. Le stade MS correspond au stade 4S de la classification de l'INSS, il regroupe les tumeurs du nourrisson avec métastases hépatiques, cutanées et/ou médullaires, mais sans atteinte osseuse, et est associé à un pronostic favorable avec possibilité de régression spontanée. Le stade M est de pronostic sombre (**tableau 2**) [3,10].

Tableau 2. Classification de l'International Neuroblastoma Risk Group (INRG) [10].

Stade	Description
L1	Tumeur locorégionale n'envahissant pas les organes de voisinage avec absence de facteurs de risque à l'imagerie
L2	Tumeur locorégionale avec présence de facteurs de risque à l'imagerie, montrant des signes d'invasivité locale
M	Envahissement métastatique à distance (excepté MS), scintigraphie à la mIBG obligatoire
MS	Métastases limitées à la peau et/ou foie et/ou moelle osseuse(<10%), chez enfants <18mois, scintigraphie à la mIBG négative sur le squelette

3-1-2) L'âge au diagnostic

L'âge au moment du diagnostic est un critère important : le devenir d'un NB, quel que soit son stade, est meilleur chez un enfant de moins d'un an. Cependant, les dernières études sur ce facteur pronostic, penchent plutôt vers une limite d'âge supérieure à 12 mois [54,55]. En effet, ces études démontrent que les patients dont l'âge est compris entre 12 à 18 mois ont un aussi bon pronostic que ceux âgés de moins de 12 mois. De même, les enfants âgés de 18 à

24 mois ont un pronostic équivalent à ceux de 24 mois et plus. Ainsi, le Children's Oncology Group (COG) a proposé l'âge de 18 mois comme limite d'âge pour ce facteur pronostic du NB [55]. En revanche, cette nouvelle limite d'âge est encore controversée et la limite d'âge généralement utilisée demeure 12 mois (**tableau 3**).

Tableau 3. Fréquences respectives du neuroblastome selon l'âge et le stade d'extension tumorale [56].

	1	2	3	4	4S
0-1 an	9%	23%	21%	25%	22%
<i>> 1 an</i>	4%	8%	15%	73%	-

3-2) Facteurs biologiques

3-2-1) Marqueurs biologiques

Plusieurs molécules ont été identifiées, dont le dosage permettrait d'apprécier la masse tumorale initiale, son évolution ou de définir le pronostic. Ainsi, le taux de ferritine sérique est élevé chez les patients porteurs d'un NB avec extension locorégionale ou métastatique [57]. La neuron specific enolase a un taux corrélé au stade d'extension tumorale et à la survie [58]. Le disialoganglioside GD2 est une molécule présente à la surface des neuroblastes dont le dosage pourrait témoigner de la progression tumorale du NB [59]. De même, un taux de LDH élevé est significativement associé à une survie inférieure dans les NB non métastatiques, en particulier chez les enfants de plus de un an [60].

Le dosage fractionné des catécholamines urinaires permet d'analyser différents métabolites. Ainsi, les NB indifférenciés se caractérisent par un déficit

en dopamine-bêta hydroxylase dans leur voie de synthèse catécholaminergique. Ceci se traduit par une excrétion urinaire élevée en dopamine, acides vanyllactique et homovanyllique, et une excrétion moindre en acide vanylmandélique avec un rapport VMA/HVA bas [61,62].

Les neurotrophines (NGF et BDNF) interviennent au cours du développement du SN central par l'intermédiaire de récepteurs à tyrosine kinase Trk (Trk-A et Trk-B). L'expression différentielle des récepteurs Trk est étroitement associée aux caractéristiques évolutives des NB : un niveau d'expression élevé de Trk-A est spécifiquement observé dans les NB de bas grade et sans amplification de MYCN, alors qu'un niveau d'expression élevé de Trk-B est retrouvé dans les NB de haut grade ou avec amplification de MYCN [50].

3-2-2) Histologie

L'histologie est un facteur pronostique important en matière de NB du fait du large spectre de tumeurs, autant bénignes que malignes. Dans le but d'avoir une stratification histologique homogène, Shimada et al. ont proposé en 1984 une classification qui a longtemps été utilisée à l'échelle internationale [63]. Cette étude a été révisée en 1999 par l'International Neuroblastoma Pathology Classification (INPC), et bien que la classification de Shimada soit encore utilisée, l'INPC est devenue la référence [45,64]. Elle distingue les tumeurs à histologie défavorable par le biais de critères histologiques auxquels s'ajoute l'âge au moment du diagnostic [17,65].

Les critères histologiques, définis par la classification de Shimada et repris par la classification de l'INPC, prennent en compte :

- Le développement du stroma schwannien : le stroma est un tissu conjonctif qui contient, dans le cadre des tumeurs métastatiques, plus ou moins de cellules de Schwann. On distingue alors les tumeurs à stroma riche (ganglioneuromes et ganglioneuroblastomes) ou pauvre (NB) en cellules de Schwann (**figure 13**).

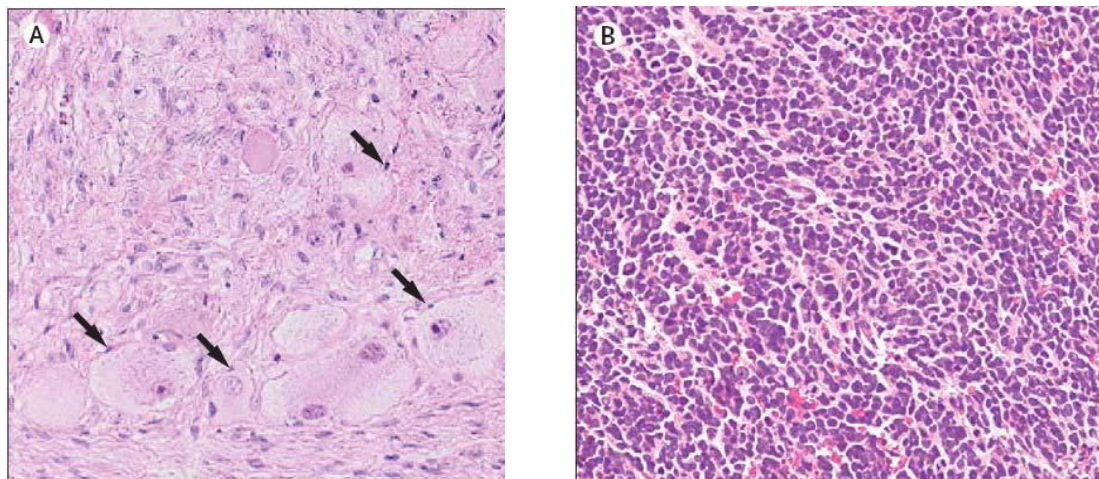


Figure 13. Histologie de coupes de tumeurs neuroblastiques [7].

A : tumeur neuroblastique à stroma riche en cellules de Schwann (mise en évidence par les flèches).

B : neuroblastome, caractérisé par des petites cellules rondes.

- Le degré de maturation neuroblastique: on distingue alors les tumeurs indifférenciées, peu différenciées ou différenciées.

- L'index mitose-caryorrhexis (MKI pour mitose karyorrhexis index) défini comme le pourcentage de cellules en division (mitose) et/ou ayant du matériel nucléaire condensé et fragmenté (caryorrhexis). On distingue alors les tumeurs de faible MKI (index < 2%), les tumeurs à MKI intermédiaire (index entre 2 et 4%) et les tumeurs à MKI élevé (index > 4%) [17].

Ainsi, la classification de l'INPC permet de distinguer quatre catégories morphologiques de base (**figure 14**) : le ganglioneurome (GN), le ganglioneuroblastome mélangé, le ganglioneuroblastome nodulaire et le NB [9,45,64].

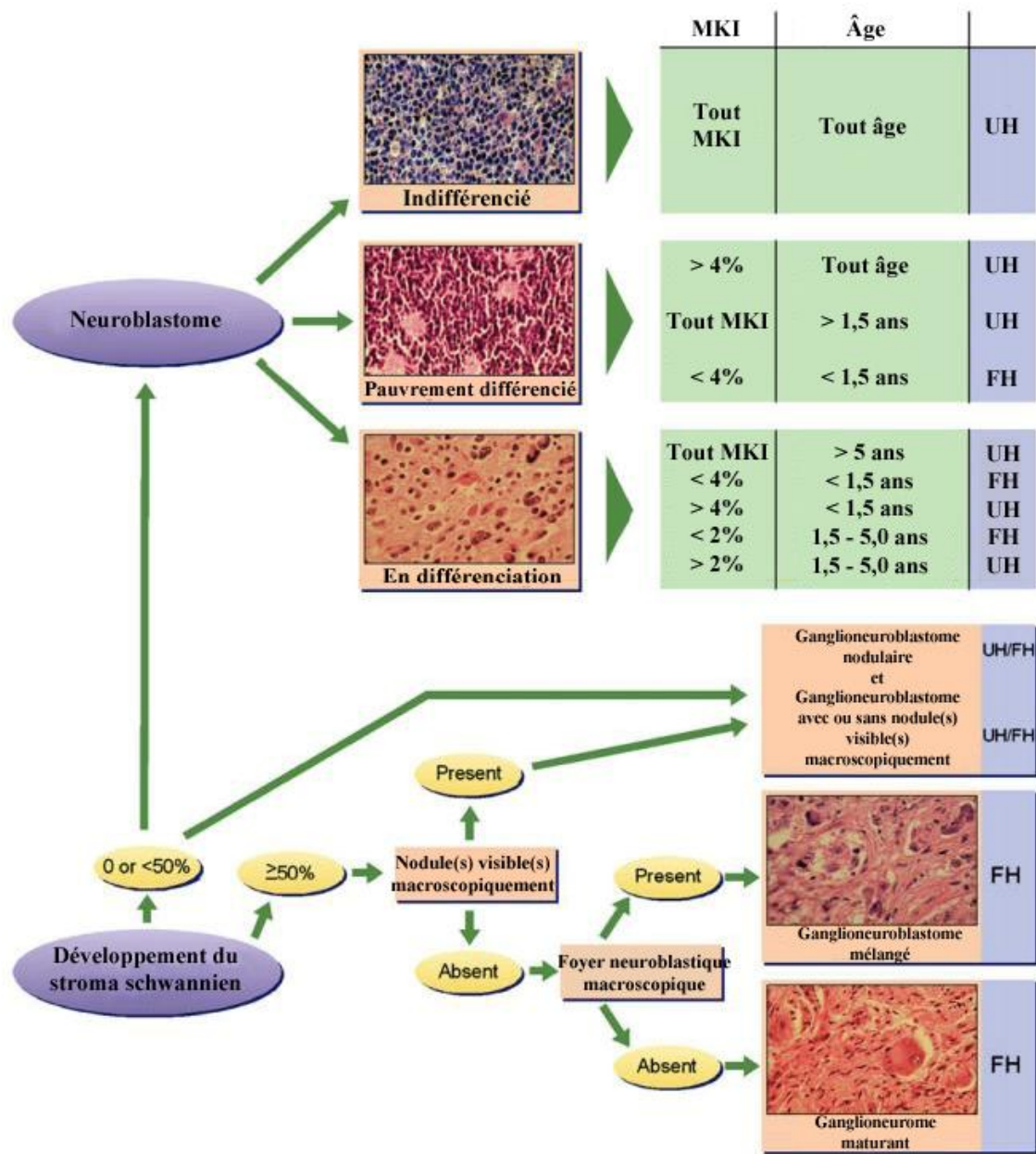


Figure 14. Classification des neuroblastomes en histologie favorable ou non favorable selon les différents critères de l'INPC [9]

Le premier critère à déterminer est le pourcentage de développement du stroma schwannien.

Le second est le niveau de différenciation des neuroblastes. Finalement, l'index mitose caryorrhexie est évalué. MKI= index mitose-caryorrhexie, FH =histologie favorable, UH = histologie non favorable.

Selon leur contenu cellulaire, on peut distinguer trois types de tumeurs. Le GN est composé uniquement de cellules ganglionnaires matures et de cellules de Schwann, et est considéré bénin. Au contraire, le NB est une tumeur composée principalement de neuroblastes (cellules indifférenciées) qui permettent de distinguer trois sous-types de tumeurs selon le pourcentage de neuroblastes en voie de différenciation. Ainsi, on distingue les NB indifférenciés (0%), pauvrement différenciés (<5%) et différenciés (>5%). Finalement le ganglioneuroblastome (GNB) est une tumeur qui comprend des cellules matures et des neuroblastes en différenciation et qui est composée de plus de 50% de stroma schwannien. Les GNB sont des tumeurs potentiellement malignes, quoiqu'elles n'aient pas d'amplification de MYCN, et ont un meilleur pronostic que les NB indifférenciés. Il existe deux types de GNB : la forme nodulaire, caractérisée par la présence de nodules de neuroblastes visibles macroscopiquement, et la forme mélangée (ou mixte), qui contient de petits îlots de neuroblastes dans un stroma riche [9,33,50,66].

Outre la classification selon le contenu cellulaire sus-décrite, l'INPC a stratifié les tumeurs selon leur MKI et l'âge au diagnostic. Ainsi, le **groupe à histologie défavorable** comprend les tumeurs indifférenciées ou avec un MKI élevé quel que soit l'âge, les tumeurs pauvrement différenciées ou avec un MKI intermédiaire chez les patients âgés de plus de 18 mois, et les tumeurs différenciées ou avec un MKI bas au-delà de 60 mois. Le **groupe à histologie favorable** inclut tous les autres cas, ainsi que les GN [4,9].

3-3) Facteurs génétiques

Le caractère imparfait des données anatomiques et cliniques a conduit à la recherche de marqueurs biologiques plus précis pour le pronostic du NB, en

particulier les facteurs génétiques. Les analyses génétiques vont permettre d'affiner la diversité des profils phénotypiques des NB, et d'avoir une approche pronostique individuelle [10]. Les facteurs génétiques seront traités dans le chapitre suivant.

3-4) Classification des critères cliniques et biologiques

Une classification selon les critères cliniques et biologiques a été proposée par Brodeur et al. [67] à partir des données sur la génétique du NB, en corrélation avec la présentation clinique des patients (**tableau 4**). Elle devrait permettre la mise en place de thérapies basées sur la notion de groupes de risque.

Tableau 4. Classification en fonction des critères cliniques et biologiques [3].

	Type 1	Type 2A	Type 2B
Ploïdie	Hyperploïdie /triploïdie	Diploïdie/ tétraploïdie	Diploïdie ou tétraploïdies
MYCN	Non amplifié	Non amplifié	Amplifié
Trisomie 17q	Rare	fréquente	Fréquente
Délétion 11q, 14q	Rare	fréquente	Rare
Délétion 1p	55%	25-50%	80-90%
Expression de TrkA	élevée	basse	Basse ou absente
Expression de TrkB	tronquée	Basse ou absente	Elevée
Expression de TrkC	élevée	Basse ou absente	Basse ou absente
Age	< un an	> un an	1-5ans
Stade INSS	1, 2 ou 4S	3 ou 4	3, 4
<i>Survie à 5ans</i>	95%	40-50%	25%

4- Prise en charge thérapeutique

4-1) Moyens thérapeutiques

4-1-1) La chirurgie

L'essentiel du traitement des tumeurs localisées repose sur le caractère opérable ou non de cette tumeur. La chirurgie est le traitement initial et unique des enfants porteurs d'une tumeur localisée résécable sans risque [17].

□ Pour les tumeurs initialement inopérables, la chirurgie sera effectuée après réduction du volume tumoral par la chimiothérapie néo-adjuvante (**figure 15**). Il faut tout de même noter que les difficultés chirurgicales persistent souvent malgré une chimiothérapie première [17].

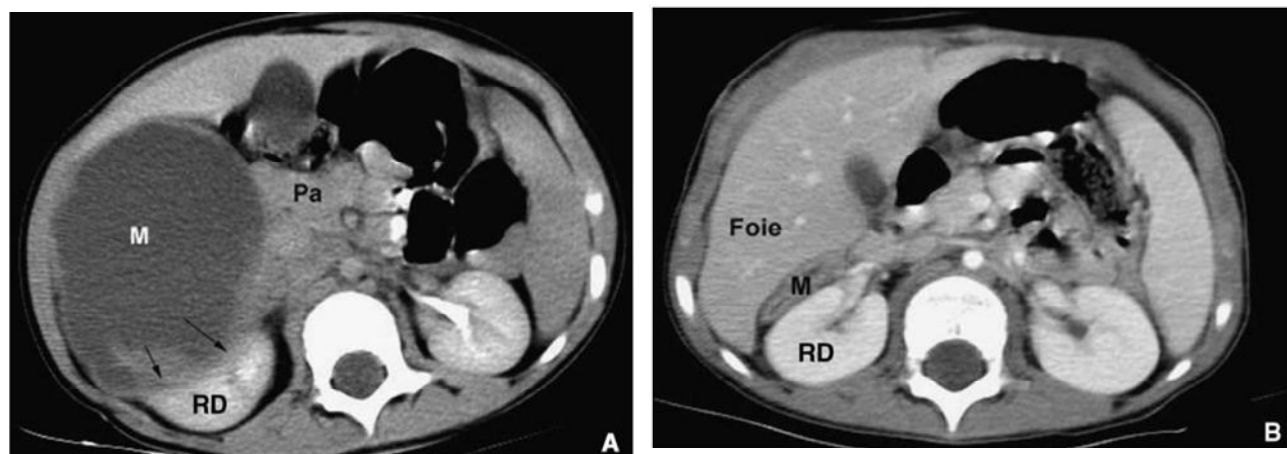


Figure 15. Garçon de 2 ans. NB surrénalien droit. Scanner initial (A) et après chimiothérapie (B). [17].

□ Pour les tumeurs métastatiques, la chirurgie est pratiquée secondairement, après l'obtention d'une régression des métastases par la chimiothérapie d'induction, et avant la consolidation par la chimiothérapie à hautes doses. Devant la présence d'un risque de complications, la chirurgie peut être reportée à après la consolidation [17].

Dans tous les cas, l'exérèse de la tumeur doit être la plus complète possible. La qualité de l'exérèse est fondée sur trois critères : les comptes-rendus opératoire, histologique et l'imagerie post-opératoire [6].

4-1-2) La chimiothérapie

Depuis la fin des années 1970, différents essais thérapeutiques ont montré qu'il est possible de guérir les patients, ayant une tumeur inextirpable grâce à une chimiothérapie conventionnelle associée à la chirurgie [68]. La chimiothérapie doit alors être réalisée avant la chirurgie, afin de faciliter et de permettre une exérèse macroscopiquement complète, tout en limitant les complications chirurgicales (**figure 15**) [69].

A doses conventionnelles, les principales substances dont l'efficacité a été démontrée sont : les alkylants (cyclophosphamide, ifosfamide, carboplatine, cisplatine, témozolomide, peptichemio), les alcaloïdes végétaux (vincristine), les inhibiteurs de la topo-isomérase (étoposide, téniposide, topotécan) et les anthracyclines (adriamycine) [17]. L'association des drogues est supérieure à la prise isolée d'une seule drogue. Leur séquence d'administration est également essentielle, le **tableau 5** résume les principales associations utilisées [70-73].

Tableau 5. Chimiothérapies conventionnelles [6].

	j 1	j 2	j 3	j 4	j 5	j 21
CAdO (enfant ≥ 1 an ^[31, 84]) Vincristine : 1,5 mg/m ² Cyclophosphamide : 300 mg/m ² Doxorubicine : 30 mg/m ²	x				x	idem
	x	x	x	x	x	
				x	x	
CO (enfant < 1 an ^[31]) Vincristine : 1,5 mg/m ² Cyclophosphamide : 150 mg/m ²	x					idem
	x	x	x	x	x	
Cisplatine - VP 16 ^[74] Cisplatine : 40 mg/m ² VP 16 : 100 mg/m ²	x	x	x	x	x	idem
	x	x	x	x	x	
Carboplatine - VP 16 (NB localisés ^[84]) Carboplatine : 200 mg/m ² (160*) VP 16 : 150 mg/m ²	x	x	x			idem
	x	x	x			
Carboplatine - VP 16 (NB métastatiques) ^[31] Carboplatine : 160 mg/m ² VP 16 : 100 mg/m ²	x	x	x	x	x	idem
	x	x	x	x	x	

Le nombre et la séquence des cures dépendent du stade, de l'âge et des protocoles multicentriques en cours.

CADO : cyclophosphamide-doxorubicine-vincristine ; CO : cyclophosphamide-vincristine

La chimiothérapie conventionnelle a permis d'améliorer le pronostic des patients porteurs de formes localisées et des patients de moins d'un an ayant des formes métastatiques. En revanche, la survie des patients à haut risque, traités avec la chimiothérapie conventionnelle seule, est de 20 à 30% selon les études [74,75].

Une deuxième modalité d'administration de chimiothérapie est la chimiothérapie à hautes doses. Son utilisation repose sur le concept effet-dose des agents alkylants avec une étroite relation entre la dose administrée et la réponse tumorale. Elle s'applique aux NB dont le pronostic est mauvais sous chimiothérapie conventionnelle (patients métastatiques âgés de plus de un an au diagnostic) [76,78]. La toxicité limitante des agents alkylants est hématologique

et peut être évitée par l'administration d'une greffe de cellules souches hématopoïétiques autologues. L'administration de greffon autologue permet l'administration de doses 10 à 15 fois supérieures aux doses conventionnelles. Les agents alkylants les plus fréquemment utilisés sont le métaphlan [79-81], le cyclophosphamide [73], et le busulfan [82,83].

La majorité des NB est chimiosensible. Cependant, il existe des NB résistants à la chimiothérapie. Ce phénomène peut être dû à la suppression des gènes MRP1 (multidrug resistance-associated protein 1) ou MDR1 (multidrug resistance 1), codant des transporteurs de type ABC (ATP-binding cassette) qui permettent l'efflux des drogues et par conséquent diminuent le temps d'exposition des cellules à ces drogues [84,85].

4-1-3) La radiothérapie

□ *La radiothérapie externe*

Le NB est une tumeur radiosensible. Cependant, la place de la radiothérapie dans la prise en charge actuelle des patients reste à définir. En revanche, il a été démontré qu'elle est un déterminant majeur dans la survenue d'un second cancer [86,87]. La radiothérapie a été longtemps utilisée pour améliorer le pronostic des formes localisées, mais l'efficacité des chimiothérapies en a limité les indications de façon considérable [88].

