

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Saad Dahleb-Blida
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de biologie et de physiologie cellulaire



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

Option : Biosignalisation Cellulaire et Moléculaire : Génétique Du Cancer

Thème

Etude Anatomoclinique
et Facteurs histopronostiques
des Mélanomes Uvéaux

Présenté par :

Si mahdi Hanane

Tabbouche Nawel

KESKAS	Maitre assistante A	Université de Blida	Présidente
MAMMERI S	Professeur	CHU Mustapha Alger	Examinatrice
HANNACHI L	Maitre de Conférences A	CHU Mustapha Alger	Promotrice

Promotion 2014 -2015

Remerciements

Nous remercions tout d'abord Allah le tout puissant qui nous a aidé et nous a donné le courage et la force de terminer Notre travail de recherche.

Nous tenons à exprimer notre profond respect à Madame Saadi L notre chef de département, et chef d'option

Nous tenons à remercier également toutes personnes ayant Contribué à la réalisation de ce mémoire

Professeur Hannachi L, d'avoir accepté de nous encadrer et De partager toutes ses connaissances.

Professeur AmirZC , chef de service d'anatomie pathologique pour nous avoir permis d'effectuer notre stage au sein de son service .

Nous adressons nos sincères remerciements à Madame Keskas S pour avoir accepté de présider le jury.

Nos sincères remerciements au Professeur MAMMERI pour avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Nos remerciements à tous les membres du laboratoire d'anatomie pathologique, du CHU Mustapha

DEDICACES

Je dédie ce mémoire à Mon chère père et

Ma Chère mère Rabi yerhamha.

A ma promotrice Pr Hannachi

A mes très chères frères Nourdine et Abd al hak,

Et mes sœurs hind, faiza, khalida

A mon cousin Abd al azize

A mes petites nièces : hiba, Anfel, Amina et Imane

A mon petit neveu Mohamed Yacine.

Et à ma chère binôme Nawel

A mes copines Fadhela, wissam, Roumaissa, Meriem, Rimel

A toute la famille Si Mahdi

Hanane

DEDICACES

*Je dédie ce mémoire à mes chers parents
Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis
pour mon éducation et ma formation.*

A ma promotrice Pr .Hannachi.L

*A mes très chers frères :Abd razak,Hamid,Djamel,Nadjib et Abd
Nour.*

A ma chère binôme Hanane

A mes très chères cousines : Nadira et Marwa.

A mes copines :

Fadila,Wissam ,Salha,Fathia ,Karima,Amel,Fatima.

A tous mes amis et ceux qui m'aiment de près ou de loin.

Ainsi qu'a toute la famille TABBOUCH.

Nawal

Liste des tableaux

tableaux	Titre	page
Tableau 1	Matériel non biologique.	13
Tableau 2	Répartition des MU selon les années.	22
Tableau 3	Répartition des MU selon le sexe.	23
Tableau 4	Répartition des MU selon l'âge.	23
Tableau 5	Répartition des MU selon la localisation.	24
Tableau 6	Répartition des MU selon la taille du nerf optique.	26
Tableau 7	Répartition des MU selon la taille de la tumeur.	27
Tableau 8	Répartition des MU selon l'extension du sclère.	28
Tableau 9	Répartition des MU selon l'envahissement du nerf optique.	29
Tableau10	Répartition des MU selon l'envahissement de la rétine.	30
Tableau11	Répartition des MU selon l'envahissement du corps ciliaire.	31
Tableau12	Répartition des MU selon l'envahissement de la chambre antérieure.	31
Tableau13	Répartition des MU selon le type cellulaire.	32
Tableau14	Répartition des MU selon le degré de pigmentation	34
Tableau15	Répartition des MU selon la vascularisation.	35
Tableau16	Répartition des MU selon la nécrose	36