Des études non randomisées montrent le bénéfice de l'administration d'une radiothérapie sur le contrôle local de la maladie au stade métastatique. Une irradiation locale soit avant intensification comme le cas des Etats unis, soit après, comme dans le protocole européen, fait partie de la prise en charge actuelle des patients à haut risque [89,90].

L'administration d'une irradiation en « flash », dans un but de décompression, a été longtemps utilisée dans les formes en sablier et les syndromes de Pepper. Actuellement, le consensus dans le monde est en faveur de l'utilisation de la chimiothérapie conventionnelle dans ces situations, avec une efficacité démontrée [17].

Par ailleurs, la radiothérapie garde un rôle important dans la prise en charge palliative. Elle permet un contrôle rapide de la douleur et une stabilisation des lésions évolutives, en particulier chez les patients ayant des métastases osseuses ou ganglionnaires douloureuses [17].

□ *La radiothérapie ciblée*

La mIBG marquée par l'iode 131 (¹³¹I-mIBG) peut constituer un moyen d'administrer une irradiation ciblée. Bien que développée depuis les années 1980, la place thérapeutique de la ¹³¹I-mIBG reste encore à définir. Ce traitement a une efficacité démontrée lorsqu'il est utilisé à visée antalgique dans les situations palliatives. Il permet également de contrôler les lésions osseuses multifocales réfractaires [91]. La toxicité hématologique (thrombopénie) de cette approche thérapeutique peut être contournée par l'administration de cellules souches périphériques [92].

4-2) Stratégie thérapeutique selon les différents groupes

Le traitement des NB peut combiner la chimiothérapie et la chirurgie, voire même la radiothérapie. Ces thérapies lourdes ont des risques de toxicité et de séquelles qui doivent être pris en considération. La grande variabilité clinique et l'hétérogénéité évolutive considérable des NB sont prises en compte lors de l'établissement de la stratégie thérapeutique. Pour ce faire, la plupart des centres

utilisent une stratification selon des groupes de risque [50,93]. Un travail international a cherché à identifier des « groupes de risques » permettant ensuite une meilleure stratification thérapeutique (**tableau 6**). Cette classification en groupes de risques préthérapeutiques prend en compte, en plus des variables cliniques (âge au diagnostic, le stade INSS) et pathologiques (l'histologie), des variables génétiques telles que la ploïdie, une amplification du gène MYCN ou le statut du chromosome 11q8. Le statut des autres marqueurs génétiques, n'étant connu que chez peu de patients, n'est pas pris en considération [17]. Il existe trois groupes de risque : faible, intermédiaire et élevé.

Tableau 6. Schéma de consensus de l'International Neuroblastoma Risk Group Classification (INRG) pour la classification préthérapeutique [51].

Stade INRG	Age (mois)	Histologie	Grade de différenciation de la tumeur	MYCN	Altération de 11q	Ploïdie	Groupe de risque avant traitement
L1/L2		GN mature GNB « intermixed »					A Très bas
L1		Tous sauf GN mature ou GNB « intermixed »		NA			B Très bas
				Amp			K Haut
L2	< 18	Tous sauf GN mature ou GNB « intermixed »		NA	Non		D Bas
					Oui		G Intermédiaire
			Différencié	NA	Non		E Bas
	≥ 18			NA	Oui		H Intermédiaire
			Peu différencié ou indifférencié	NA			
		GNB nodulaire, NB		Amp			N Haut
M	< 18			NA		Hyperdiploïdie	F Bas
	< 12			NA		Diploïdie	I Intermédiaire
	12 to < 18			NA		Diploïdie	J Intermédiaire
	< 18			Amp			O Haut
	≥ 18						P Haut
MS				NA	Non		C Très bas
	< 18				Oui		Q Haut
				Amp			R Haut

En ce qui a trait aux NB de faible risque, le traitement est limité à l'observation ou à l'exérèse chirurgicale puisqu'ils ont tendance à régresser spontanément. Les stades 4S sont étroitement surveillés, ils ne nécessitent un traitement qu'en cas de progression tumorale ou de menace vitale. Un système de score a été établi pour évaluer cette menace, il permet de mieux guider la décision d'un éventuel traitement ou d'une simple surveillance, c'est le score de Philadelphie [94]. Un score de 0 sous-entend qu'il n'y a aucune menace vitale, alors qu'un score de 10 signifie qu'il y'a souffrance viscérale de cinq appareils représentés dans le **tableau 7**.

Tableau 7. Score de Philadelphie [94].

<i>Appareil</i>	<i>Sévérité</i>	<i>Score</i>
Gastro-intestinal Vomissements>10% des apports Vomissements répétés, nécessitant une réhydratation IV	Léger Sévère	1 2
Respiratoire Polypnée>60bat/min avec besoin d'O2 Besoin de CPAP ou ventilation artificielle	Léger/ modéré Sévère	1 2
Retour veineux Œdème des membres inférieurs Atteignant le scrotum et/ou le sacrum	Léger Sévère	1 2
Rénal Oligurie, diurèse<2ml/kg/h Oligurie avec des signes d'insuffisance rénale	Léger Sévère	1 2
Hépatique Thrombopénie/CIVD plaquettes <50.109/l	Sévère	2

Les NB de risque intermédiaire constituent le groupe le plus hétérogène et dont l'évolution est la plus variable. La stratégie thérapeutique est guidée par l'évolution clinique et anatomique de la tumeur, pouvant nécessiter une chimiothérapie à dose minimale efficace suivie d'un traitement chirurgical dans le but d'obtenir une exérèse tumorale totale ou subtotale sans mutilation [95]. Les nouveaux facteurs pronostiques pris en considération tels que 1p et 11q amènent une distinction importante (**tableau 8**).

Tableau 8. Prise en charge des neuroblastomes de risque intermédiaire selon les caractéristiques biologiques définies par le COG (adapté du Children Oncology Group).

Stade INSS	Âge au diagnostic	Caractéristiques biologiques	Chimiothérapie (nombre de cycles)
3	< 365 jours	MYCN na, HF, DI>1 LOH 1p et/ou LOH 11q	4
3	< 365 jours	MYCN na, HNF et/ou DI=1 1p et 11q normaux	8
3	< 365 jours	MYCN na, HNF et/ou DI=1 LOH 1p et/ou LOH 11q	8
4	< 365 jours	MYCN na, HF, DI>1 1p et 11q normaux	4
4	< 365 jours	MYCN na, HNF et/ou DI=1 Peu importe le statut 1p/11q	8
4	< 365 jours	MYCN na, HF, DI>1 LOH 1p et/ou LOH 11q	4

Chez des patients âgés de moins de 365 jours qui ont un NB de stade 3 ou 4 sans amplification de *MYCN*, le nombre de cycles de chimiothérapie sera dicté selon l'histologie, la ploïdie et la perte d'hétérozygotie du 1p et/ou du 11q. HF =histologie favorable, HNF = histologie non favorable, DI = index d'ADN.

Pour les NB de risque élevé, les progrès thérapeutiques des vingt dernières années n'ont amélioré que faiblement les chances de survie. La stratégie thérapeutique actuelle combine la chimiothérapie néo-adjuvante, la chirurgie, la chimiothérapie myélo-ablative avec thérapie cellulaire et la radiothérapie [50].

4-3) Réponse au traitement

La réponse au traitement est classifiée selon l'International Neuroblastoma Response Criteria (INRC) [44]. Une réponse complète (CR) est définie par la disparition totale de toutes les tumeurs primaires et les métastases avec une normalisation des catécholamines.

Une très bonne réponse partielle (VGPR) indique une réduction du volume de la tumeur primaire à 90-99% avec disparition de toutes les métastases et normalisation des catécholamines.

Une réponse partielle (PR) indique une diminution du volume de la tumeur primaire de plus de 50% et une diminution de plus de 50% de tous les sites métastatiques. Une réponse mixte (MR) indique une réponse de plus de 50% à certains sites, alors que d'autres ont une réduction de volume de moins de 50%.

Une non réponse (NR) indique une réduction de moins de 50% de tous les sites, mais pas d'augmentation supérieure à 25% dans ces lésions ni de nouvelles lésions visibles. Finalement, une progression (DP) indique une augmentation de plus de 25% du volume d'une lésion préexistante ou d'une nouvelle lésion (**tableau 9**)

Tableau 9. La réponse au traitement selon les critères de l'INRC [44].

<i>Réponse</i>	<i>Tumeur primitive</i>	<i>métastases</i>
CR	Pas de tumeur	Pas de tumeur ; catécholamines normales
VGPR	Diminution de 90-99%	Pas de tumeur ; catécholamine normales ; hyperfixation 99Tc squelettique résiduelle possible
PR	Diminution > 50%	Diminution de tous les sites mesurables > 50% <u>Os et moelle osseuse</u> : diminution du nombre de sites positifs > 50%, pas plus d'un territoire envahis*
MR	Pas de nouvelles lésions : réduction d'une lésion mesurable > 50% (primitive ou métastase) et réduction des autres lésions < 50% ; progression < 25% de toute lésion	
DP	Toute nouvelle lésion ; augmentation > 25% d'une lésion. Envahissement médullaire secondaire	

CR : réponse complète ; VGPR : très bonne réponse partielle ; PR : réponse partielle ; MR : réponse mixte ; NR : non réponse ; DP : progression.

5) Nouvelles stratégies thérapeutiques

Dans le but d'améliorer la thérapie des NB, de nouvelles stratégies thérapeutiques ont été développées. Elles reposent sur des mécanismes différents de ceux des substances chimiothérapeutiques actuelles, afin d'éviter l'apparition de résistances aux drogues, et de limiter l'apparition de tumeurs résiduelles.

5-1) L'immunothérapie anti-tumorale

Le principe de l'immunothérapie anti-tumorale repose sur le fait que les cellules tumorales expriment des antigènes à leur surface qui leur sont spécifiques. Le NB et du fait de son origine embryonnaire, exprime des antigènes peu ou pas exprimés par le tissu sain chez l'enfant. Parmi ces antigènes, le ganglioside GD2, fortement exprimé à la surface des neuroblastes, est une cible privilégiée de l'immunothérapie [96].

En effet, il a été montré que le traitement de neuroblastes par un anticorps monoclonal anti-GD2 induit la lyse cellulaire tumorale par deux mécanismes de cytotoxicité : anticorps-dépendante et complément-dépendante [97]. Différents anticorps monoclonaux anti-GD2 ont été développés et utilisés lors d'essais cliniques de phase I ou II. Cette stratégie donne des résultats encourageants pour le traitement des formes graves de NB [98-100].

Une autre forme d'immunothérapie anti-tumorale, dite active, consiste en la stimulation d'une réponse immune capable d'éliminer les cellules tumorales. Elle peut correspondre à une activation de la réponse innée non spécifique, ou à une activation de cellules reconnaissant spécifiquement les cellules tumorales [17]. Les neuroblastes, en particulier dans les formes de haut risque, n'expriment généralement pas les molécules de human leucocyte antigen (HLA) classe I à leur surface [101], ce qui explique leur sensibilité à une lyse médiée par les

cellules de l'immunité innée tels les lymphocytes natural killer (NK) [102-104]. Cependant, une réponse immune spécifique peut être obtenue par l'administration d'interféron- γ ou d'IL2 (interleukine 2) afin de stimuler l'expression des marqueurs HLA à la surface des cellules tumorales [101,105,106].

Une autre approche permettant de pallier à ce problème repose sur l'utilisation de cellules dendritiques à la place des lymphocytes. En effet, en chargeant les cellules dendritiques par un lysat de cellules de NB, il est possible de sensibiliser les cellules dendritiques à l'ensemble des antigènes tumoraux [102]. La sensibilisation des cellules dendritiques par des cellules de NB nécrosées est également efficace [107].

5-2) Traitement anti-angiogénique

L'angiogénèse permet la formation de nouveaux vaisseaux à partir de vaisseaux préexistants. Elle nécessite la libération par les cellules tumorales de facteurs de croissance qui vont stimuler la prolifération de cellules endothéliales (**figure 16**). De nombreuses études montrent que les cellules de neuroblastome libèrent des facteurs pro-angiogéniques et sont capables d'induire l'angiogénèse *in vivo*. De plus, la vascularisation est associée au mauvais pronostic et l'expression de certains facteurs angiogéniques tels que le VEGF (vascular endothelial growth factor) ou le PDGF-A (platelet-derived growth factor-A) est augmentée dans les neuroblastomes de stades avancés [108].

L'angiogénèse constitue donc une cible thérapeutique intéressante pour les neuroblastomes, d'autant plus qu'elle nécessite l'intervention des cellules endothéliales qui ne sont pas touchées par l'apparition de phénomène de résistance aux drogues chimiothérapeutiques, contrairement à certaines cellules tumorales.

Différentes approches ciblant la neutralisation de facteurs proangiogéniques, l'inhibition de la prolifération des cellules endothéliales ou la destruction des vaisseaux nouvellement formés donnent des résultats encourageants dans les neuroblastomes [109]. Récemment, il a été démontré que l'administration de caplostatine, qui bloque l'angiogénèse en inhibant la perméabilité vasculaire, à des souris transgéniques ayant développés des neuroblastomes palpables induit une diminution importante de la masse tumorale, sans induire de toxicité [110].

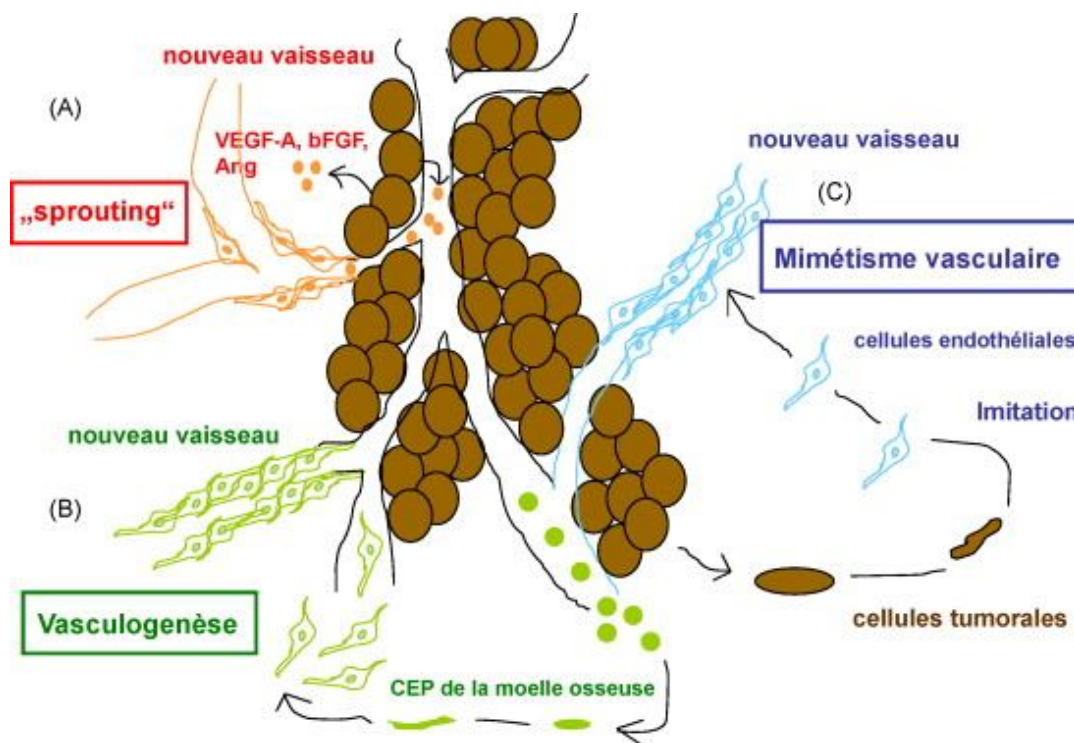


Figure 16. Mécanismes d'angiogénèse dans le NB. [111]

Présentation schématique des différents mécanismes d'angiogénèse décrits dans le NB : A. « sprouting » ou bourgeonnement de nouveaux vaisseaux à partir de vaisseaux préexistants. B. vasculogénèse par différenciation de progéniteurs endothéliaux circulants issus de la moelle osseuse, entrant dans la circulation et s'incorporant au néoendothélium tumoral et C. mimétisme vasculaire résultant de la capacité des cellules tumorales du NB à imiter des cellules endothéliales.

5-3) Agents différenciateurs : les rétinoïdes

Les NB sont des tumeurs présentant le plus grand nombre de cas de régression spontanée. Certains NB, même à un stade métastatique, sont capables de se différencier en tumeurs bénignes. L'observation de ce phénomène de différenciation a poussé les chercheurs à étudier ce phénomène in vitro, par l'utilisation d'agents différenciateurs notamment les rétinoïdes. In vitro, les rétinoïdes (acide 13-cis rétinoïque et transrétinoïque) diminuent la prolifération des neuroblastes, induisent une différenciation, diminuent l'expression de MYCN [112,113] augmentent l'expression de leurs récepteurs. Ces propriétés sont aussi observées sur des lignées de neuroblastes réfractaires à la chimiothérapie [17].

Les résultats prometteurs des études in vitro ont conduit à tester l'acide rétinoïque in vivo. Lors des premiers essais cliniques sur les NB, l'acide 13-cis rétinoïque (13cis-RA) fut administré en continu à une dose de 100 mg/m² de surface corporelle/jour, correspondant à la dose maximale tolérée chez les adultes [114-116]. Cependant, ce dosage ne permettait pas d'atteindre une concentration plasmatique équivalente à la concentration nécessaire pour induire la différenciation in vitro. L'administration de 13cis-RA à haute dose (160 mg/m²/jour) de manière discontinue a alors été testée, cette dose permettant d'atteindre une concentration plasmatique supérieure à celle utilisée pour les études in vitro [114,115]. Une étude menée sur des patients atteints de NB à risque de récurrence élevé a montré que l'administration de 13cis-RA à haute dose de manière discontinue présente un intérêt clinique puisque cela permet d'augmenter la survie de 20 % par rapport au groupe témoin [75].

Les essais cliniques menés sur l'acide rétinoïque ont conduit à une modification des protocoles thérapeutiques : dans les cas de NB métastatiques, la chimiothérapie est suivie d'un traitement d'entretien de 6 mois par l'acide rétinoïque [7,84].

*Particularités génétiques
du Neuroblastome*

1. L'apport des techniques de pointe pour la detection des anomalies genetiques:

Depuis la découverte et la mise au point de la technique du caryotype humain en 1956 [117], les techniques de cytogénétique ont permis de déterminer une origine chromosomique pour un certain nombre de pathologies, et d'établir une relation avec un phénotype anormal, notamment en pathologie cancéreuse. Cette découverte a abouti à la description des anomalies génétiques dans les différents cancers, y compris le NB, dans le but de développer une classification adéquate et de trouver de nouvelles cibles thérapeutiques. Plusieurs avancées technologiques sont apparues au fil des années, permettant la détection d'anomalies génétiques de plus en plus réduites, ce qui a entraîné une meilleure compréhension du cancer.

1.1 Cytogénétique standard :

L'utilisation du caryotype standard remonte à la fin des années 1950 [117]. Cette technique classe l'ensemble des chromosomes d'une cellule somatique selon des critères bien définis (taille, position des centromères, bandes chromosomiques). L'examen du caryotype standard a permis de fournir des informations sur la cause de divers syndromes génétiques, et de révéler des différences structurelles microscopiques détectables dans la population générale [118]. La cytogénétique conventionnelle offre la possibilité de déceler des aneusomies et des anomalies de structure pour des régions chromosomiques allant de 2 à 10Mb (**figure 17**). Les études en cytogénétique standard des NB primaires permettent de visualiser des anomalies chromosomiques dans seulement 20 à 30% des cas [119].

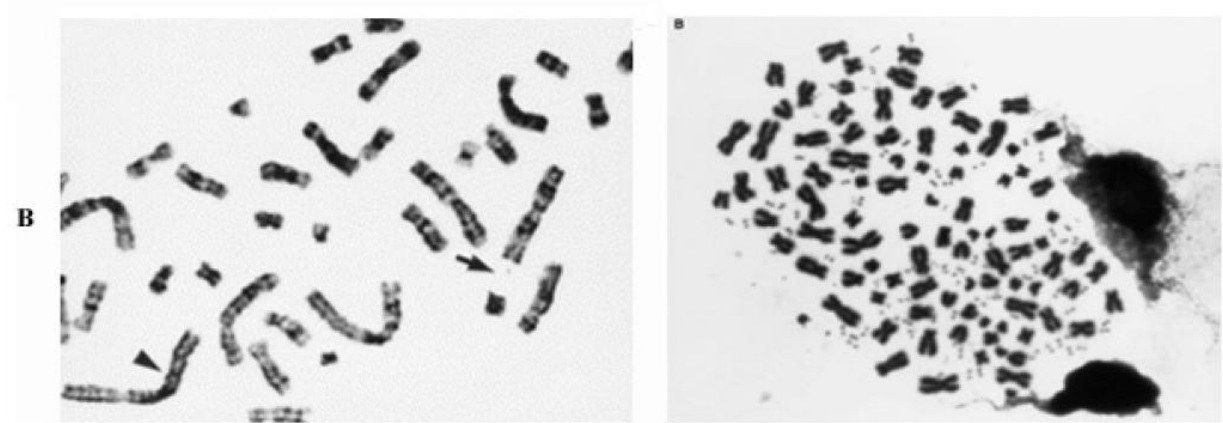


Figure 17. Amplification du gène MYCN en cytogénétique standard [120,121].

1.2 Hybridation in situ en fluorescence :

L'introduction de l'hybridation in situ en fluorescence (FISH) a constitué un progrès remarquable dans la mise en évidence d'anomalies chromosomiques en permettant une analyse plus fine des chromosomes par rapport à la cytogénétique standard. Cette technique est actuellement couramment utilisée pour le diagnostic clinique [118].

Le principe des techniques d'hybridation in situ repose sur la capacité d'hybridation de deux brins d'ADN complémentaires. Après dénaturation préalable par un traitement chimique dissociant les deux brins d'ADN, la région à étudier (située sur un chromosome métaphasique ou au sein d'un noyau interphasique) est repérée grâce à une sonde d'ADN de séquence complémentaire et antiparallèle du fragment recherché (**figure 18**) [122].

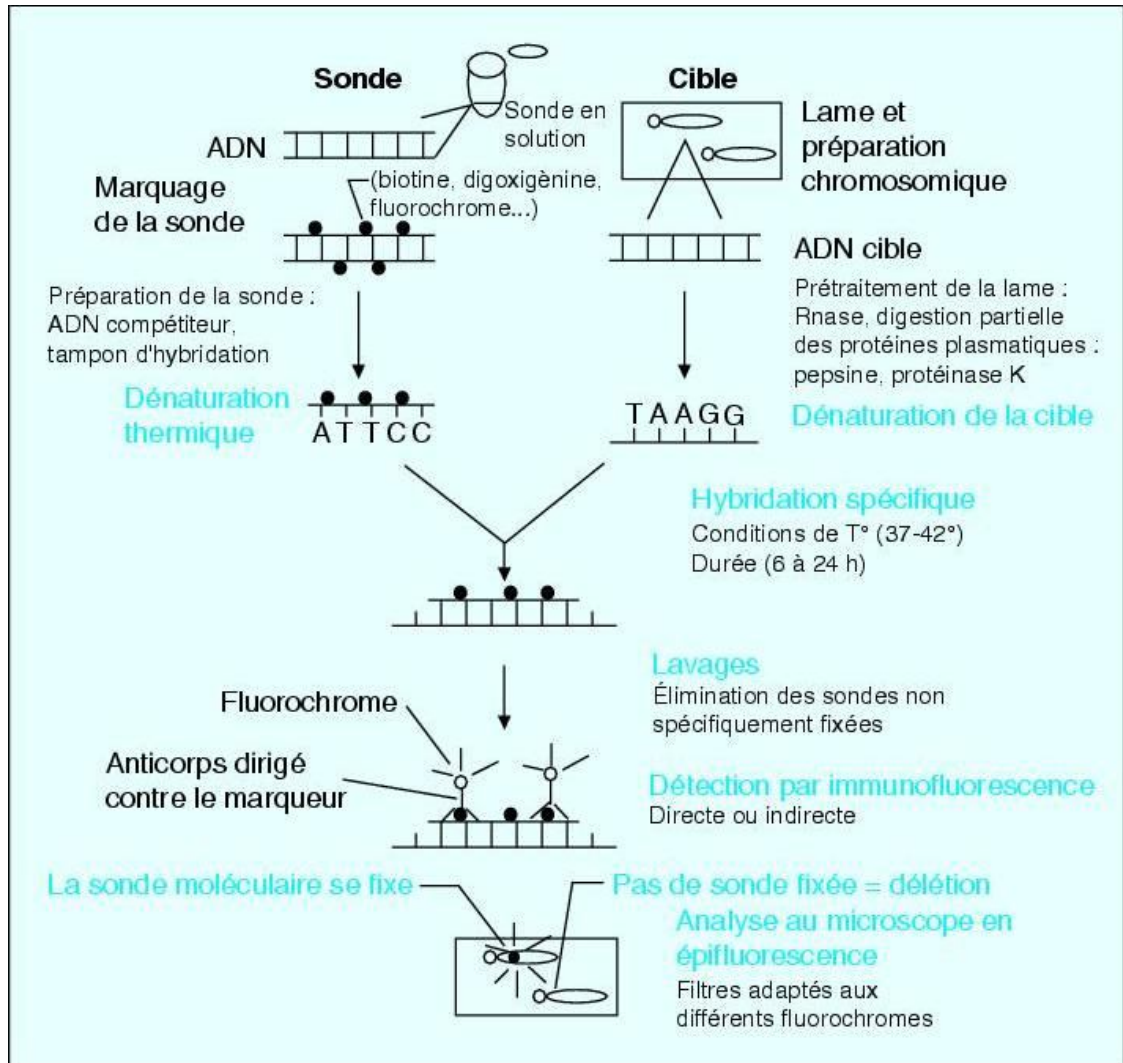


Figure 18. Principe de l'hybridation in situ en fluorescence (FISH). [123]

Après une étape de culture cellulaire et d'étalement des chromosomes sur une lame, la sonde spécifique de la région à étudier marquée par un fluorochrome, est dénaturée et hybridée spécifiquement avec la séquence cible. Les hybrides non spécifiques et les molécules de sonde non hybridés sont éliminés ensuite par lavage, alors que les hybrides spécifiques sont révélés par fluorescence (**figure 19**). Un microscope à fluorescence équipé de filtres appropriés aux fluorochromes utilisés permet l'analyse des séquences hybridées [119].

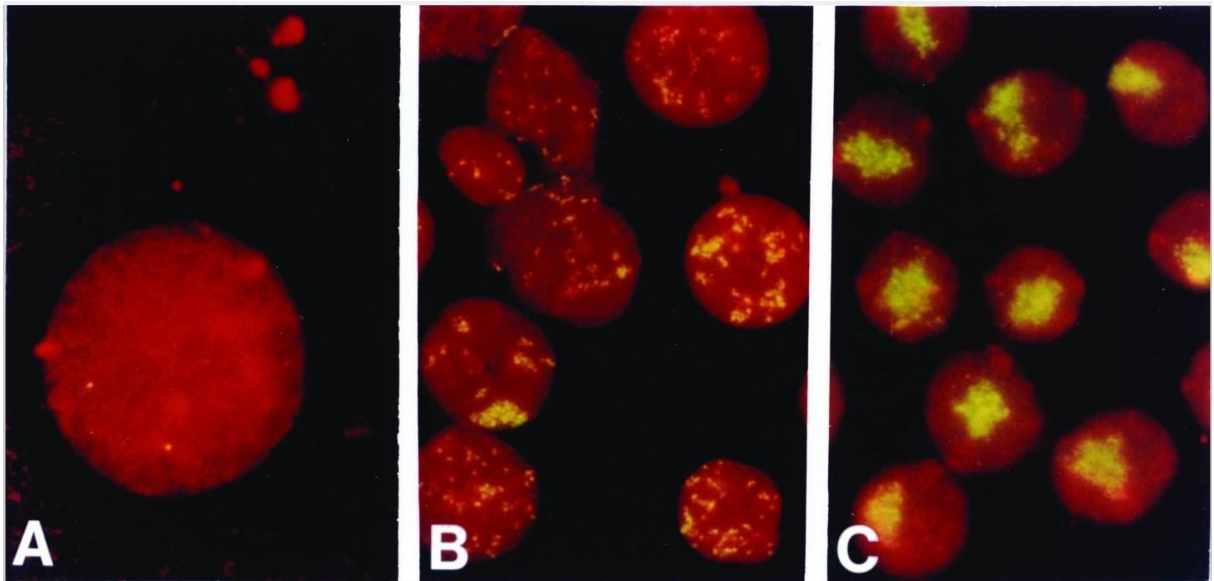


Figure 19. Résultats typiques obtenus par analyse FISH du gène MYCN dans le NB. A. non amplifié ; B. amplifié sous forme de chromosomes dm ; C. amplifié sous la forme HSR. [124]

La FISH a permis de déceler des gains, des pertes et des réarrangements de séquences d'ADN visibles ou non en cytogénétique classique. Cependant, la sensibilité de cette technique reste limitée par la taille et le nombre restreint des sondes utilisées et par le fait que seule la région chromosomique ciblée par ces sondes est visualisée. La FISH est donc une technique longue et non automatisable qui ne permet pas une étude globale du génome.

1.3 Cytométrie de flux :

La cytométrie de flux est une technique qui permet une analyse rapide d'un grand nombre de cellules, elle est utilisée en oncologie pour déterminer la quantité cellulaire d'ADN (ploïdie). Le principe de cette technique repose sur le marquage de l'ADN par un fluorochrome (habituellement l'iodure de propidium), une fois marquées, les cellules sont passées une par une à travers une source lumineuse (généralement un laser) qui a la faculté de reconnaître la

lumière émise par le fluorochrome. L'intensité de la fluorescence est proportionnelle à la quantité d'ADN présente. Les signaux lumineux détectés sont transmis à un ordinateur qui les transforme en un histogramme dont l'axe des abscisses correspond à l'intensité de la fluorescence, et l'axe des ordonnées au nombre de cellules, permettant ainsi l'interprétation de la ploïdie (**figures 20, 21**) [125].

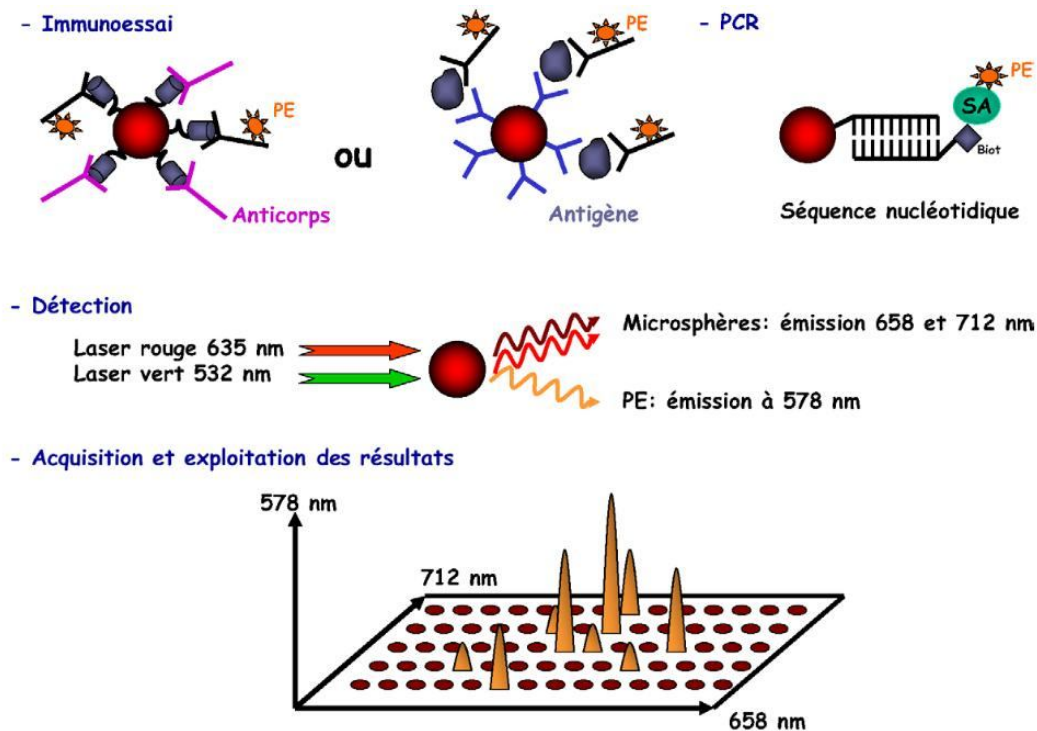


Figure 20. Illustration du système lumineux permettant d'analyser simultanément jusqu'à 100 molécules [126].

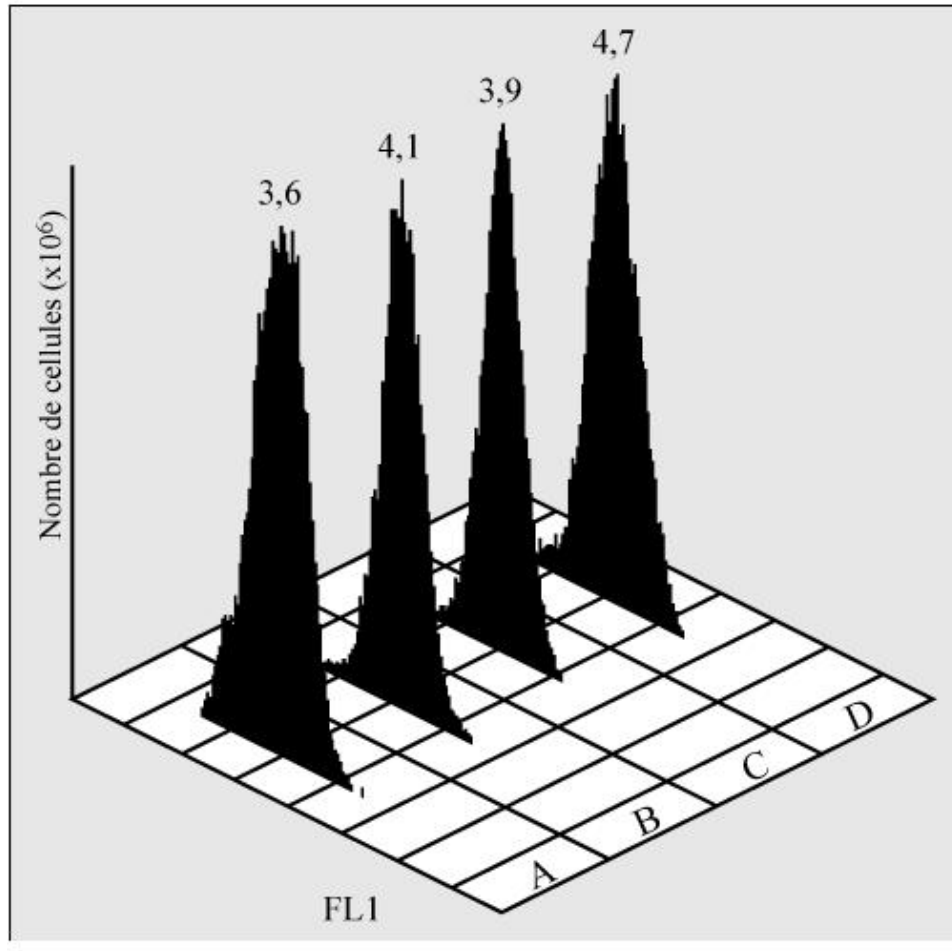


Figure 20. Histogrammes de fluorescence verte (intensité du marquage par l'anticorps anti-N-myc) de la tumeur **(B)** issue de xénogreffe de la lignée IGR-N-91 du NB **(A)**, des lignées cellulaires métastatiques de la moelle osseuse **(C)** et du myocarde **(D)** qui en dérivent, prélevées durant la phase exponentielle de croissance. L'index de fluorescence calculé pour chacune d'elles est indiqué au sommet des pics respectifs. [127]

1.4 Hybridation génomique comparative :

L'hybridation génomique comparative (CGH) est une technique qui a été développée entre 1989 et 1992 par Kallioniemi et al., elle est utilisée pour dépister les variations quantitatives (gain ou perte) de tout ou d'une partie des

chromosomes sur l'ensemble du génome. . Son principe repose sur la cohybridation compétitive en métaphase de deux ADN marqués par un fluorochrome différent, un ADN d'intérêt (ex. tumoral) marqué en vert (par fluorescein isothiocyanate ou FITC) et un ADN témoin normal marqué en rouge (par rhodamine). Des quantités égales des deux ADN (d'intérêt et témoin) sont mixées et hybridées sur des chromosomes métaphasiques normaux sur lame [128].

La présence de fluorochromes en quantité équimoléculaire pour les deux ADN conduit à l'obtention d'un ratio de fluorescence égal à un. Après classement des mitoses choisies, l'analyse des images microscopiques grâce à un logiciel adapté aboutit au calcul d'un ratio de fluorescence normalisé. Une délétion ou une amplification de matériel génique se manifeste par un excès de fluorescence d'un des deux fluorochromes par rapport à l'autre. Ainsi, un excès de fluorescence rouge implique la présence de délétions au niveau de cette région du génome tumoral, alors qu'un excès de fluorescence verte identifie les chromosomes ou régions chromosomiques amplifiés. Ceci se manifeste par une déviation du ratio de fluorescence dans la région chromosomique correspondant au déséquilibre (**figure 22**) [128].

Cette technique a l'avantage de cibler la quasi-totalité du génome, elle révèle des pertes et des gains de matériel chromosomique tout en précisant leur localisation sur le chromosome. Néanmoins, l'utilisation de chromosomes en métaphase rend la détection d'anomalies plus petites que 20Mb difficile [118].

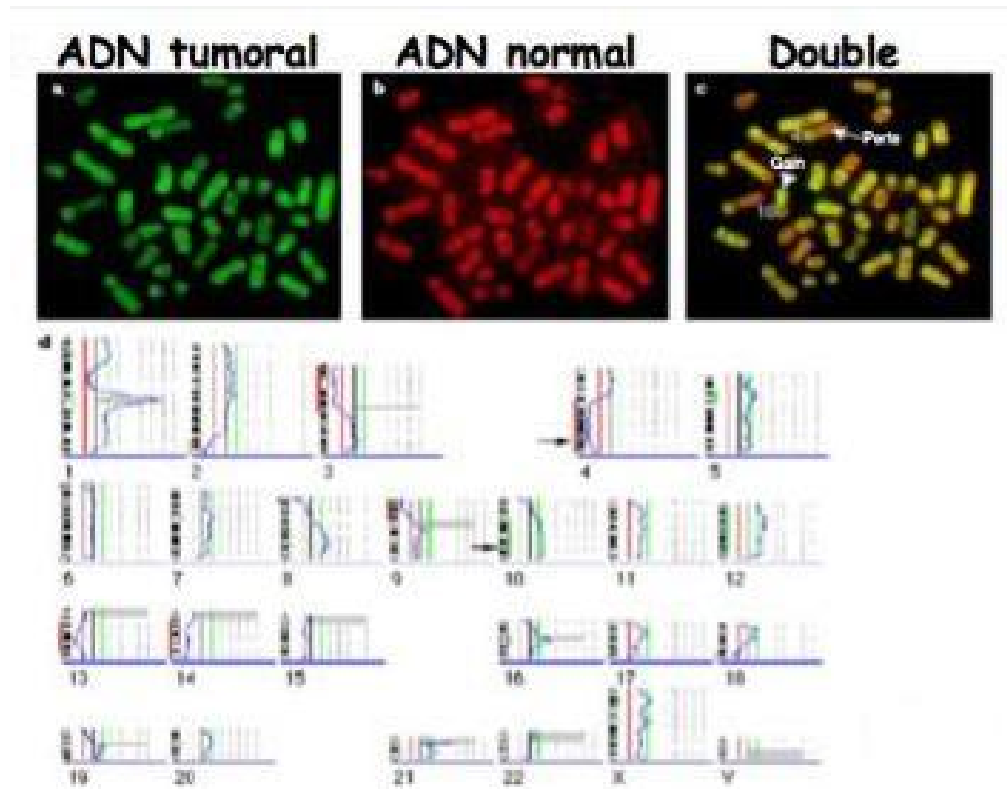


Figure 22. Hybridation génomique comparative (CGH) sur métaphases normales.

Déséquilibre de fluorescence détectant des anomalies quantitatives. [129]

1.5 Hybridation génomique comparative sur micropuces :

La CGH sur micropuces (ou CGH-microarray) est une technologie récente qui a été développée à partir de 1997 [130,131]. Elle constitue une évolution de la technique précédente dans la mesure où les chromosomes métaphasiques sont remplacés par des séquences d'ADN génomique issues de clones de séquences connues et vérifiées, fixées sur une lame de verre. Le principe est identique à celui de la CGH, toutefois, les molécules fluorescentes nécessaires au marquage sont ici des cyanines (Cy3 et Cy5) incorporées à l'ADN. La détection se fait par excitation des cyanines fluorescents par des lasers émettant à leurs longueurs d'onde d'excitation. L'émission d'un signal à des longueurs d'onde différentes

engendre la détection de deux signaux différents dus à la présence de deux ADN. Ils sont alors quantifiés afin de réaliser une analyse comparative du matériel génétique du patient par rapport au témoin. Ceci se traduit par la présence de signaux fluorescents de couleur variable sur la lame (**figure 23**) [122].

L'intérêt de la CGH-microarray est lié à la possibilité de localiser avec précision les anomalies sur le chromosome du fait de la connaissance de la séquence des clones et de leur localisation, la possibilité d'analyser l'ensemble des altérations génomiques en une seule étape, et d'identifier des anomalies plus petites qu'en CGH [129]. Néanmoins, les réarrangements équilibrés tels que les translocations ou les inversions ne peuvent être détectés par cette technique [118].

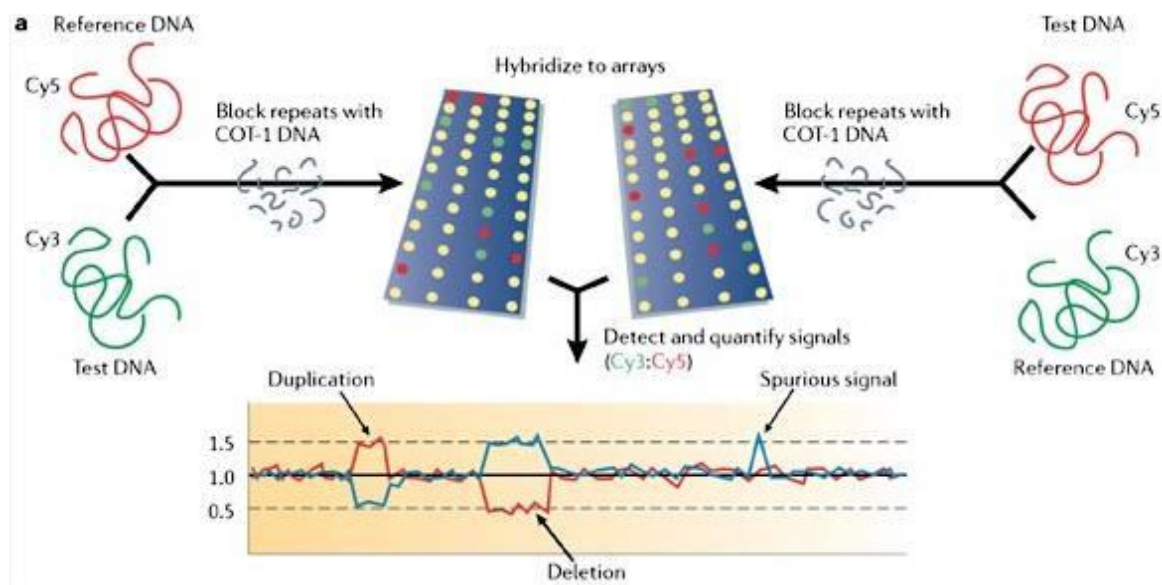


Figure 23. Principe de réalisation de l'hybridation génomique comparative sur microarrays (CGH-array). [132]

1.6 Amplification multiplex de sonde nucléique dépendant des ligatures (MLPA) :

La MLPA est une technique émergente fondée sur la PCR (réaction en chaîne par polymérase) qui établit une distinction entre le nombre de copies de séquences d'ADN particulières [133].