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Représentation schématique de l'anatomie du globe oculaire.	1
Figure 2	Fond d'œil d'un mélanome nodulaire de la choroïde de taille moyenne	3
Figure 3	Fond d'œil d'un mélanome de la choroïde de petite taille avec dépôts de pigment orange	3
Figure 4	Invasion du segment antérieur par un mélanome de L'uvéa postérieure	4
Figure 5	Vaisseaux sentinelles en regard d'un mélanome envahissant le corps ciliaire	4
Figure 6	Mélanome de la choroïde de type fusiforme	4
Figure 7	Mélanome de la choroïde de type épithélioïde.	4
Figure 8	Mélanome de la choroïde de type mixte. Tumeur composée de cellules fusiformes et de cellules épithélioïdes de grande taille	5
Figure 9	Caryotype d'un patient atteint d'un MU classe II.	6
Figure 10	Représentation schématique de la localisation cytogénétique du gène <i>GNAQ</i>	6
Figure 11	Représentation schématique des mutations R183 et Q209 dans les tumeurs mélanocytaires.	7
Figure 12	Représentation schématique de la localisation du gène <i>GNA11</i> .	7
Figure 13	Représentation schématique de la structure de la protéine BAP1	8
Figure 14	Représentation schématique de la localisation du gène <i>SF3B1</i> .	9
Figure 15	Représentation schématique de la localisation du gène <i>EIF1AX</i> .	9
Figure 16	Représentation schématique de la voie MAPK.	10
Figure 17	Représentation schématique de la voie Hippo- YAP.	11
Figure 18	Globe oculaire.	14
Figure 19	Circulateur automatique (LEICA TP 10 20).	15
Figure 20	Appareil d'inclusion.	16
Figure 21	Microtome : confection des rubans fins	17
Figure 22	Etalements des lames.	17
Figure 23	Les différents bains de coloration HE.	18

Figure 24	Montage des lames après coloration	19
Figure 25	Introduction d'anti corps primaire.	21
Figure 26	Introduction d'anticorps secondaire.	21
Figure 27	Révélation par la DAB.	21
Figure 28	Répartition des MU selon les années	22
Figure 29	Répartition des MU selon le sexe.	23
Figure 30	Répartition des MU selon l'âge.	24
Figure31	Répartition des MU selon la localisation.	24
Figure32	Fond d'œil révélant un mélanome choroïdien avec envahissement du vitré.	25
Figure 33	Aspect macroscopique du globe oculaire. Présence d'un Mélanome choroïdien.	26
Figure 34	Répartition des MU selon la taille du nerf optique.	27
Figure35	Répartition des MU selon la taille de la tumeur.	27
Figure36	Répartition des MU selon l'extension du sclère.	28
Figure37	coupe histologique d'un MU : envahissement scléral.	29
Figure38	Répartition des MU selon l'envahissement du nerf optique.	29
Figure39	Mélanome choroïdien avec un nerf optique sain.	30
Figure40	Répartition des MU selon l'envahissement de la rétine.	30
Figure41	Répartition des MU selon l'envahissement du corps ciliaire.	31
Figure42	Répartition des MU selon l'envahissement de la chambre antérieure.	32
Figure 43	Répartition des MU selon le type cellulaire.	32
Figure 44	coupe histologique d'un MU fusiforme.	33
Figure 45	coupe histologique d'un MU épithéloïde.	33
Figure 46	coupe histologique d'un MU mixte.	34
Figure 47	Répartition des MU selon le degré de pigmentation.	34
Figure 48	Répartition des MU selon la vascularisation.	35

Figure 49	Répartition des MU selon la nécrose.	35
Figure 50	Répartition des MU selon la nécrose.	36
Figure 51	Coupe histologique d'un Mélanome de choroïde : Immunomarquage par Ki 67.	37
Figure 52	Coupe histologique d'un Mélanome de choroïde : Immunomarquage par PS100.	37
Figure 53	Coupe histologique d'un Mélanome de choroïde : Immunomarquage par Melan A.	38
Figure 54	Coupe histologique d'un Mélanome de choroïde après Immunomarquage par HMB 45.	38
Figure 55	Fond d'œil d'un mélanome choroïdien en bouton de chemise.	39
Figure 56	Aspect d'IRM orbitaire d'un mélanome choroïdien gauche.	39
Figure 57	Aspect macroscopique du globe oculaire de la patiente	40
Figure 58	volumineux mélanome noirâtre	40
Figure 59	coupe histologique d'un mélanome épithéloïde	40

Liste des Abréviation

AC: Anticorps

AC I: Anticorps Primaire.