Le principe de cette technique est basé sur l'utilisation de sondes en deux segments, de longueur unique. Ces sondes, lorsqu'elles sont hybridées à des séquences cibles adjacentes sur l'ADN génomique, sont liées par l'enzyme ADN ligase. Cela permet l'amplification de tous les sites ciblés au moyen d'une seule paire d'amorces qui s'avèrent complémentaires aux deux extrémités libres que comptent toutes les sondes. Les produits sont soumis à un système d'électrophorèse capillaire ; ils sont ensuite séparés en fonction de leur taille, de façon à ce que chaque pic corresponde à l'amplification d'une sonde distincte. Le nombre de copies est déterminé par la suite, pour chacune des séquences cibles, et donc, pour chaque chromosome [134].

La MLPA permet ainsi la détection d'une large variété d'aberrations chromosomiques segmentaires (gains, délétions) et d'amplifications géniques ainsi que l'investigation simultanée d'un grand nombre de loci, de manière vigoureuse et en un seul examen [134].

1.7 INRG consensus des techniques recommandées pour l'investigation des marqueurs génétiques :

Du fait de la relative rareté des NB et de l'absence de consensus internationaux fiables compte à leur prise en charge, une collaboration entre des groupes d'Europe, d'Amérique du nord, d'Australie, de la Nouvelle Zélande, et

du Japon a vue le jour : l'International Neuroblastoma Risk Group (INRG) [135]. Cette collaboration a pour but d'établir des groupes de risque en se basant sur les données cliniques, biologiques, et les biomarqueurs décisifs en matière de NB, afin de permettre une meilleure stratification thérapeutique. En outre, l'INRG est arrivée à établir un consensus quant à la standardisation des techniques à utiliser lors de la recherche des altérations génétiques du Nb (**tableau 10**) [135].

Tableau 10. Consensus des marqueurs génétiques couramment utilisés pour la stratification thérapeutique et proposés pour de futures analyses [135]

Classification INRG des marqueurs génétiques à rechercher	Techniques recommandées/ acceptées
Marqueurs obligatoires	
MYCN	I-FISH PCR ; CGH-array ; MLPA
11q23	I-FISH ; PCR ; CGH-array (oligo, clone, ou basée sur SNP) ; MLPA
ploïdie	Cryométrie de flux
Marqueurs génétiques à analyser prospectivement	CGH-array ; SNP-array ; MLPA ;etc
1p	
2p	
DDXI	
NAG	
ALK	
3p	
4p	
7q	
9p	
12p	
14p	
17q	
Autres	CGH-array; SNP-arrays

SNP : Polymorphisme nucléotidique simple ; I-FISH :interphase hybridation in situ en fluorescence ;
PCR : réaction en chaîne par polymérase.

2) Les anomalies génétiques

2.1- Anomalies de nombre: ploïdie

Les anomalies numériques des chromosomes correspondent à la perte ou au gain d'un ou de plusieurs chromosomes entiers, conduisant à des variations de la ploïdie. Le contenu en ADN est le plus souvent analysé par cytométrie de flux qui permet une appréciation du nombre de chromosomes mais ne donne pas d'information sur les réarrangements et autres modifications. Dans une cellule diploïde (nombre de chromosomes égal à $2n$), l'index ADN est de 1.

Des études réalisées par Look et al. (1991) ont démontré que la détermination de l'index ADN dans le NB est d'une valeur pronostique importante. La ploïdie a été corrélée au stade tumoral, à la réponse au traitement et à la survie. Chez les 298 enfants étudiés, l'hyperdiploïdie était associée aux stades moins avancés et à une meilleure survie, alors que la diploïdie était liée aux stades tumoraux avancés et à une efficacité thérapeutique moindre [136,137].

Plusieurs études sont venues confirmer la valeur pronostique de la ploïdie dans le NB en montrant une différence marquée entre les tumeurs diploïdes ou tétraploïdes et les tumeurs triploïdes [136,138,139]. En effet, l'hyperdiploïdie (triploïdie) est essentiellement observée dans les NB survenant chez les enfants de moins d'un an et d'évolution favorable. Ces tumeurs forment peu de métastases et ont tendance à devenir matures ou à régresser spontanément [137]. Le caractère diploïde ou tétraploïde des cellules du NB est, au contraire, associé à une diminution de la survie (globale ou sans événement) indépendamment de l'âge et du stade d'extension du NB.

Plus de 50% de ces tumeurs sont déjà métastatiques au moment du diagnostic et une régression n'est que très rarement observée [140]. D'autre part, les tumeurs triploïdes sont rarement associées à des anomalies de structure, alors que les tumeurs di-tétraploïdes ont une haute fréquence d'anomalies structurelles [64,141,142].

2.2- La perte d'hétérozygotie

La perte d'hétérozygotie est la conversion somatique d'un allèle germlinal hétérozygote en un état homozygote (présence de deux allèles identiques) ou hémizygotique (présence d'un seul allèle). C'est une étape clé dans l'inactivation de plusieurs gènes suppresseurs de tumeur (GST). Ces états sont obtenus soit par délétion (perte d'une copie d'ADN), soit par la perte d'un allèle tout en ayant deux copies d'ADN (ou en étant « copie-neutre »). On distingue ainsi deux formes de LOH: la délétion et la LOH à copie-neutre [143,144].

Les pertes d'hétérozygotie à copie-neutre (CN-LOH) sont fréquemment rencontrées dans plusieurs cancers, notamment les cancers hématologiques [144]. Divers mécanismes peuvent conduire à une CN-LOH tels que l'isodisomie, une délétion suivie d'une recombinaison utilisant le chromosome homologue (**figure 24**), ou encore une faiblesse au niveau des voies de réparation ou du maintien de l'intégrité de l'ADN, de la machinerie du fuseau mitotique, ou du rapetissement des télomères [145]. La recombinaison mitotique est considérée comme un contribuant majeur aux CN-LOH acquises [146].

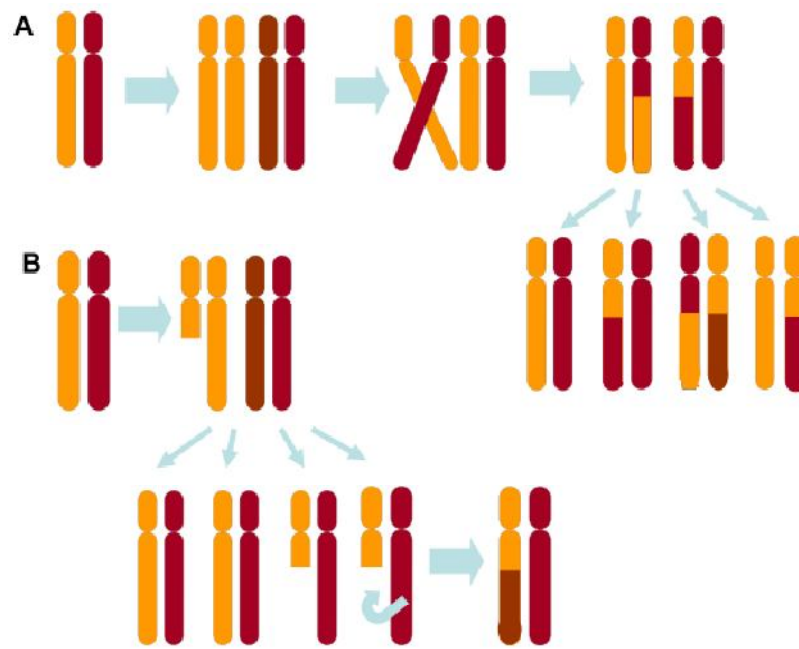


Figure 23. Mécanismes mitotiques de la formation des pertes d'hétérozygotie à copie neutre (CN-LOH) [144].

Les CN-LOH peuvent survenir suite à une recombinaison mitotique entre des chromosomes homologues, dépendamment de la façon dont les chromosomes sont positionnés pendant la mitose (A). Elles peuvent aussi survenir en conséquence à une délétion suivie d'une recombinaison en utilisant le chromosome homologue comme modèle pour la correction (B).

Le tableau 11 présente les régions faisant fréquemment l'objet de perte d'hétérozygotie dans le NB [128].

Tableau 11. Les régions signalées comme faisant l'objet de perte d'hétérozygotie dans les neuroblastomes [128].

Région	Fréquence de la LOH dans des études CGH	Fréquence de la LOH dans des études moléculaires
2q	0-6%	32%
3p	21-32%	10-15%
4p	15-33%	12-20%
9p	6-21%	17-36%
11q	11-44%	19-41%
14q	8-48%	16-50%
16p	0-6%	9-24%
18q	0-16%	21%

2.3- Les anomalies de structure : gain de matériel génétique

Les anomalies structurales sont beaucoup plus prévalentes dans les tumeurs diploïdes et tétraploïdes que dans les tumeurs triploïdes [128]. Certaines études avancent que la présence d'anomalies de structure soit un facteur prédictif de rechute [147].

2.3.1) Amplification du gène MYNC

L'amplification de l'oncogène MYCN est l'anomalie génétique la mieux caractérisée dans le NB. Peu après sa découverte, cette anomalie a été associée à un pronostic très sombre. Les tumeurs présentant cette amplification se caractérisent par une très grande agressivité, quel que soit leur stade clinique [148].

L'amplification de MYCN est observée dans 20 à 25% des cas de NB [10], particulièrement dans les tumeurs de stade avancé [3,4]. Elle est plus fréquente dans les tumeurs diploïdes que triploïdes [137]. Cette amplification est un facteur pronostique important, et ce paramètre, évalué au moment du diagnostic, est pris en compte dans le choix du traitement, notamment chez les nourrissons âgés de moins d'un an [10].

Le gène MYCN, normalement situé dans la bande p24.1 du bras court du chromosome 2, peut être retrouvé un peu partout dans le génome lorsqu'il est amplifié. Après le processus d'amplification, entre 50 et 400 copies de ce gène sont retrouvées dans chaque cellule [148]. En cytogénétique, cette amplification se traduit par la présence de deux formes distinctes: soit par du matériel extra chromosomique sous forme de chromosomes double-minutes (DM), ou par du matériel intra chromosomique sous forme de « homogeneously staining regions » (régions présentant un marquage homogène ou HSR) (**figures 25, 26**) [149-151].

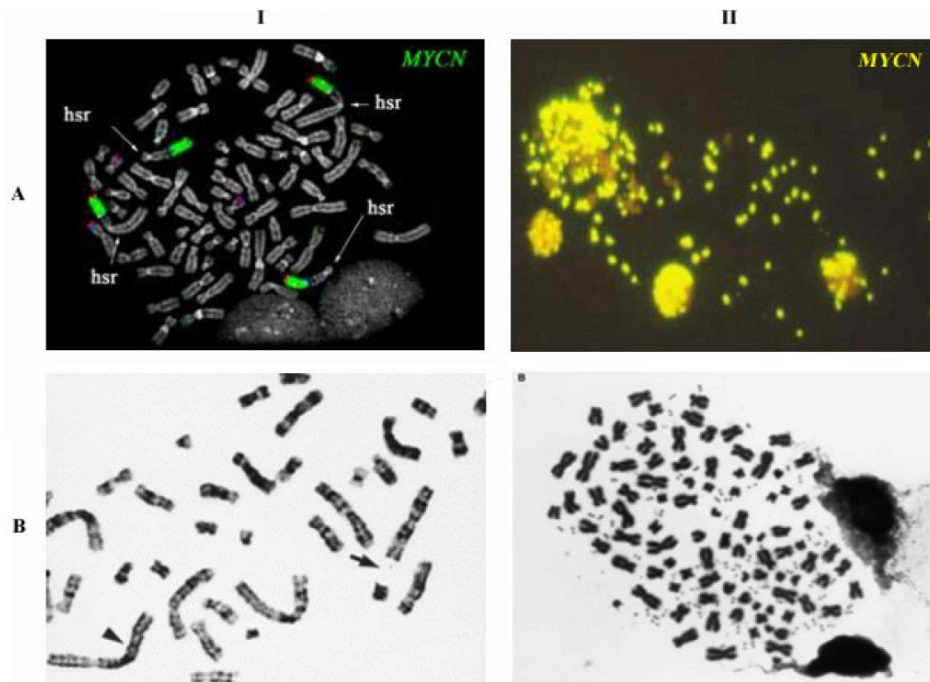


Figure 25. Amplification du gène MYCN

L'amplification du gène *MYCN* peut prendre la forme de HSR (indiqué par les flèches en A,I) [152] ou de double minute (A,II) [3] tel qu'observé en FISH (A) ; et en cytogénétique standard (B,I) [120] ou (B,II) [121].

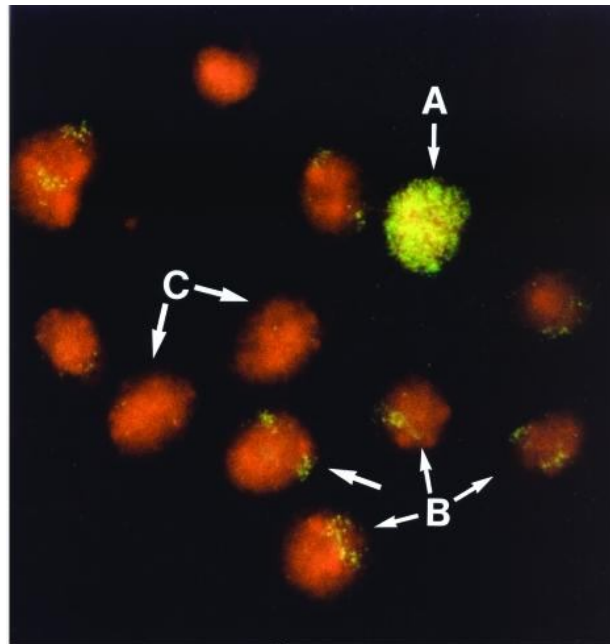


Figure 26. Hétérogénéité du nombre de copies MYCN parmi les cellules tumorales dans un échantillon unique de diagnostic, comprenant les amplifications sous la forme double minute (A), HSR (B) , ou sans amplification (C) [124].

La plupart des amplifications de MYCN retrouvées dans les tumeurs primaires sont sous la forme DM, alors que les HSR prédominent dans les lignées cellulaires de NB. La raison de cette dichotomie demeure inconnue [128,153]. La FISH a permis, entre autres, d'identifier que les HSR sont souvent entourés par des segments du chromosome 17q, suggérant que le chromosome 17 pourrait être un site de recombinaison préférentiel pour MYCN, probablement parce qu'ils se retrouvent à proximité lors de la réplication de l'ADN [154].

D'autres gènes voisins de la région 2p24 peuvent être Co-amplifiés avec MYCN tels que les gènes MEIS1, DDX (DEAD box polypeptide 1) et NAG (neuroblastoma amplified gene). Leur rôle dans l'oncogénèse du NB doit encore être étudié [10,155,156].

La protéine MYCN est impliquée dans le développement et la progression des NB car elle régule de nombreux processus liés à la tumorigénèse. Ses différentes cibles sont représentées dans le tableau 12.

Tableau 10 : Résumé des actions de MYCN potentiellement impliquées dans la progression des neuroblastomes.

Processus régulés par MYCN	Cibles moléculaires régulées par MYCN	Références
↑ progression du cycle cellulaire	↓ p27KIP1 ↑ SKP2 et ↓ TP53INP1 → ↓ p21WAF1 ↓ DKK3 → ↑ cycline D ↓ TGF-β2 → ↑ cycline D-cdk4/6	[157,158]
↑ prolifération	↑ ODC	[159]
↓ différenciation	↑ Id2	[160]
↑ angiogénèse	↓ Activine A, ↓ LIF	[161,162]
↑ migration, invasion	↑ Métalloprotéinases 8 ↑ nm23H1	[163-165]

↑ : augmentation, ↓ : diminution. Les abréviations citées dans ce tableau sont définies dans la liste d'abréviations.

2.32.) Gain du chromosome 17q

Le gain du bras long du chromosome 17 est l'anomalie génétique la plus fréquente dans le NB puisqu'elle est retrouvée dans 50% des cas [166-168]. Cette anomalie se fait soit par le gain d'un chromosome 17 entier (anomalie de nombre), soit par le gain partiel ou complet de 17q (anomalie de structure) [128]. Ces gains du chromosome 17q sont associés aux tumeurs agressives, avec un impact pronostique indépendant [169,170].

Un gain partiel du 17q est souvent retrouvé dans les tumeurs primaires avec d'autres anomalies structurelles, notamment les délétions des chromosomes 11q, 1p et l'amplification du gène MYCN [128,171]. De nombreuses études cytogénétiques ont démontré que le gain du 17q résulte d'une translocation déséquilibrée entre le chromosome 17 et un autre chromosome. Le partenaire chromosomique le plus fréquent étant le chromosome 1, la translocation entraînera alors une délétion du 1p36 et une trisomie partielle de l'extrémité distale du 17q [172]. Il a cependant été démontré que les points de cassure sur le chromosome 17q sont hétérogènes [173] et que les translocations déséquilibrées peuvent survenir avec d'autres partenaires chromosomiques, le chromosome 11 en particulier [168,171].

La plus petite région commune à ces gains de parties du chromosome 17q a été déterminée par CGH et FISH (**figure 27**) [174]. Elle semble s'étendre de 17q23.1 à 17qter [167,175]. Cette région porte probablement un ou plusieurs gènes qui contribuent à la tumorigenèse en cas d'hyperexpression, probablement par effet de dosage génique résultant de la trisomie partielle [172].

Plusieurs gènes concernés par le gain du chromosome 17 ont fait l'objet d'études, notamment le gène nm23 localisé en 17q21-22 qui jouerait un rôle de contrôle du potentiel métastatique [128], ou encore le gène de la survivine localisé en 17q25, ce gène appartient à la famille des inhibiteurs de l'apoptose, et son expression élevée est corrélée à un pronostic défavorable [176]. Mais aucun de ces gènes ne fait l'objet d'un consensus [173,177].

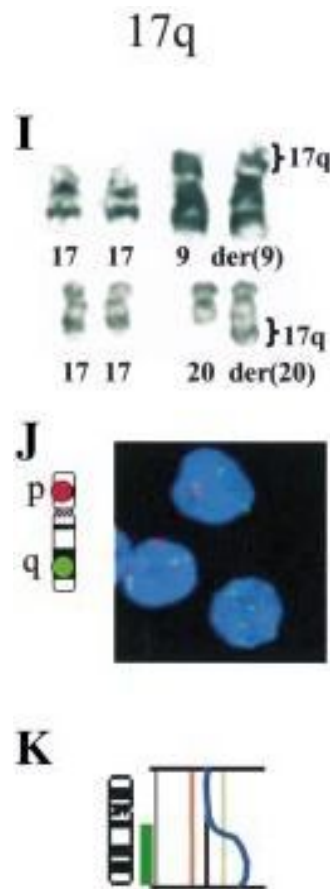


Figure 27. Gain du chromosome 17q [128].

(I) : deux exemples de trisomie partielle de l'extrémité distale du 17q. (J) : analyse du 17q par interphase-FISH, les noyaux tumoraux montrent deux signaux pour le 17p et trois signaux pour le 17q. (K) : gain de 17q montré par la technique CGH.

2.4- Anomalies de structure: perte de matériel génétique

2-4-1) Délétion du chromosome 1p

La délétion du bras court du chromosome 1 est une anomalie caryotypique fréquente survenant dans 30-35% des NB [10]. Elle est plus communément retrouvée chez les patients ayant un stade avancé de la maladie [172].

Les régions chromosomiques perdues peuvent consister soit en de petites délétions distales du 1p variant pour la plupart de 1p22 à 1pter, soit en des délétions plus étendues. La région minimale commune de délétion se situant autour de 1p36.3 (**figure 28**) [178,179].

La perte du bras court du chromosome 1 semble induire la perte de GST. En effet, l'introduction du segment chromosomique 1p dans la lignée du NB NGP diminue la malignité de ces cellules et induit leur différenciation [180]. De nombreux gènes candidats ont été identifiés dans cette région tels que CHD5, TNFRSF25 et CAMTA1, sans qu'aucun rôle de GST n'ait pu leur être attribué [181]. Il devient donc de plus en plus probable que ces délétions exercent leur rôle oncogénique par un effet de dosage génique [10].

Il est intéressant de noter que les réarrangements et les délétions du chromosome 1p ne sont pas spécifiques au NB [3,128], mais peuvent être rencontrés dans d'autres tumeurs malignes, autant dans les tumeurs solides (notamment le gliome [182], l'oligoastrocytome [183] et le cancer du colon [184]) qu'hématopoïétiques [119].

Les premières études ont associé les délétions de 1p à un pronostic défavorable [141,185,186]. Toutefois, la valeur pronostique de la délétion 1p36 est controversée. En effet, des études récentes ont souligné que la délétion 1p36

est prédictive d'une évolution de la maladie, mais pas de la survie globale des patients [187,188]. Il existe également une corrélation entre la délétion 1p et d'autres facteurs de mauvais pronostic tels que l'âge supérieur à un an, l'amplification du gène MYCN et la délétion de 11q [187-189]. Cependant, la valeur pronostique indépendante de la délétion 1p n'a pas été formellement démontrée [190].

La taille de la délétion 1p varie en fonction de l'amplification de MYCN. Elle est grande dans les NB présentant plusieurs copies de MYCN et petite (1p36.3) dans les tumeurs n'ayant qu'une seule copie de cet oncogène [191,192]. La majorité des tumeurs ayant une amplification MYCN présentent également une délétion du chromosome 1p, mais l'inverse est moins fréquent. Cela suggère qu'un gène régulateur de l'expression de MYCN pourrait être localisé en position proximale sur le chromosome 1p [10].

Une large délétion de ce chromosome conduirait alors à la suppression du gène régulateur de l'expression de MYCN et donc à l'amplification ultérieure de cet oncogène. Une deuxième hypothèse pour expliquer ce lien est qu'une anomalie génétique sous-jacente cause une instabilité génomique prédisposant à la délétion 1p et ensuite à l'amplification du gène MYCN [3].

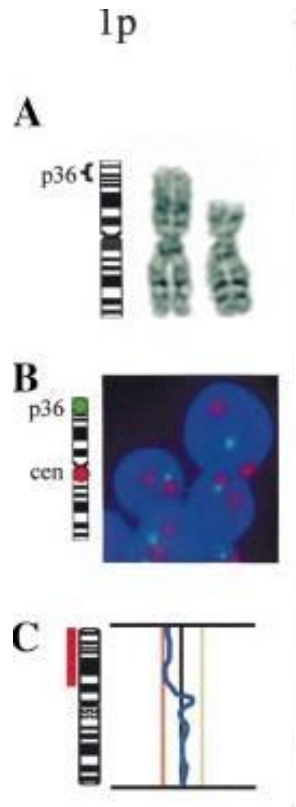


Figure 28. Déletion chromosome 1p montrée par plusieurs techniques [128].

(A) : G-banded métaphase du chromosome 1 montrant une large délétion incluant la bande p36 ; (B) : détection de la délétion 1p par technique FISH, les noyaux tumoraux montrent deux centromères pour le chromosome 1 mais seulement un seul signal pour 1p36 ; (C) : étude CGH montrant un changement dans le rapport de fluorescence indiquant qu'un large segment 1p est délété du génome tumoral.

2-4-2) Délétion du chromosome 11q

La délétion du bras long du chromosome 11 est observée chez environ 41% des patients, ce qui en fait la délétion la plus fréquente dans le NB [193]. Les études de perte d'hétérozygotie ont permis de localiser la région minimale délétée en 11q23 [194], suggérant la présence probable d'un GST à cette localisation, mais aucun gène n'a pu être identifié à ce jour [175].

La plupart des délétions 11q sont étendues et terminales et surviennent dans les tumeurs n'ayant pas d'amplification du gène MYCN. En effet, la délétion

11q présente une corrélation inverse avec l'amplification de MYCN et la délétion de 1p, cette anomalie serait également associée avec la délétion 14q et le gain 17q [175,194].

Les altérations du bras long du chromosome 11 peuvent se manifester sous différentes formes: translocations impliquant les régions 11q21 et 11q22, délétion de la région 11q23, inversion entre les segments 11q21 et 11q23 ou perte allèlique [8].

La délétion 11q a été significativement associée à d'autres facteurs de mauvais pronostic (âge supérieur à un an, NB de stade 4, histologie défavorable) en l'absence d'amplification de MYCN [128]. Il a également été proposé qu'une perte d'hétérozygotie du chromosome 11q représente un facteur de pronostique défavorable indépendant [195].

2-4-3) LOH du chromosome 14q

La LOH du bras long du chromosome 14 est une anomalie très fréquente dans le NB . Cette perte allèlique serait retrouvée dans 23 à 30% des tumeurs. Selon les données de la littérature, une région minimale commune à cette LOH se situerait 14q23-32. De manière plus précise, la région de délétion interstitielle s'étendrait entre les loci D14S1 et D14S16, situés dans la bande 14q36 [196,197].

Il est intéressant de noter que le gène *MAX* dont la protéine interagit avec MYCN afin de lui prodiguer sa fonction est localisé en 14q23 [175], à la bande proximale de la région consensus. La LOH du 14q n'est pas exclusive au NB. En effet, elle a déjà été retrouvée dans certains cancers rénaux, dans le myélome et dans les carcinomes à cellules squameuses.

Seules quelques études ont pu décrire des délétions cytogénétiquement visibles en 14q. En effet, ces délétions sont souvent trop petites pour être identifiées facilement par la cytogénétique classique [175].

Il a d'autre part été rapporté que la moitié des délétions du 14q dans le NB survenaient dans des tumeurs tétraploïdes [3,171]. Par ailleurs, la LOH 14q est fortement corrélée avec la délétion 11q et aurait une corrélation inverse avec la délétion 1p et l'amplification du gène MYCN (**tableau 13**) [50]. Toutefois, aucune autre corrélation n'a été trouvée avec des facteurs biologiques ou cliniques, tels l'âge au diagnostic ou la ploïdie, ni avec l'évolution de la maladie. La signification de la LOH 14q reste donc à déterminer [196].

Tableau 13. Anomalies chromosomiques récurrentes observées dans le neuroblastome [50].

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

2-4-4) autres délétions chromosomiques

Plusieurs autres régions chromosomiques sont perdues de manière récurrente dans le NB, mais leurs significations clinique et biologique ne sont pas encore élucidées. La délétion du chromosome 3p est une anomalie de découverte relativement récente dans le NB, ce chromosome serait délété dans 15 à 20% des NB, mais la fréquence de cette anomalie est très variable. La

délétion de 3p a été identifiée par certaines équipes dans les tumeurs de stade 4 et 4S, suggérant qu'elle puisse influencer l'acquisition du potentiel métastatique. Néanmoins, d'autres études l'ont retrouvée dans des NB de bas grade [4,171].

Une région commune délétée a été définie au niveau de la bande chromosomique 4p16 []. Cette région pourrait être impliquée dans certains cas de NB familiaux. Des délétions du 9p ont été fréquemment retrouvées dans des tumeurs détectées dans le cadre d'un dépistage, la région la plus petite aurait pu impliquer éventuellement le gène CDKN2A, mais aucune mutation ni altération d'expression de ce gène n'ont été identifiés [10].

2.5- Anomalies d'expression de gènes

Outre les altérations génomiques sus-décrites, de nombreux marqueurs moléculaires ou géniques, impliqués dans la résistance aux chimiothérapies (MRP), la viabilité des cellules neuroblastiques (télomérase), le contrôle de l'apoptose, la différenciation et le contrôle du potentiel métastatique (nm23), ont suggéré une valeur prédictive dans le NB [50]. Un intérêt particulier a été porté aux quatre gènes sous-décrits.

2-5-1) Neurotrophines et récepteurs

Les neurotrophines jouent un rôle critique pour le développement du système nerveux sympathique, notamment le « nerve growth factor » (NGF) et le « brain derived neurotrophic factor » (BDNF). Les neurotrophines se lient à la cellule par le biais de récepteurs appartenant à la famille des tyrosines kinases « Trk » (TrkA et TrkB) [50].

L'expression différentielle des récepteurs Trk est étroitement liée aux caractéristiques évolutives des NB. Ainsi, un niveau d'expression élevé de TrkA

est corrélé à l'absence d'amplification de MYCN et un pronostic favorable, alors que l'expression élevée de TrkB est liée à l'amplification de MYCN et un pronostic défavorable [198].

2-5-2) l'expression de CD44

La CD44 est une glycoprotéine de la surface cellulaire impliquée dans les interactions intercellulaires et entre cellule et matrice extracellulaire. Le gène CD44 a été décrit comme un GST localisé dans le bras court du chromosome 11 [199].

Plusieurs études ont démontré que les NB expriment des taux bas voire nuls de CD44 [199]. L'absence d'expression de CD44 est associée à un pronostic défavorable alors que son expression permet de définir un groupe de patients de pronostic favorable, même parmi les stades avancés de la maladie. L'expression de CD44 est inversement corrélée à l'amplification de MYCN [17,45].

2-5-3) La télomérase

La télomérase est une ribonucléoprotéine qui synthétise des séquences télomériques à l'extrémité 3' des télomères. Elle est absente dans la plupart des cellules somatiques normales à l'exception des cellules ayant d'importantes capacités de prolifération (cellules souches hématopoïétiques et nerveuses en division, cellules de l'épiderme) [128].

La télomérase est une enzyme clé dans le processus de la prolifération cellulaire. Le raccourcissement télomériques progressif est impliqué dans la sénescence et l'apoptose cellulaire, en annulant ce processus, la télomérase « immortalise » la population cellulaire maligne, elle est donc responsable du

pouvoir proliférant indéfini des cellules tumorales. L'activité « télomérase » est retrouvée dans 85% des cancers humains. L'expression élevée de cette enzyme est associée à un pronostic défavorable [128].

2-5-4) Multi-drug resistance associated protein

La surexpression du gène codant pour la multi-drug resistance protéine (MRP) peut conférer à la tumeur une résistance aux chimiothérapies [187]. Il a été démontré qu'un taux élevé de MRP est corrélé à l'amplification du gène MYCN [200].

3. Classification du neuroblastome en sous-types génétiques :

Dans le passé, les altérations génétiques ont dû être recherchées une par une par des techniques laborieuses et coûteuses telles que la cytogénétique classique, la FISH ou l'allélotypage, empêchant des analyses exhaustives prenant en compte l'ensemble des altérations génétiques [10]. Toutefois, l'avènement des techniques de CGH et plus récemment de CGH-array ont permis l'analyse de l'ensemble des altérations génomiques en une seule étape. Cette vision pangénomique permet ainsi une appréciation globale, dans une tumeur donnée, du statut de toutes les altérations génétiques et donc une meilleure stratification des tumeurs [10,147].

3.1- Division du Nb en deux profils distincts

Des travaux se basant sur les techniques sus-citées ont démontré que les marqueurs génétiques récurrents observés dans le NB sont liés les uns aux autres et qu'ils permettent de déterminer par leur combinaison des sous-types

génétiques distincts (**figure 29**), qui sont hautement prédictifs du comportement clinique des NB [10].

Le premier profil génomique est hyperdiploïde ou triploïde. Il ne contient pas ou peu d'anomalies de structure et n'a pas d'amplification de MYCN. Ce profil exprime généralement un haut niveau de TrkA et ses cellules évoluent vers l'apoptose ou la différenciation, selon l'absence ou la présence du ligand de TrkA (NGF). Ce sont des NB localisés chez des enfants âgés de moins de 18 mois et dont le pronostic est excellent [50].

Le second profil est diploïde. Il présente souvent des remaniements chromosomiques (notamment l'addition de 17q), sans expression de TrkA. Ce deuxième profil est associé à un pronostic plus sombre et on peut en distinguer deux sous-types. Le premier se caractérise par l'existence d'autres anomalies structurales (en plus de l'addition de 17q), telles que des délétions du 11q ou du 14q, mais n'ont pas d'amplification de MYCN ni de délétion 1p., les patients ayant ce premier sous-type de tumeur sont plus âgés, et présentent des NB de haut grade et à progression lente. Le second sous-type se caractérise généralement par l'existence d'une délétion 1p36 et d'une amplification du gène MYCN. Il progresse rapidement et est plus agressif.

Quel que soit le sous-type de ce profil, ces NB expriment souvent un niveau élevé du récepteur TrkB et son ligand BDNF, qui forment une boucle de régulation autocrine conférant aux cellules cancéreuses un avantage sélectif. Les patients de ce profil génomique du NB sont généralement âgés de 18 mois et plus, avec des tumeurs de très haut grade qui sont souvent favorables [3,50,142].

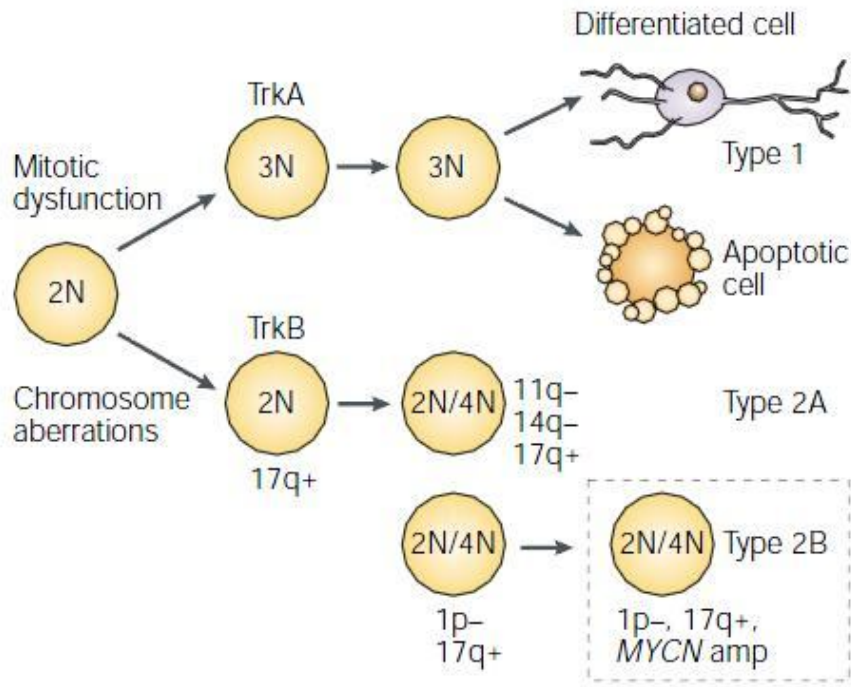


Figure 29. Modèle génétique de développement du neuroblastome [3].

3.2- Classification génomique des NB :

Dans le but d'établir une classification des NB, une analyse extensive réalisée dans le cadre d'une collaboration internationale de près de 500 échantillons de NB par CGH-array a été effectuée. Cette étude pangénomique des altérations génétiques du NB a permis de proposer un modèle de segmentation du NB en deux classes bien distinctes génétiquement comprenant cinq types, et de les corrélérer ensuite au pronostic [147].

La première classe, caractérisée par la présence d'anomalies de nombre uniquement (type A), est associée à un bon pronostic. La seconde classe inclut des patients présentant des ACS uniquement associés (type C) ou pas (type B) à une amplification du gène MYCN, ces deux types auraient un moins bon pronostic. Par ailleurs, les ACS peuvent être associés aux anomalies de nombre

dans le cadre de tumeurs mixtes, ce qui définit les types D et E de cette classification (**figure 30**) :

Type A : Anomalies de nombre seulement

Type B : Anomalie de structure sans amplification de MYCN, ni anomalie de nombre

Type C : Anomalie de structure avec amplification de MYCN, sans anomalie de nombre

Type D : Tumeurs mixtes sans amplification de MYCN

Type E : Tumeurs mixtes avec amplification de MYCN

Selon cette étude, le profil génomique est le facteur pronostique indépendant le plus important, rajoutant de l'information pronostique aux données cliniques, et la présence de toute altération segmentaire serait plus prédictive que les anomalies de nombre, conférant un mauvais pronostic aux tumeurs mixtes et un risque élevé de récurrence [147].

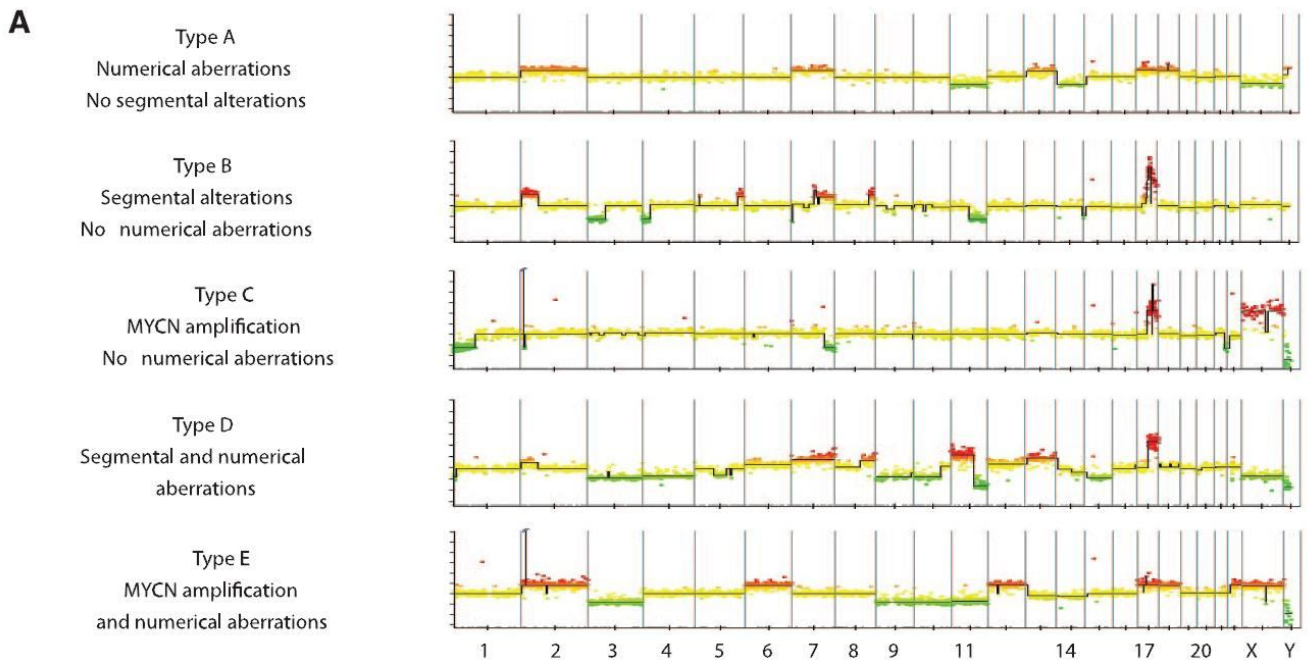


Figure 30. Les différents profils génomiques tumoraux du NB déterminés en CGH-array [147].

A) Types génomiques déterminés sur une puce d'ADN de BACs/PACs avec une résolution de 1Mb. Les différents clones sont indiqués selon leur ordre sur les chromosomes. Pour chaque clone, le résultat de l'hybridation correspondant au ratio ADN tumoral/ADN normal est indiqué selon le code couleur suivant : jaune : statut génomique normal ; rouge : gain ; vert : perte. En fonction de la présence d'altérations chromosomiques numériques (chromosomes entiers) ou d'altérations chromosomiques segmentaires (chromosomes partiels), cinq types génomiques différents peuvent être distingués.

4. Modèle génétique de progression du neuroblastome :

Les anomalies génétiques et moléculaires interviennent dans la détermination de l'agressivité des NB selon une succession d'événements encore imparfaitement décryptée [166]. Dans le but d'expliquer les différents génotypes et phénotypes dans le NB, un modèle théorique expliquant le développement et l'évolution du NB a été développé à partir du regroupement de tumeurs selon la segmentation sus-décrite.

Dans ce modèle, la plupart des NB surviennent *de novo* suite à une modification du progéniteur neuro-glial. Ce progéniteur peut demeurer indifférencié et donner un NB de mauvais pronostic (type B ou C, selon le statut MYCN) comme il peut débiter sa différenciation ou encore devenir mature et donner un NB de bon pronostic avec des anomalies de nombre uniquement (type A) (figure 31) [].

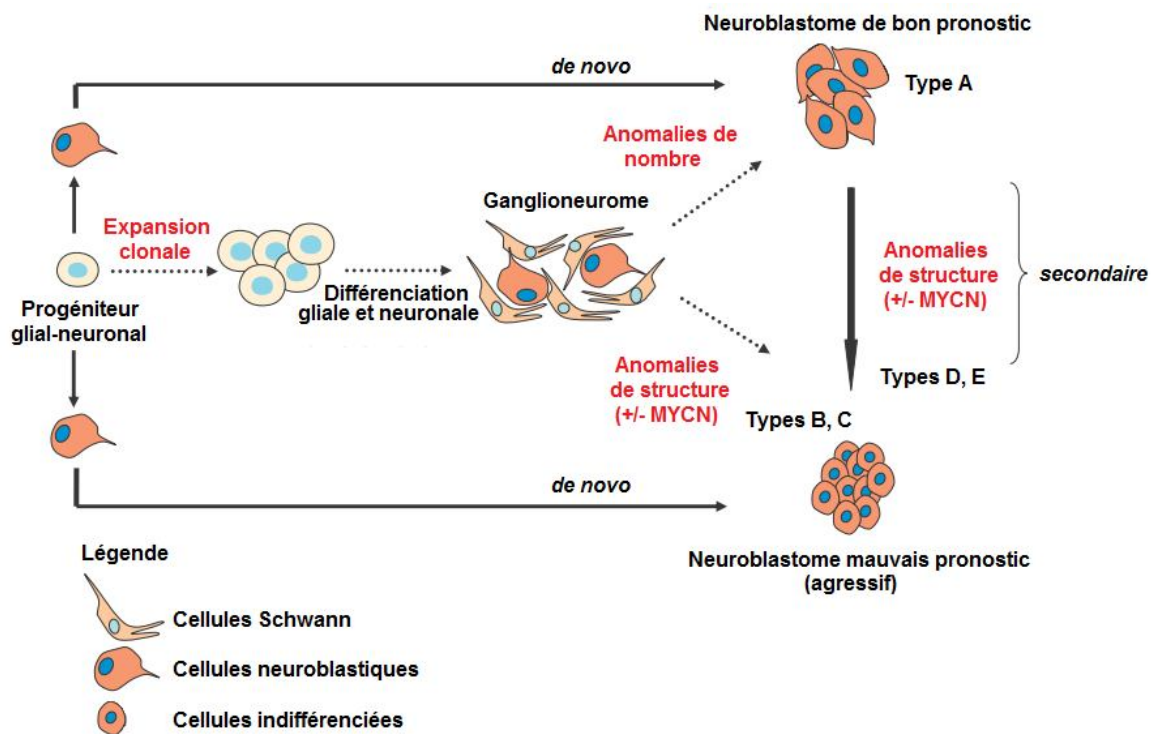


Figure 31. Modèle hypothétique de la progression du NB. [4].

Autant les NB de bon pronostic que de mauvais pronostic proviennent d'un progéniteur glial-neuronal, que ce soit *de novo* ou suite à une expansion clonale, à laquelle s'ajoutent des anomalies de nombre pour les NB de bon pronostic ou des anomalies de structure pour les NB de mauvais pronostic. Les NB de bon pronostic pourrait également évoluer, notamment par le gain d'anomalies de structure, en NB de mauvais pronostic.

Toutefois, certaines études ont soulevé la possibilité qu'une tumeur de bas grade puisse évoluer vers un plus haut grade. Ainsi, la possibilité de progression a été ajoutée au modèle : les progéniteurs pourraient subir une expansion clonale, puis de différencier pour former un GN sans anomalies. Dans un deuxième temps, les cellules neuronales du GN acquerraient des anomalies de nombre pour former un NB de bon pronostic (type A) ou de structure, notamment par des translocations déséquilibrées, pour donner un NB de mauvais pronostic (type B ou C). Compte tenu de l'hypothèse de progression, le modèle inclut également la possibilité que les NB de bas grade *de novo* puissent par la suite acquérir des anomalies structurelles afin de former un NB de haut grade (type D ou E, selon le statut de MYCN). Ainsi, les NB de mauvais pronostic pourraient également survenir de façon secondaire [4,50,147].

Quoique la progression soit théoriquement possible, aucun cas de NB de bas grade évoluant en NB de haut grade chez un même patient n'a été décrit dans la littérature.

5- Corrélation entre le modèle génétique du développement du neuroblastome et les différents facteurs pronostiques :

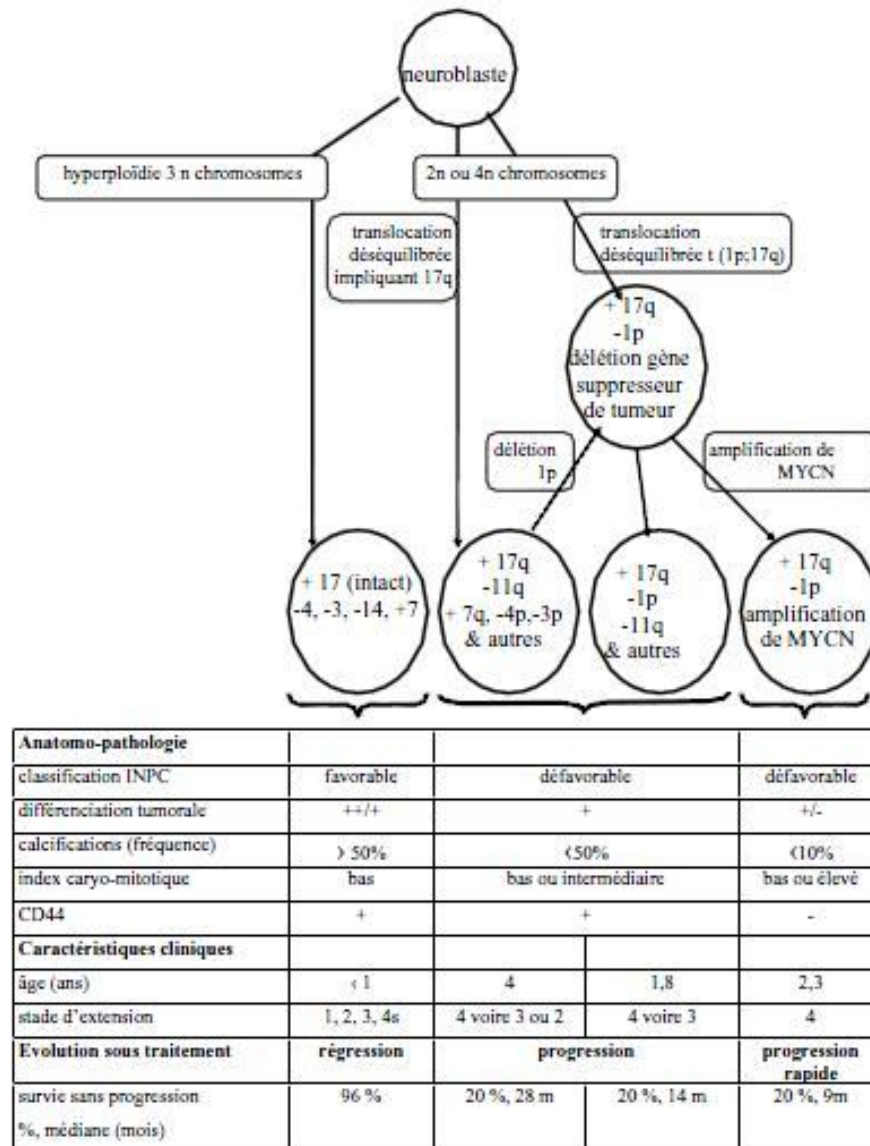


Figure 32. Modèle de succession des événements génétiques rendant compte des différentes variétés de NB. Corrélation avec les caractéristiques anatomopathologiques, cliniques et évolutives [50].

6- Stratification thérapeutique en fonction des profils génomiques :

Des approches collaboratives internationales prévoient d'appliquer une nouvelle stratification thérapeutique en fonction du « profil génomique » prenant en compte l'ensemble des altérations génétiques analysées par CGH-array, plutôt que des marqueurs génétiques isolés [10].

L'étude européenne LINES prévoit de regrouper dans un seul protocole, les stratégies thérapeutiques pour tous les enfants atteints d'un NB de non-haut risque, répartis en deux grands groupes : le bas risque et le risque intermédiaire. Le traitement sera stratifié en fonction des paramètres cliniques, radiologiques et biologiques, le but étant d'améliorer la survie globale et la survie sans récurrence avec une charge de traitement la moins lourde possible [10].

Chez les patients avec un NB de bas risque, le traitement est stratifié selon le profil tumoral pangénomique : **présence ou absence d'ACS**. En effet, la présence d'ACS (c'est-à-dire une altération segmentaire des chromosomes 1p, 2p, 3p, 11q et/ou 17q détectée en CGH-array) identifie une population à risque d'une progression ultérieure, indépendamment de l'âge et du stade au diagnostic []. Basée sur ces résultats et sur la connaissance d'une possible régression spontanée chez certains patients avec un NB de bas risque, la stratification thérapeutique comportera :

- une désescalade de traitement chez les nourrissons avec un NB localisé inopérable, sans signes cliniques menaçants, et sans ACS.

- Une intensification du traitement chez les nourrissons avec un NB de stade L2 ou MS chez qui la tumeur présente des ACS, afin d'améliorer leur survie sans récurrence.

Pour les enfants atteints de NB de risque intermédiaire, il est probable que la détermination du profil génomique aura un impact pour la prise en charge thérapeutique chez cette catégorie de patients. En revanche, chez les enfants atteints d'un NB de haut risque, le profilage génomique n'apportera pas d'informations pronostiques supplémentaire, et n'aidera donc pas pour la prise en charge thérapeutique, car des ACS seront observées chez la grande majorité de ces patients, justifiant un traitement plus intense. En revanche, il est probable que l'analyse des profils d'expression génomique chez le groupe à haut risque permettra, d'une part, de mieux définir les groupes de risque et, d'autre part, de contribuer à la recherche de nouvelles cibles thérapeutiques [10,201].



Conclusion et perspectives

Le neuroblastome est une tumeur très hétérogène dont les facteurs prédictifs génétiques prennent de plus en plus d'ampleur en matière de stratification des groupes de risques. Ainsi, ces anomalies génétiques influencent directement le traitement reçu par les patients.

La prise en compte du profil génomique tumoral pour la décision thérapeutique, notamment dans le cadre d'études internationales, ne peut avoir lieu que si un profil pan-génomique tumoral peut être obtenu avec une technique robuste et fiable. Une telle mise au point technique des méthodes pan-génomiques nécessite la mise en place de laboratoires spécialisés de référence, et l'organisation d'un circuit de prélèvements pour une analyse standardisée.

D'autre part, il devient primordial d'améliorer la méthode de stratification des neuroblastomes, surtout ceux inclus dans le groupe de risque intermédiaire, dans lequel, il existe une grande variabilité clinique. La découverte de nouveaux facteurs génétiques reliés à des caractéristiques cliniques dans des tumeurs n'ayant ni amplification de MYCN ni de délétion 1p, serait une avancée majeure dans cette voie.

Dans le groupe à haut risque, une attention particulière est portée à l'analyse des profils d'expression génique qui permettra, d'une part de mieux définir les groupes de risque, et d'autre part d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques. Ainsi, les progrès dans la compréhension de la biologie et de la génétique chez ces patients permettra une approche pronostique à l'échelle individuelle, et proposera des thérapeutiques ciblant leurs anomalies biologiques spécifiques.



Résumé

RESUME

Thèse n°137: Les altérations génétiques dans le neuroblastome

Auteur : Fatima Zahra RHOUNI

Mots clés : Neuroblastome, altérations génétiques, pronostic

Le neuroblastome est une tumeur maligne fréquente de l'enfant qui se caractérise par une grande hétérogénéité clinique, allant de la régression spontanée à l'évolution tumorale progressive et fatale. Les facteurs pronostiques expliquant cette variabilité sont dominés par l'âge, le stade tumoral au diagnostic, ainsi qu'un ensemble de facteurs biologiques qui renseignent sur l'évolution à long terme de la maladie.

L'essor qu'a connu la génétique ces dernières années a permis de mieux comprendre l'oncogenèse du neuroblastome, et d'identifier de nouveaux facteurs pronostiques plus précis et fiables. Ainsi, l'avènement de nouvelles techniques, telles que l'hybridation génomique comparative, permet d'analyser l'ensemble des altérations génétiques en une seule étape, et de définir des profils génomiques qui sont rattachés à des caractéristiques cliniques distinctes.

Les marqueurs génétiques gagnent de plus en plus d'importance en matière de stratification des groupes de risque, et conditionnent la prise en charge thérapeutique du neuroblastome. Une désescalade thérapeutique sera proposée chez les enfants ayant une tumeur de bas risque, alors que ceux ayant un neuroblastome de haut risque pourraient nécessiter un traitement plus intensif.

Les analyses génétiques cherchent actuellement à affiner la diversité des profils génomiques du neuroblastome, surtout chez les patients ayant un pronostic défavorable, dans le but d'adopter une approche pronostique individuelle et de proposer de nouvelles cibles thérapeutiques.

ABSTARCT

Thesis n°137: Genetic alterations in neuroblastoma

Author: Fatima Zahra RHOUNI

Key words: Neuroblastoma, genetic alterations, prognosis

Neuroblastoma is a common malignant tumor of the child, which is characterized by great clinical heterogeneity, ranging from spontaneous regression to progressive and fatal tumor progression. Prognostic factors explaining this variability are dominated by age, tumor stage at diagnosis, and a set of biological factors that inform about the long-term disease.

The rise that the genetic has known these last years has allowed a better understanding of the oncogenesis of neuroblastoma, and to identify new prognostic factors that are more accurate and reliable. Thus, the advent of new techniques such as comparative genomic hybridization, enables the analysis of the whole genetic alterations in a single step, and allows the definition of genomic profiles that are associated with distinct clinical features.

Genetic markers are gaining more and more importance in terms of stratification risk groups, and determine the treatment planning of neuroblastoma. A de-escalation of treatment will be proposed to children with low-risk tumors, whereas those with high-risk neuroblastoma might require more intensive treatment.

Genetic analyses are currently looking forward to refine the diversity of genomic profiles of neuroblastoma, especially for patients with poor prognosis, in order to adopt an individual prognostic approach and to offer new therapeutic targets.

ملخص

أطروحة رقم 137 : التعديلات الوراثية في ورم العصبية.

من طرف : فاطمة الزهراء ارهوني

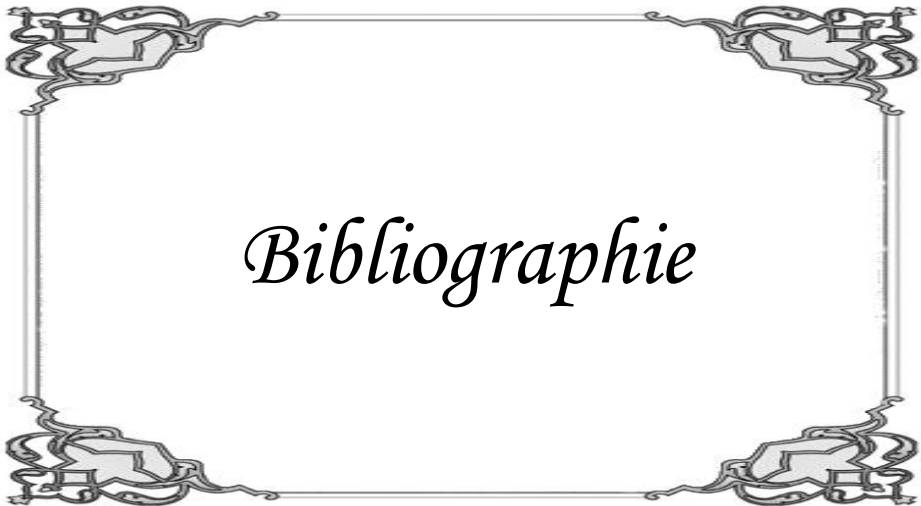
الكلمات الأساسية : ورم العصبية - التعديلات الوراثية - التوقعات.

ورم العصبية هو ورم خبيث شائع للطفل، يتميز بتنوع كبير على المستوى السريري، بدءاً من التراجع التلقائي إلى التطور التدريجي والفتاك للورم. وتتمثل العوامل التوقعية المهيمنة التي تفسر هذا التباين في : السن، والتصنيف المرحلي للورم عند التشخيص، بالإضافة إلى مجموعة من العوامل البيولوجية التي تبين كيفية تطور المرض على المدى البعيد.

إن الطفرة التي شهدها علم الوراثة على مدى السنوات الأخيرة، قد مكنت من فهم طريقة تكون ورم العصبية بصفة أفضل، كما مكنت من تحديد عوامل توقعية جديدة أكثر دقة وموثوقية. وبالتالي، فإن ظهور تقنيات جديدة، مثل تقنية التهجين الحينوني المقارن، قد مكن من تحليل جميع التعديلات الوراثية في خطوة واحدة، كما مكن من تحديد ملامح جينية وربطها بخصائص سريرية واضحة.

تكتسب العلامات الوراثية أكثر فأكثر أهمية فيما يتعلق بتصنيف الورم إلى فئات الخطر وتحديد استراتيجيات علاجية لورم العصبية. وسيتم اقتراح تصعيد علاجي للأطفال ذوي مخاطر ضعيفة، في حين أن الأطفال المصابين بأورام ذات مخاطر عالية قد يتطلبون علاجاً مكثفاً.

تسعى التحاليل الوراثية حالياً إلى تحسين استيعاب التنوع الجيني لورم العصبية، خصوصاً لدى المرضى ذوي عوامل توقعية غير واعدة، وذلك بهدف تبني نهج مبني على عوامل توقعية على المستوى الفردي، واقتراح أهداف علاجية جديدة.



Bibliographie

- [1] **Pla, P., Moore, R., Morali, O. G., Grille, S., Martinozzi, S., Delmas, V. and Larue, L.** Cadherins in neural crest cell development and transformation. *J. Cell. Physiol.* 2001; 189: 121–132.
- [2] **Newgreen DF, Tan SS.** Adhesion molecules in neural crest development. *Pharmacol Ther* 1993; 60(3): 517-37.
- [3] **Brodeur GM.** Neuroblastoma: biological insights into a clinical enigma. *Nature reviews. Cancer* 2003, 3(3): 203-216.
- [4] **Janoueix-Lerosey I, G Schleiermacher and O Delattre.** Molecular pathogenesis of peripheral neuroblastic tumors. *Oncogene* 2010, 29(11): 1566-1579.
- [5] **Maris JM.** Recent advances in neuroblastoma. *New England Journal of Medecine* 2010, 362(23): 2202-2211.
- [6] **Rubie H.** Neuroblastome. *Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Pédiatrie, 4-100-E-80, 2001, 12p.*
- [7] **Maris JM, Hogarty MD, Bagatell R, Cohn SL.** Neuroblastoma. *Lancet* 2007; 369: 2106-20.
- [8] **Maris JM.** The biological basis for neuroblastoma heterogeneity and risk stratification. *Curr Opin Pediatr* 2005; 17: 7-13.
- [9] **Park JR, Eggert A, Caron H.** Neuroblastoma: biology, prognosis, and treatment. *Hematol Oncol Clin North Am* 2010; 24: 65-86.
- [10] **Norman C, Michon J, Janoueix-Lerosey I, Delattre O, Schleiermacher G.** Les alterations génétiques dans le neuroblastome et leur apport pour la prise en charge thérapeutique. *Bull Cancer* 2011; 98: 477-488.

- [11] **Heck JE, B Ritz, RJ Hung, M Hashibe and P Boffetta.** The epidemiology of neuroblastoma: a review. *Paediatric and perinatal epidemiology* 2009, 23(2): 125-143.
- [12] **Munzer C, Menegaux F, Lacour B, et al.** Birth-related characteristics, congenital malformation, maternal reproductive history and neuroblastoma : the ESCALE study (SFCE). *Int J Cancer* 2007; 122: 2315-2321.
- [13] **Tonini GP, Longo L, Coco S, Perri P.** Familial neuroblastoma: a complex heritable disease. *Cancer Lett* 2003; 197: 41-45.
- [14] **Moore SW.** The contribution of associated congenital anomalies in understanding Hirschsprung's disease. *Pediatric Surgery International* 2006, 22(4): 305-315.
- [15] **Geraci AP, J de Csepel, E Shlasko and SA Wallace.** Ganglioneuroblastoma and ganglioneuroma in association with neurofibromatosis type I: report of three cases. *Journal of child neurology* 1998, 13(7): 356-358.
- [16] **Plantaz D, Rubie H, MichonJ, Mechinaud F, Coze C, Chastagner P, et al.** The treatment of neuroblastoma with intraspinal extension with chemotherapy followed by surgical removal of residual disease: A prospective study of 42 patients-results of the NBL 90 study of the French society of Pediatric Oncology. *Cancer* 1996; 78: 311-9.
- [17] **Couanet D, Valteau-Couanet D.** Neuroblastome. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Pédiatrie, 4-100-E-80, 2006.

- [18] **Plantaz D, Michon J, Valteau-Couanet D, Coze C, Chastagner P, Bergeron C, et al.** Opsoclonus-myoclonus syndrome associated with non-metastatic neuroblastoma. Long-term survival. Study of the French Society of Pediatric Oncologists. *Arch Pediatr* 2000; 7: 621-8.
- [19] **Matthay KK, Blaes F, Hero B, Plantaz D, De Alarcon P, Mitchell WG, et al.** Opsoclonus myoclonus syndrome in neuroblastoma: a report from a workshop on the dancing eyes syndrome at the advances in neuroblastoma meeting in Genoa, Italy, 2004. *Cancer lett* 2005; 228: 275-82.
- [20] **Schweigguth O.** Tumeurs solides de l'enfant. Paris : Flammarion médecine-Sciences, 1979.
- [21] **Candito M, Billaud E, Chauffert M, Collet-Emard JM, Desmoulin D, Garnier JP, et al.** Diagnostic biochimique du phéochromocytome et du neuroblastome. *Ann Biol Clin* 2002 ; 60/1 : 15-36.
- [22] **Hartmann O, Scopinoro M, Fournade MF, Sarrazin D, Lemerle J.** Neuroblastomes traités à l'institut Gustave Roussy de 1975 à 1979: cent-soixante-treize cas. *Arch Fr Pédiatr* 1983; 40 : 15-21.
- [23] **Kanelo Y, Kanda N, Mascki N.** Current urinary mass screening for catecholamines metabolites at 6 months of age may be detecting only a small portion of high risk neuroblastomas: a chromosome and N-Myc amplification study. *J Clin Invest* 1990; 8: 2005-2013.
- [24] **Evans AE, Baum E, Chard R.** Do infants with IVs neuroblastoma need treatment?. *Arch Dis Child* 1981; 56: 271-274.

- [25] **Hom M, Blatt J.** Continued remission in children with neuroblastoma despite elevation of urinary catecholamines metabolites. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1992; 14: 202-206.
- [26] **Triche TJ, Tsokos M, Linnolla T, Marangos PJ, Chandra R.** NSE in neuroblastoma and other round cells tumours of childhood. *Prog Clin Biol Res* 1985; 175: 295-317.
- [27] **Massaron S, Seregni E, Luksch R, Casanova M, Botti C, Ferrari L, et al.** Neuron-specific enolase evaluation in patients with neuroblastoma. *Tumour Biol* 1998; 19:261-8.
- [28] **Charak BS, Agah R, Mazumder A.** Synergism of interleukin-2 and cyclosporine A in induction of a graft-versus- tumor effect without graft-versus-host disease after synergic bone marrow transplantation. *Blood* 1992; 80: 179-84.
- [29] **Hann HL, Stahlhut MW, Evans AE.** Serum ferritin as a prognostic indicator in neuroblastoma: biological effects of isoferritins. In: Evans AE, D'Angio GJ, Seeger RC eds. *Advances in neuroblastoma research*. New York: AR liss, 1985:331-345.
- [30] **Mora J, Gerald WL, Qin J, Cheung NK.** Evolving significance of prognostic markers associated with treatment improvement in patients with stage 4 neuroblastoma. *Cancer* 2002; 94: 2756-65.
- [31] **Joshi W, Cantor AB, Brodeur GM, Look AT, Altshuler G, et al.** Correlation between morphologic and other prognostic markers of neuroblastoma: a study of histologic grade, DNA index, N-Myc gene copy and lactic deshydrogenase in patients in the pediatric oncology group. *Cancer* 1993; 71:3173-3181.

- [32] **Meyer JS, Harty MP, Khademian Z.** Imaging of neuroblastoma and Wilms' tumors. *Magn Reson Imaging Clin N Am* 2002; 10:275-302.
- [33] **Lonergan GJ, Schwab CM, Suarez ES, Carlson CL.** Neuroblastoma, ganglioneuroblastoma, and ganglioneuroma: radiologic-pathologic correlation. *Radiographics* 2002; 22: 911-34.
- [34] **Siegel MJ, Ishwaran H, Fletcher BD, et al.** Staging of neuroblastoma at imaging: report of the radiology diagnostic oncology group. *Radiology* 2002; 223: 168-75.
- [35] **Stark DD, Moss AA, Brasch RC, Delorimier AA, Abin AR, London DA, et al.** Neuroblastoma: diagnostic, imaging and staging. *Radiology* 1983; 148:101-5.
- [36] **Dietrich RB, Kangarloo H, Lenarsky C, Feig SA.** Neuroblastoma: the role of MR imaging. *AJR Am J Roentgenol* 1987; 148: 937-42.
- [37] **Giammarile F, Boneu A, Edeline V.** Guide de la réalisation de la scintigraphie à la méta-iodobenzylguanidine (mBIG) en oncologie pédiatrique. *Méd nucl-Imagerie Fonction Métab* 2000 ; 24 : 35-42.
- [38] **Matthay KK, Edeline V, Lumbroso J, Tanguy ML, Asselain B, Zucker JM, et al.** Correlation of early metastatic response by 123I-méta-iodobenzylguanidine scintigraphy with overall response and event-free survival in stage IV neuroblastoma. *J Clin Oncol* 2003; 21: 2486-91.
- [39] **Couanet D, Geoffray A, Hartmann O, Leclerc JG, Lumbroso JD.** Bone marrow metastases in children's neuroblastoma studied by magnetic resonance imaging. *Prog Clin Biol Res* 1988; 271:547-55.

- [40] **Kushner BH, Yeung HW, Larson SM, Kramer K, Cheung NK.** Extending positron emission tomography scan utility to high-risk neuroblastoma: fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography as sole imaging modality in follow-up of patients. *J Clin oncol* 2001; 19: 3397-405.
- [41] **Lau JJ, Trob JD, Ruiz RE, Cho RW, Wechsler DS, Shah GV, et al.** Metastatic neuroblastoma presenting with binocular blindness from intracranial compression of the optic nerves. *J Neuro Ophtalmol* 2004; 24: 119-24.
- [42] **Juweid ME, Menda Y, O'Dorisio MS, et al.** 111 In-pentetreotide versus bone scintigraphy in the detection of bony metastases of neuroblastoma. *Nucl Med Commun* 2002; 23: 989-9.
- [43] **Minard V, Hartmann O, Peyroulet MC, Michon J, Coze C, Defachelle AS, et al.** Adverse outcome of infants with metastatic neuroblastoma, MYCN amplification, and/or bone lesions: results of the French Society of Pediatric Oncology. *Br J Cancer* 2000; 83: 973-9.
- [44] **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.
- [45] **Shimada H, Ambros IM, Dehner LP, Hata J, Joshi VV, Roald B, et al.** The International Neuroblastoma Pathology Classification (the Shimada system). *Cancer* 1999; 86: 364-72.

- [46] **Burchill SA, Lewis IJ, Selby P.** Improved methods using the reverse transcriptase polymerase chain reaction to detect tumour cells. *Br J Cancer* 1999; 79:971-7.
- [47] **Slovis TL, Meza MP, Cushing B, et al.** Thoracic neuroblastoma: what is the best imaging modality for evaluating extent of disease? *Pediatr radiol* 1997; 27:273-5.
- [48] **Faulkner LB, Tintori V, Tamburini A, Paoli A, Garaventa A, Viscardi E, et al.** High-sensitivity immunocytologic analysis of neuroblastoma cells paired blood and marrow samples. *J Hemato ther* 1998;7:361-6.
- [49] **Beiske K, Ambros PF, Burchill SA, Cheung IY, Swerts K.** Detecting minimal residual disease in neuroblastoma patients –the present state of the art. *Cancer Lett* 2005; 228: 229-40.
- [50] **Pérel Y, Notz A, Valteau-Couanet D, Michon J, Lavrand F, Coze C, Bergeron C, Plantaz D, Chastagnier P, Bernard F, Thomas C, Rubie H.** Le pronostic du neuroblastome de l'enfant. Méthodes d'étude et utilisation en pratique clinique. *Archives de Pédiatrie* 2004 ; 11834-842.
- [51] **Cohn SL, Pearson AD, London WB, et al.** The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) classification system: an INRG task force report. *J Clin Oncol* 2009; 27: 289-97.
- [52] **Monclair T, brodeur GM, Ambros PF, et al.** The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) staging system : an INRG task force report. *J Clin Oncol* 2009; 27: 298-303.

- [53] **Ora I, Eggert A.** Progress in treatment and risk stratification of neuroblastoma: impact on future clinical and basic research. *Semin Cancer Biol* 2011; 21: 217-28.
- [54] **London WB, Castleberry RP, Matthay KK, Look AT, Seeger RC, Shimada H, Thorner P, Brodeur GM, Maris JM, Reynolds CP, Cohn SL.** Evidence for an age cutoff greater than 365 days for neuroblastoma risk group stratification in the Children's Oncology Group. *Journal of Clinical Oncology* 2005, 23(27): 6459-6465.
- [55] **Schmidt ML, Lal A, Seeger RC, Maris JM, Shimada H, O'Leary M, Gerbing RB, Matthay KK.** Favorable prognosis for patients 12 to 18 months of age with stage 4 nonamplified MYCN neuroblastoma: a Children's Cancer Group Study. *Journal of Clinical Oncology* 2005, 23(27): 6474-6480.
- [56] **Cotterill SJ, Pearson AD, Pritchard J, Foot AB, Roald B, Kohler JA, et al.** Clinical prognostic factors in 1277 patients with neuroblastoma: results of the European Neuroblastoma Study Group 'Survey' 1982-1992. *Euro J Cancer* 2000; 36(7): 901-8.
- [57] **Hann HW, Evans AE, Siegel SE, Wong KY, Sather H, Dalton A, et al.** Prognostic importance of serum ferritin in patients with stage III and IV neuroblastoma: the Children's Cancer Study Group experience. *Cancer Res* 1985; 45:2843-8.
- [58] **Zeltzer PM, Manarngos PJ, Evans AE, Schneider SL.** Serum neuron specific enolase in children with neuroblastoma. Relationship to stage and disease course. *Cancer* 1986; 57:1230-4.

- [59] **Ladisch S, Wu ZL.** Detection of a tumour-associated ganglioside in plasma of patients with neuroblastoma. *Lancet* 1985; 1:136-8.
- [60] **Berthold F, Kassenbohmer R, Zieschang J.** Multivariate evaluation of prognostic factors in localized neuroblastoma. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1994; 16: 107-15.
- [61] **Berthold F, Hunneman DH, Harms D, Kaser H, Zieschang J.** Serum vanillylmandelic acid-homovanillic acid contributes to prognosis estimation in patients with localized but not with metastatic neuroblastoma. *Eur J Cancer* 1992; 28A: 1950-4.
- [62] **Ikeda H, Suzuki N, Takahashi A, Kuroiwa M, Matsuyama S.** 3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA) metabolism in screening-detected and non-screening detected neuroblastoma. *Pediatr Hematol Oncol* 1996; 13:21-32.
- [63] **Shimada H, Chatten J, Newton WA Jr., Sachs N, Hamoudi AB, Chiba T, Marsden HB, Misugi K.** Histopathologic prognostic factors in neuroblastic tumors: definition of subtypes of ganglioneuroblastoma and an age-linked classification of neuroblastomas. *Journal of the National Cancer Institute* 1984, 73(2): 405-416.
- [64] **Peuchmaur M, D'Amore ES, Joshi VV, Hata J, Roald B, Dehner LP, Gerbing RB, Stram DO, Lukens JN, Matthay KK, Shimada H.** Revision of the International Neuroblastoma Pathology Classification: confirmation of favorable and unfavorable prognostic subsets in ganglioneuroblastoma, nodular. *Cancer* 2003, 98(10): 2274-2281.

- [65] **Shimada H, Ambros IM, Dehner LP, Hata J, Joshi VV, Roald B.** Terminology and morphologic criteria of neuroblastic tumors: recommendations by the International Neuroblastoma Pathology Committee. *Cancer* 1999; 86: 349-63.
- [66] **Paterson A.** Adrenal pathology in childhood: a spectrum of disease. *European Radiology* 2002, 12(10): 2491-2508.
- [67] **Brodeur GM, Maris JM, Yamashiro DJ, Hogarty MD, White PS.** Biology and genetics of human neuroblastomas. *J Pediatr Hematol oncol* 1997; 19(2): 93-101.
- [68] **Richard MJ, Joo P, Gilbert EF.** The rare problem of late recurrence in neuroblastoma. *Cancer* 1976; 38(4): 1847-52.
- [69] **Shamberger RC, Allarde-Segundo A, Kozakewich HP, Grier HE.** Surgical management of stage III and VI neuroblastoma: resection before or after chemotherapy? *J Pediatr Surg* 1991; 26(9): 1113-7; discussion 1117-8.
- [70] **Carli M, Pastore G, Perilongo G, et al.** The role of chemotherapy in neuroblastoma. In: Raybaud C, Clément R, Lebreuil G, Bernard JL eds. *Pediatric oncology*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1982:151-160.
- [71] **Carlsen NL, Schroeder H, Bro PV, erichsen G, Hamborg-Pedersen B, Jensen KB, et al.** Neuroblastomas treated at the four major child oncologic clinics in Danmark 1943-1980: an evaluation of 180 cases. *Med Pediatr Oncol* 1985; 13: 180-186.

- [72] **Hayes FA, Gree AA, Casper J, Comet J, Evans AE.** Clinical evaluation of sequentially schedules cisplatin and VM 26 in neuroblastoma. Response and toxicity. *Cancer* 1981; 48: 1715-1718.
- [73] **Kushner BH, O'Reilly RJ, Laqualgia M, Cheung NK.** Dose intensive use of cyclophosphamide in ablation of neuroblastoma. *Cancer* 1990; 66: 1080-1100.
- [74] **Berthold F, Boos J, Burdach S, Erttmann R, Henze G, Hermann J, et al.** Myeloablative megatherapy with autologous stem-cell rescue versus oral maintenance chemotherapy as consolidation treatment in patients with high-risk neuroblastoma: a randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2005; 6: 649-58.
- [75] **Matthay KK, Villablanca JG, Seeger RC, Stram DO, Harris RE, Ramsay NK, et al.** Treatment of high-risk neuroblastoma with intensive chemotherapy, radiotherapy, autologous bone marrow transplantation, and 13-cis-retinoic acid. Children's Cancer Group. *N Engl J Med* 1999; 341: 1165-73.
- [76] **Bowman LC, Hancock ML, Santana VM, Hayes FA, Kun L, Parham DM.** Impact of intensified therapy on clinical outcome in infants and children with neuroblastoma: the St Jude Children's research hospital experience, 1962 to 1988. *J Clin Oncol* 1991; 9:1599-1608.
- [77] **Cheung NK, Heller G.** Chemotherapy dose intensity correlates strongly with response, median survival and median progression-free survival in metastatic neuroblastoma. *J Clin Oncol* 1991; 9:1050-1058.

- [78] **Kushner BH, O'Reilly RJ, Mandel LR, Gulati SC, Laquaglia M, Cheung NK.** Myeloablative combination chemotherapy without total body irradiation for neuroblastoma. *J Clin Oncol* 1991; 9: 274-279.
- [79] **Hartmann O, Kalifa C, Benhamou E, Patte C, Flamant F, Jullien Cetal.** Treatment of advanced neuroblastoma with high-dose melphalan and autologue bone marrow transplantation. *Cancer Chemother Pharmacol* 1986; 16: 165-169.
- [80] **Pinkerton CR, Pritchard J, De Kraker J, et al.** ENSG1 randomized study of high-dose metaphlan in neuroblastoma. In: Dicke KA, Spitzer G, Jagannath S eds. Autologous bone marrow transplantation. Proceedings of the Third international symposium, Houston: University of Texas MD. Anderson Hospital and Tumor institute, 1987: 401-405.
- [81] **Pritchard J, Germond S, Jones D, De Kraker J, Love S.** Is high dose melphalan of value in treatment of advanced neuroblastoma: preliminary results of a randomized trial by the European neuroblastoma study group (ENSG). *Proc Am soc Clin Oncol* 1986; 5: 205.
- [82] **Hartmann O, Banhamou E, Beaujan F, Kalifa C, Lejars O, Patte C, et al.** Repeated high-dose chemotherapy followed by purged autologous bone marrow transplantation as consolidation therapy in metastatic neuroblastoma. *J Clin Oncol* 1987; 5: 1205-1211.
- [83] **Hartmann O, Valteau-Couanet D, Vassal G, Lapierre V, Brugieres L, Delgado R, et al.** Prognostic factors in metastatic neuroblastoma in patients over 1 year of age treated with high-dose chemotherapy and stem cell transplantation: a multivariate analysis in 218 patients treated in a single institution. *Bone Marrow Transplant* 1999; 23: 789-795.

- [84] **Raguenez G, Douc-Rasy S, Blanc E, Goldschneider D, Barrois M, Valteau-Couanet D, Benard J.** A functional gene map is required to adapt therapy of metastatic neuroblastoma. *Bull Cancer* 2001; 88(3): 295-304.
- [85] **Goldsmith KC, Hogarty MD.** Targeting programmed cell death pathways with experimental therapeutics: opportunities in high-risk neuroblastoma. *Cancer Lett* 2005; 228: 133-141.
- [86] **Rubino C, Adjadj E, Guerin S, Guibout C, Shamsaldin A, Dondon Mg, et al.** Long-term risk of second malignant neoplasms after neuroblastoma in childhood: role of treatment. *Int J Cancer* 2003; 107(5): 791-6.
- [87] **Menu-Branthomme A, Rubino C, Shamsaldin A, Hawkins MM, Grimaud E, Dondon MG, et al.** Radiation dose, chemotherapy and risk of soft tissue sarcoma after tumours during childhood. *Int J Cancer* 2004; 110: 87-93.
- [88] **Rubie H, Michon J, Plantaz D, Peyroulet MC, Coze C, Frappaz D, et al.** Unresectable localized neuroblastoma : improved survival after primary chemotherapy including carboplatin-etoposide. Neuroblastoma Study Group of the Société Française d'Oncologie Pédiatrique (SFOP). *Br J Cancer* 1998; 77: 2310-7.
- [89] **Matthay KK, Seeger RC, Reynolds CP, Stram DO, O'leary MC, Harris RE, et al.** Allogeneic versus autologous purged bone marrow transplantation for neuroblastoma: a report from the Children's Cancer Group. *J Clin Oncol* 1994; 12: 2382-9.

- [90] **Wolden SL, Gollamudi SV, Kushner BH, LaQuaglia M, Kramer K, Rosen N, Abramson S, Cheung NV.** Local control with multimodality therapy for stage 4 neuroblastoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000; 46(4): 969-74.
- [91] **Lombroso J, Hartmann O, Schlumberger M.** Therapeutic use of [131I]metaiodobenzylguanidine in neuroblastoma: a phase II study in 26 patients. “Société Française d’Oncologie Pédiatrique” and Nuclear Medicine co-investigators. *J Nucl med* 1991; 35(4): 220-3.
- [92] **Matthay KK, Yanik G, Messina J, Quach A, Huberty J, Cheung SC, et al.** Phase II study on the effect of disease sites, age, and prior therapy, on response to iodine-131-metaiodobenzylguanidine therapy in refractory neuroblastoma. *J Clin Oncol* 2007; 25(9): 1054-60.
- [93] **Look AT, Hayes FA, Shuster JJ, Douglass EC, Castleberry RP, Bowman LC, Smith EI, Brodeur GM.** Clinical relevance of tumor cell ploidy and N-myc gene amplification in childhood neuroblastoma: a Pediatric Oncology Group study. *Journal of Clinical Oncology* 1991, 9(4): 581-591.
- [94] **Hsu LL, Evans AE, D’Angio GJ.** Hepatomegaly in neuroblastoma stage 4s: criteria for treatment of vulnerable neonate. *Med Pediatr Oncol* 1996; 27:521-8.
- [95] **Rubie H, Plantaz D, Coze C, Micgon J, Frappaz D, Baranzelli MC, et al.** Localised and unresectable neuroblastoma in infants : excellent outcome with primary chemotherapy. *Med Pediatr Oncol* 2001; 36: 247-50. Neuroblastoma Study Group, Société Française d’Oncologie Pédiatrique.

- [96] **Wu ZL, Schwartz E, Seeger R, Ladisch S.** Expression of GD2 ganglioside by untreated primary human neuroblastomas. *Cancer Res* 1986; 46(1): 440-3.
- [97] **Barker E, Mueller BM, Handgretinger R, Herter M, Yu AL, Reisfeld RA.** Effect of a chimeric anti-ganglioside GD2 antibody on cell-mediated lysis of human neuroblastoma cells. *Cancer Res* 1991; 51(1): 144-9.
- [98] **Yu AL, Uttenreuther-Fischer MM, Huang CS, Tsui CC, Gillies SD, Reisfeld RA, Kung FH.** Phase I trial of a human-mouse chimeric anti-disialoganglioside monoclonal antibody ch.14.18 in patients with refractory neuroblastoma and osteosarcoma. *J Clin Oncol* 1998; 16(6): 2169-80.
- [99] **Cheung NK, Kushner BH, Cheung IY, Kramer K, Canete A, Gerald W, Bonilla MA, Finn R, Yeh SJ, Larson SM.** Anti-G(D2) antibody treatment of minimal residual stage 4 neuroblastoma diagnosed at more than 1 year of age. *J Clin Oncol* 1998; 16(9): 3053-60.
- [100] **Rousseau R, Combaret V, Yvon E, Schell M, Philip I, Puisieux A, Frappaz D, Philip T, Bergeron C.** [Immunotherapy of poor-prognosis neuroblastoma in children : from bench to bedside]. *Bull Cancer* 2006; 93(2): 153-61.
- [101] **Lampson LA, Fischer CA, Whelan JP.** Striking Paucity of HLA-A, B, C and beta 2-microglobulin on human neuroblastoma cell lines. *J Immunol* 1983; 130:2471-8.

- [102] **Valteau-Couanet D, Leboultaire C, Maincent K, Tournier M, Hartmann O, Bernard J, et al.** Dendritic cells for NK/LAK activation : rationale for multicellular immunotherapy in neuroblastoma patients. *Blood* 2002; 100: 2554-61.
- [103] **Foreman NK, Rill DR, Coustan-Smith E, Douglass EC, Brenner MK.** Mechanisms of selective killing of neuroblastoma cells by natural killer cells and lymphokine activated killer cells. Potential for residual disease eradication. *Br J Cancer* 1993; 67: 933-8.
- [104] **Rossi AR, Pericle F, Rashleigh S, Janiec J, Djeu JK.** Lysis of neuroblastoma cell lines by human natural killer cells activated by interleukin-2 and interleukin-12. *Blood* 1994; 83: 1323-8.
- [105] **Corrias MV, Occhino M, Croce M, De Ambrosis A, Pistillo MP, Bocca P, Pistoia V, Ferrini S.** Lack of HLA-class I antigens in human neuroblastoma cells: analysis of its relationship to TAP and tapasin expression. *Tissue Antigens* 2001;57(2): 110-7.
- [106] **Valteau-couanet D, Rubie H, Meresse V, Farace F, Brandely M, Hartmann O.** Phase I-II study of interleukin-2 after high-dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation in poorly responding neuroblastoma. *Bone Marrow Transplant* 1995; 16: 515-20.
- [107] **Shilyansky J, Jacobs P, Doffek K, Sugg SL.** Induction of cytolytic T lymphocytes against pediatric solid tumors in vitro using autologous dendritic cells pulsed with necrotic primary tumor. *J Pediatr Surg* 2007; 42(1): 54-61.

- [108] **Ribatti D, Vacca A, Nico B, De Falco G, Giuseppe Montaldo P, Ponzoni M.** Angiogenesis and anti-angiogenesis in neuroblastoma. *Eur J Cancer* 2002; 38(6): 750-7.
- [109] **Tonini GP and Pistoia V.** Molecularly guided therapy of neuroblastoma: a review of different approaches. *Curr Pharm Des* 2006; 12(18): 2303-2317.
- [110] **Chesler L, Goldenberg DD, Seales IT, Satchi-Fainaro R, Grimmer M, Collins R, Struett C, Nguyen KN, Kim G, Tihan T, Bao Y, Brekken RA, Bergers G, Folkman J, Weiss WA.** Malignant progression and blockade of angiogenesis in a murine transgenic model of neuroblastoma. *Cancer Res* 2007; 67(19): 9435-42.
- [111] **Taylor M, Georger B, Lagodny J, Farace F, Vassal G, Rossler J.** Neuroblastome: intérêt des traitements anti-angiogéniques. *Arch Pediatr* 2009; 16(5): 457-67.
- [112] **Thiele CJ, Reynolds CP, Israel MA.** Decreased expression of N-myc precedes retinoic acid-induced morphological differentiation of human neuroblastoma. *Nature* 1985; 313(6001): 404-6.
- [113] **Thiele CJ, Deutsch LA, Israel MA.** The expression of multiples proto-oncogenes is differentially regulated during retinoic acid induced maturation of human neuroblastoma cell lines. *Oncogene* 1988;3(3): 281-8.
- [114] **Villablanca JG, Khan AA, Avramis VI, Seeger RC, Matthay KK, Ramsay NK, Reynolds CP.** Phase I trial of 13-cis-retinoic acid in children with neuroblastoma following bone marrow transplantation. *J Clin Oncol* 1995; 13(4): 894-901.

- [115] **Khan AA, Villablanca JG, Reynolds CP, Avramis IV.** Pharmacokinetic studies of 13-cis-retinoic acid in pediatric patients with neuroblastoma following bone marrow transplantation. *Cancer Chemother Pharmacol* 1996; 39(1-2): 34-41.
- [116] **Kohler JA, Imeson J, ellershaw C, Lie CO.** A randomized trial of 13-cis retinoic acid in children with advanced neuroblastoma after high-dose therapy. *Br J Cancer* 2000; 83(9): 1124-7.
- [117] **Tjio JH et Levan A.** The chromosome number of man. *Hereditas* 1956; 42:1-6.
- [118] **Emanuel BS et Saitta SC.** From microscopes to microarrays: dissecting recurrent chromosomal rearrangements. *Nature reviews. Genetics* 2007, 8(11): 869-883.
- [119] **Lastowska M, Nacheva E, McGuckin A, Curtis A, Grace C, Pearson A, Bown N.** Comparative genomic hybridization study of primary neuroblastoma tumors. *Genes, chromosomes & cancer* 1997, 18(3): 162-169.
- [120] **Kim SK, Lund J, Kiraly M, Duke K, Jiang M, Stuart JM, Eizinger A, Wylie BN, Davidson GS.** A gene expression map *Caenorhabditis elegans*. *Science* 2001; 293(5537): 2087-92.
- [121] **Murray MJ, Merritt DJ, Brand AH, Whittington MP.** In vivo dynamics of axon pathfinding in the *Drosophila* CNS: a time-lapse study of an identified motoneuron. *J Neurobiol* 1998; 37(4):607-621.

- [122] **Béri-Dexheimer M.** Hybridation génomique comparative en microréseau : évolutions techniques et place dans la stratégie diagnostique : expérience dans le cadre du retard mental. Mémoire DES : Biologie médicale : Nancy 1 : 2005.
- [123] **Bouayed Abdelmoula N.** Apport de la cytogénétique moléculaire au diagnostic des anomalies chromosomiques. *Annales de biologie clinique* 2004 ; 62(6) : 629-37.
- [124] **Mathew P, Valentine MB, Bowman LC, Rowe ST, Nash MB, Valentine VA, Cohn SL, Castelberry LP, Brodeur GM, Look AT.** Detection of MYCN gene amplification in neuroblastoma by Fluorescence In Situ Hybridization: A Pediatric Oncology Group Study. *Neoplasia* 2001; 3(2): 105-109.
- [125] **Marshall T and Rutledge JC.** Flow cytometry DNA applications in pediatric tumor pathology. *Pediatric and developmental pathology* 2000; 3(4): 314-334.
- [126] **Montange T, Vejux A, Labenne M, Poncelet P, Gouyon JB, Lizard G.** Cytométrie en flux, microbilles et analyses biomoléculaires multiplexes. *Immuno Biol Spécialisée* 2005 ; 20 : 2-10.
- [127] **Chassevent A, Bénard J.** Expression de l'oncogène N-myc et mesure de l'ADN-ploïdie dans le neuroblastome : double marquage nucléaire pour analyse par cytométrie en flux. *Bull Cancer* 1997 ; 84(3) : 229-34.
- [128] **Bown N.** Neuroblastoma tumour genetics : clinical and biological aspects. *J Clin Pathol* 2001;54: 897-910.
- [129] **Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Sudar D, Rutovitz D, Gray JW, Waldman F, Pinkel D.** Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science* 1992; 258(5083): 818-821.

- [130] **Solinas-Toldo S., Lampel S., Stilgenbauer S., Nickolenko J., Benner A., Dohner H., Cremer T., Lichter P.** Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chromosomes Cancer* 1997; 20: 399–407.
- [131] **Pinkel D, Seagraves R, Sudar D, Clark S, Poole I, Kowbel D, Collins C, Kuo W-L, Chen C, Zhai Y, Dairkee SH, Ljung B-M, Gray JW and Albertson DG.** High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays. *Nat. Genet.* 1998; 20, 207–211.
- [132] **Feuk L, Carson AR, Scherer SW.** Structural variation in the human genome. *Nat Rev Genetics* 2006; 7: 85-97.
- [133] **Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwiijnenburg D, Diepvens F, Pals G.** Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent prob amplification. *Nucleic Acids Rev* 2002; 30(12): 57.
- [134] **Sparkes R, Johnson JA, Langlois S.** Nouvelles techniques moléculaires de dépistage prénatal de l'aneuploïdie chromosomique. *JOGC* 2008 ; 210 : 622-27.
- [135] **Ambros PF, Ambros IM, Brodeur GM, Haber M, Khan J, Nakagawara A, Scheiermacher G, Speleman F, Spitz R, London WB, Cohn SL, Pearson ADJ, Maris JM.** International consensus for neuroblastoma molecular diagnostics : report from the International Neuroblastoma Risk Group (INRG) Biology Committee. *Br J Cancer* 2009; 100: 1471-82.

- [136] **Look AT, Hayes FA, Nitschke R, et al.** Cellular DNA content as a predictor of response to chemotherapy in infants with unresectable neuroblastoma. *N Eng J Med* 1984; 311: 231-5.
- [137] **Look AT, Hayes FA, Shuster JJ, Douglass EC, Castleberry RP, Bowman LC, Smith EI, Brodeur GM.** Clinical relevance of tumor cell ploidy and N-myc gene amplification in childhood neuroblastoma: a Pediatric Oncology Group study. *Journal of Clinical Oncology* 1991, 9(4): 581-591.
- [138] **Gansler T, Chatten J, VarelloM, et al.** Flow cytometric DNA analysis of neuroblastoma. *Cancer* 1986; 58:2453-8.
- [139] **Muraji T, Okamoto E, Fujimoto J, et al.** Combined determination of N-myc oncogene amplification and DNA ploidy in neuroblastoma. *Cancer* 1993; 72: 2763-8.
- [140] **Landenstein R, Ambros IM, Potschger U, Amann G, Urban C, Fink FM, et al.** Prognostic significance of DNA di-tetraploidy in neuroblastoma. *Med Pediatr Oncol* 2001;36:83-92.
- [141] **Schleiermacher G, Delattre O, peter M, et al.** Clinical relevance of loss heterozygosity of the short arm of chromosome 1 in neuroblastoma: a single-institution study. *Int J Cancer* 1996;69: 73-8.
- [142] **Spitz R, Betts DR, Simon T, Boensch M, Oestreich J, Niggli FK, Ernestus K, Berthold F Hero B.** Favorable outcome of triploid neuroblastomas: a contribution to the special oncogenesis of neuroblastoma. *Cancer genetics and cytogenetics* 2006; 167(1): 51-56.

- [143] **Dutt A and Beroukhim R** . Single nucleotide polymorphism array analysis of cancer. *Current opinion in oncology* 2007; 19(1): 43-49.
- [144] **O'Keefe C, McDevitt MA, Maciejewski JP**. Copy neutral loss of heterozygosity: a novel chromosomal lesion in myeloid malignancies." *Blood* 2010; 115(14): 2731-2739.
- [145] **Jankowska AM, Gondek LP, Szpurka H, Nearman ZP, Tiu RV, Maciejewski JP**. Base excision repair dysfunction in a subgroup of patients with myelo-dysplastic syndrome. *Leukemia* 2008; 22(3):551-58.
- [146] **Young BD, Debernardi S, Lillington DM, et al**. A role for mitotic recombination in leukemogenesis. *Adv Enzyme Regul* 2006; 46:90-97.
- [147] **Janoueix-Lerosey I, Schleiermacher G, Michels E, Mosseri V, Ribeiro A, Lequin D, Vermeulen J, Couturier J, Peuchmaur M, Valent A, Plantaz D, Rubie H, Valteau-Couanet D, Thomas C, Combaret V, Rousseau R, Eggert A, Michon J, Speleman F, Delattre O**. Overall Genomic Pattern Is a Predictor of Outcome in Neuroblastoma. *Journal of Clinical Oncology* 2009; 27(7): 1026-1033.
- [148] **Seeger RC, Brodeur GM, Sather H, et al**. Association of multiple copies of the N-myc oncogene with rapide progression of neuroblastomas. *N Engl J Med* 1985; 313:1111-6.
- [149] **Kaneko Y, Kanda N, Maseki N, Sakurai M, Tsuchida Y, Takeda T, Okabe I, Sakurai M**. Different karyotypic patterns in early and advanced stage neuroblastomas. *Cancer Research* 1987; 47(1): 311-318.

- [150] **Schwab M, Varmus HE, Bishop JM, et al.** Chromosome localisation in normal human cells and neuroblastomas of a gene related to c-myc. *Nature* 1984;308:288-91.
- [151] **Emanuel BS, Balaban G, Boyd JP, et al.** N-myc amplification in multiple homogeneously staining regions in two human neuroblastomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82:3736-40.
- [152] **Storlazzi CT, Lonoce A, Guastadisegni MC, Trombetta D, D'Addabbo P, Daniele G, L'Abbate A, Macchia G, Surace C, Kok K, et al.** Gene amplification as double minutes or homogeneously staining regions in solid tumors: origin and structure. *Genome research* 2010;20(9):1198-206.
- [153] **Amler LC, Shibasaki Y, Savelyeva L, et al.** Amplification of the N-myc genes in human neuroblastomas : tandemly repeated amplicons within homogeneously staining regions on different chromosomes with the retention of single copy gene at the resident side. *Mutat Res* 1992; 276:291-7.
- [154] **O'Neill S, Ekstrom L, Lastowska M, Roberts P, Brodeur GM, Kees UR, Schwab M and Bown N.** MYCN amplification and 17q in neuroblastoma: evidence for structural association. *Genes, chromosomes & cancer* 2001; 30(1): 87-90.
- [155] **George RE, Squire JA.** Structure of the MYCN amplicon. In: Brodeur GM, Sawada T, Tsuchida Y, et al, eds. Neuroblastoma. Amsterdam : Elsevier 2000 :85-100.

- [156] **Wimmer K, Zhu XX, Lamb BJ, et al.** Co-amplification of a novel gene, NAG, with the N-myc gene in neuroblastoma. *Oncogene* 1999;18:233-8.
- [157] **Woo CW, Tan F, Cassano H, Lee J, Lee KC, Thiele CJ.** Use of RNA interference to elucidate the effect of MYCN on cell cycle in neuroblastoma. *Pediatr Blood Cancer* 2008; 50(2):208-12.
- [158] **Bell E, Lunec J, Tweddle DA.** Cell cycle regulation targets of MYCN identified by gene expression microarrays. *Cell Cycle* 2007;6(10):1249-56.
- [159] **Wallick CJ, Gamper I, Thorne M, Feith DJ, Takasaki KY, Wilson SM, Seki JA, Pegg AE, Byu CV, Bachmann A.** Key role for p27kip1, retinoblastoma protein Rb, and MYCN in polyamine inhibitor-induced G1 cell cycle arrest in MYCN-amplified human neuroblastoma cells. *Oncogene* 2005; 24(36):5606-18.
- [160] **Lasorella A, Nosedà M, Beyna M, Yokota Y, Iavarone A.** Id2 is a retinoblastoma protein target and mediates signalling by Myc oncoproteins. *Nature* 2000; 407(6804):592-8.
- [161] **Schramm A, von Schuetz V, Christiansen H, Havers W, Papoutsis M, Wilting J, Schweigerer L.** High activin A-expression in human neuroblastoma: suppression of malignant potential and correlation with favourable clinical outcome. *Oncogene* 2005; 24(4):680-7.
- [162] **Hatzi e, Murphy C, Zoephel A, Ahorn H, Tontsch U, Bamberger AM, Yamauchi-Takahara K, Schweigerer L, Fotsis T.** N-myc oncogene overexpression down-regulates leukemia inhibitory factor in neuroblastoma. *Eur J Biochem* 2000; 269(15):3732-41.

- [163] **Noujaim D, van Golen CM, van Golen KL, Grauman A, Feldman EL.** N-Myc and Bcl-2 coexpression induces MMP-2 secretion and activation in human neuroblastoma cells. *Oncogene* 2002; 21(29):4549-57.
- [164] **Godfried MB, Veenstra M, v Sluis P, Boon K, v Asperen R, Hermus MC, v Schaik BD, Voute TP, Schwab M, Versteeg R, Caron HN.** The N-myc and c-myc downstream pathways include the chromosome 17q genes nm23-H1 and nm23-H2. *Oncogene* 2002; 21(13):2097-101.
- [165] **Almgren MA, Henriksson KC, Fujimoto J, Chang CL.** Nucleoside diphosphate kinase A/nm23-H1 promotes metastasis of NB69-derived human neuroblastoma. *Mol Cancer Res* 2004; 2(7):387-94.
- [166] **Caron H, van Sluis P, van Roy N, de Kraker J, Speleman F, Voute PA, Westerveld A, Slater R, Versteeg R.** Recurrent 1;17 translocations in human neuroblastoma reveal nonhomologous mitotic recombination during the S/G2 phase as a novel mechanism for loss of heterozygosity. *American Journal of Human Genetics* 1994; 55(2): 341-347.
- [167] **Meddeb M, Danglot G, Chudoba I, Venuat AM, Benard J, Avet-Loiseau H, Vasseur B, Le Paslier D, Terrier-Lacombe MJ, Hartmann O, Bernheim A.** Additional copies of a 25 Mb chromosomal region originating from 17q23.1-17qter are present in 90% of high-grade neuroblastomas. *Genes, chromosomes & cancer* 1996 ;17(3): 156-165.
- [168] **Plantaz D, Mohapatra G, Matthay KK, Pellarin M, Seeger RC, Feuerstein BG.** Gain of chromosome 17 is the most frequent abnormality detected in neuroblastoma by comparative genomic hybridization." *American Journal of Pathology* 1997; 150(1): 81-89.

- [169] **Abel F, Ejekkar K, Kogner P, Martinsson T.** Gain of chromosome arm 17q is associated with unfavourable prognosis in neuroblastoma, but does not involve mutations in the somatostatin receptor 2 (SSTR2) gene at 17q24. *Br J Cancer* 1999; 81:1402-9.
- [170] **Lastowska M, Cullinane C, Variend S, et al.** Comprehensive genetic and histopathologic study reveals three types of neuroblastoma tumors. *J Clin Oncol* 2001;19:3080-90.
- [171] **Vandesompele J, Van Roy N, Van Gele M, Laureys G, Ambros P, Heimann P, Devalck C, Schuuring E, Brock P, Otten J, Gyselinck J, De Paepe A and Speleman F.** Genetic heterogeneity of neuroblastoma studied by comparative genomic hybridization. *Genes, chromosomes & cancer* 1998; 23(2): 141-152.
- [172] **Plantaz D.** Le neuroblastome: un siècle après Pepper : quels sont les gènes? *Arch Pediatr* 2001 ; 8 : 917-21.
- [173] **Lastowska M, Roberts P, Pearson AD, Lewis I, Wolstenholme J and Bown N.** Promiscuous translocations of chromosome arm 17q in human neuroblastomas. *Genes, chromosomes & cancer* 1997; 19(3): 143-149.
- [174] **Lo Cunsolo C, Bicocchi MP, Petti AR, et al.** Numerical and structural aberrations in advanced neuroblastoma tumours by CGH analysis; survival correlates with chromosome 17 status. *Br J Cancer* 2000;83:1295-300.
- [175] **Maris JM and Matthay KK .** Molecular biology of neuroblastoma. *Journal of Clinical Oncology* 1998, 17(7): 2264-2279.

- [176] **Islam A, Kageyama H, Takada N, et al.** High expression of survivin, mapped to 17q25, is significantly associated with poor prognostic factors and promotes cell survival in human neuroblastoma. *Oncogene* 2000; 19:617-23.
- [177] **Lastowska M, Cotterill S, Bown N, Cullinane C, Variend S, Lunec J, Strachan T, Pearson AD and Jackson MS.** Breakpoint position on 17q identifies the most aggressive neuroblastoma tumors. *Genes, chromosomes & cancer* 2002, 34(4): 428-436.
- [178] **Takita J, Hayashi Y, Kohno T, Shiseki M, Yamaguchi N, Hanada R, Yamamoto K and Yokota J .** Allelotype of neuroblastoma. *Oncogene* 1995; 11(9):1829-1834.
- [179] **White PS, Thompson PM, Seifried BA, Sulman EP, Jensen SJ, Guo C, Maris JM, Hogarty MD, Allen D, Biegel JA, Matisse TC, Gregory SG, Reynolds CP and Brodeur GM.** Detailed molecular analysis of 1p36 in neuroblastoma. *Medical and Pediatric Oncology* 2001; 36(1): 37-41.
- [180] **Bader SA, Fasching C, Brodeur GM, Stanbridge EJ.** Dissociation of suppression of tumorigenicity and differentiation in vitro effected by transfer of single human chromosomes into human neuroblastoma cells. *Cell Growth Differ* 1991; 2(5):245-55.
- [181] **Okawa ER, Gotoh T, Manne J, Igarashi J, Fujita T, Silverman KA, Xhao H, Mosse YP, White PS and Brodeur GM.** Expression and sequence analysis of candidates for the 1p36.31 tumor suppressor gene deleted in neuroblastomas. *Oncogene* 2008, 27(6): 803-810.

- [182] **Barbashina V, Salazar P, Holland EC, Rosenblum MK and Ladanyi M.** Allelic losses at 1p36 and 19q13 in gliomas: correlation with histologic classification, definition of a 150-kb minimal deleted region on 1p36, and evaluation of CAMTA1 as a candidate tumor suppressor gene. *Clinical Cancer Research* 2005;11(3): 1119-1128.
- [183] **Maintz D, Fiedler K, Koopmann J, Rollbrocker B, Nechev S, Lenartz D, Stangl AP, Louis DN, Schramm J, Wiestler OD and von Deimling A.** Molecular genetic evidence for subtypes of oligoastrocytomas. *Journal of neuropathology and experimental neurology* 1997; 56(10): 1098-1104.
- [184] **Fijneman RJ, Carvalho B, Postma C, Mongera S, van Hinsbergh VW and Meijer GA.** Loss of 1p36, gain of 8q24, and loss of 9q34 are associated with stroma percentage of colorectal cancer. *Cancer Letters* 2007; 258(2): 223-229.
- [185] **Christiansen H, Schestag J, Christiansen NM, Grzeschik KH and Lampert F.** Clinical impact of chromosome 1 aberrations in neuroblastoma: a metaphase and interphase cytogenetic study. *Genes, chromosomes & cancer* 1992; 5(2): 141-149.
- [186] **Hayashi Y, Kanda N, Inaba T, Hanada R, Nagahara N, Muchi H and Yamamoto K.** Cytogenetic findings and prognosis in neuroblastoma with emphasis on marker chromosome 1. *Cancer* 1989; 63(1): 126-32.

- [187] **Caron H, van Sluis P, de Kraker J, Bokkerink J, Egeler M, Laureys G, Slater R, Westerveld A, Voute PA and Versteeg R.** Allelic loss of chromosome 1p as a predictor of unfavorable outcome in patients with neuroblastoma. *New England Journal of Medicine* 1996; 334(4): 225-230.
- [188] **Maris JM, Weiss MJ, Guo C, Gerbing RB, Stram DO, White PS, Hogarty MD, Sulman EP, Thompson PM, Lukens JN, Matthay KK, Seeger RC and Brodeur GM.** Loss of heterozygosity at 1p36 independently predicts for disease progression but not decreased overall survival probability in neuroblastoma patients: a Children's Cancer Group study." *Journal of Clinical Oncology* 2000; 18(9): 1888-1899.
- [189] **Fong CT, White PS, Peterson K, Sapienza C, Cavenee WK, Kern SE, Vogelstein B, Cantor AB, Look AT and Brodeur GM.** Loss of heterozygosity for chromosomes 1 or 14 defines subsets of advanced neuroblastomas. *Cancer Research* 1992; 52(7): 1780-1785.
- [190] **Rubie H, Delattre O, Hartmann O, Combaret V, Michon J, Benard J, et al.** Loss of chromosome 1p may have a prognostic value in localised neuroblastoma: results of the French NLB 90 study. *Eur J Cancer* 1997; 33:1917-22.
- [191] **Schleiermacher G, Peter M, Michon J, et al.** Two distinct deleted regions on the short arm of chromosome 1 in neuroblastoma. *Genes Chromosomes Cancer* 1994; 10:275-81.
- [192] **Caron H, van Sluis P, van Roy N, et al.** Chromosome 1p allelic loss in neuroblastoma: prognosis, genomic imprinting and 1;17 translocations. *Prog Clin Biol Res* 1994; 385:35-42.

- [193] **Guo C, Lee JY, White PS, et al.** Deletion of 11q23 is a frequent event in the evolution of MYCN single copy, high risk neuroblastomas. *Med Pediatr Oncol* 2000; 35:544-6.
- [194] **Guo C, White PS, Weiss MJ, Hogarty MD, Thompson PM, Stram DO, Gerbin R, Matthay KK, Seeger RC, Brodeur GM and Maris JM.** Allelic deletion at 11q23 is common in MYCN single copy neuroblastomas. *Oncogene* 1999;18(35): 4948-4957.
- [195] **Attiyeh EF, London WB, Mosse YP, et al.** Chromosome 1p and 11q deletions and outcome in neuroblastoma. *N Eng J Med* 2005; 353:2243-53.
- [196] **Hoshi M, Otagiri M, Shiwaku HO, Asakawa S, Shimizu N, Kaneko Y, Ohi R, Hayashi Y, Horii A.** Detailed deletion mapping of chromosome band 14q32 in human neuroblastoma defines a 1.1-Mb region of common allelic loss. *British Journal of Cancer* 2000, 82(11): 1801-1807.
- [197] **Thompson PM, Seifried BA, Kyemba SK, Jensen SJ, Guo C, Maris JM, Brodeur GM, Stram DO, Seeger RC, Gerbing R, Matthay KK, Matisse TC, White PS.** Loss of heterozygosity for chromosome 14q in neuroblastoma. *Medical and Pediatric Oncology* 2001; 36(1): 28-31.
- [198] **Nakagawara A, Arima M, Azar CG, Scavarda NJ, Brodeur GM.** Inverse relationship between trk expression and N-myc amplification in human neuroblastoma. *Cancer Res* 1992; 52:1364-8.
- [199] **Gross N, Beck D, Beretta C, Jackson D, Perruisseau G.** CD44 expression and modulation on human neuroblastoma tumours and cell lines. *Eur J Cancer* 1995; 31A(4):471-5.

- [200] **Norris MD, Bordow SB, Marshall GM, et al.** Expression of the gene for multidrug-resistance-associated protein and outcome in patients with neuroblastoma. *N Engl J Med* 1996;334:231-8.
- [201] **Vermeulen J, De Preter K, Naranjo A, et al.** Predicting outcomes for children with neuroblastoma using a multigene-expression signature : a retrospective SIOPEN/COG/GPOH study. *Lancet Oncol* 2009;10: 663-71.

Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

- Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.
- Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.
- Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.
- Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.
- Les médecins seront mes frères.
- Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.
- Je maintiendrai le respect de la vie humaine dès la conception.
- Même sous la menace, je n'userai pas de mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.
- Je m'y engage librement et sur mon honneur.

قسم أبقراط

بسم الله الرحمان الرحيم

أقسم بالله العظيم

في هذه اللحظة التي يتم فيها قبولي عضوا في المهنة الطبية أتعهد علانية:

- < بأن أكرس حياتي لخدمة الإنسانية .
- < وأن أحترم أساتذتي وأعترف لهم بالجميل الذي يستحقونه .
- < وأن أمارس مهنتي بوانزع من ضميري وشرعي في جاعلا صحة مريض هدي في الأول .
- < وأن لا أفشي الأسرار المعهودة إلي .
- < وأن أحافظ بكل ما لدي من وسائل على الشرف والتقاليد النبيلة لمهنة الطب .
- < وأن أعتبر سائر الأطباء إخوة لي .
- < وأن أقوم بواجبي نحو مرضاي بدون أي اعتبار ديني أو وطني أو عرقي أو سياسي أو اجتماعي .
- < وأن أحافظ بكل حزم على احترام الحياة الإنسانية منذ نشأتها .
- < وأن لا أستعمل معلوماتي الطبية بطريق يضر بحقوق الإنسان مهما لاقيت من تهديد .

الخصائص الوراثية لورم العصبية

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم :

من طرف

الآنسة: فاطمة الزهراء ارهوني

المزودة في: 12 غشت 1986 بالقنيطرة

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية: ورم العصبية – التعديلات الوراثية – التوقعات.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

مشرف

أعضاء

السيد : محمد خطاب

أستاذ في طب الأطفال

السيد: عمر شقييري

أستاذ في علم الأنسجة والأجنة

السيدة: سناء السفياني

أستاذة في التشريح الدقيق

السيد: امبارك عبد الحق

أستاذ في جراحة الأطفال