ACII: Anticorps Secondaire

ADN : Acide Désoxyribonucléique

Ag : Antigène.

AJCC: American Joint Committee on Cancer

ARN : Acide ribonucléique.

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

BAP1: BRCA1 associated protein-1 (ubiquitine hydrolase carboxy-terminale)

BARD1: BRCA1 associated Ring Domain 1

Braf: v-raf musine sarcoma viral oncogene

BRCA1: Breast Cancer 1

CD: Cycline D

CDK: cyclin Dependent Kinase

CDK4: cyclin Dependent Kinase 4

CDKN2A: inhibiteur cyclin –Dependent 2A Kinase

C-Kit : récepteur du facteur des cellules souches

DAG: Diacylglycérol

EIF1AX: Eukaryotic Translation Initiation Factor 1A X -Chromosomal.

ERK: Extracellular Signal- Regulated Kinase

G α : la sous unité α de la protéine G

G $\beta\gamma$: les deux sous unité $\beta\gamma$ de la protéine G

GDP: Guanosine diphosphate

GNA11: Guanine Nucleotide Binding protein G, 11 Polypeptide.

GNAQ: Guanine Nucleotide-Binding protein G, q Polypeptide.

GO: Globe oculaire

GPCR: Récepteur couplé au protéine G.

GTP: Guanosine triphosphate.

HE: Hématoxyline éosine

HMB 45: Human melanoma black 45

INK4A : inhibiteur de la kinase cycline –dependante 4 ; également connu sous le nom p16INK4A

IHC: immunohistochimie

IP3: Inositol-Trisphosphate

M: Mitose

MAPK: Mitogen –Activated Protein Kinase.

MEK: MAPK-/ ERK KINASE

MU: Mélanome Uvéal

NO: Nerf optique

NRAS: Neuroblastoma Ras

PBs: Phosphate Buffered saline.

PIP2: phosphatidylinositol - 4, 5 - biphosphate

Pk : Protein Kinase

PLC β : phospholipase c

Ps 100: Proteine s 100

PKC: Protein Kinase C

Raf: Rapidly Accelerated Fibrosarcoma.

RB: Retinoblastoma

S: synthèse

SF3B1: Splicing Factor 3 B Subunit 1

TNM: Tumeur, nodule, métastase

UV: ultraviolet.

Résumé

L'objectif de notre travail est d'étudier les aspects cliniques, anatomopathologiques, et moléculaires du mélanome uvéal ; à travers une étude rétrospective qui s'est déroulée de janvier 2005 au décembre 2014 et une étude prospective de 1^{er} janvier 2015 au 31 Mai 2015 sur 40 globes oculaires colligés au laboratoire d'anatomo-pathologie du centre hospitalo-universitaire, Mustapha Bacha (Alger). L'âge des patients est varié entre 36 ans et 85 ans ; en moyenne de 58 ans, avec une égalité entre femme et homme. La localisation choroïdienne était la plus présentée avec 93% des cas. Des marqueurs des anomalies moléculaires et génomiques ont été utilisés afin de réaliser des marquages immunohistochimiques à savoir : le melan A, le pS100, HMB 45, Ki67.

Nos résultats sur le plan anatomo-pathologique montrent que la sclère est touchée chez 55%, le nerf optique est atteint chez 10% des cas, la rétine 35%, le corps ciliaire 20% est atteint alors que la chambre antérieure est touchée dans 5%. Les mélanomes à cellules mixtes sont les plus fréquentes (40%), (37%) cas à cellule fusiforme et (23%) cas épithéloïde.

La technique d'immunohistochimie a été réalisée chez deux patients seulement (à cause de l'absence de matériel) dont nous avons trouvé tous les marqueurs Ki 67 (marqueur de prolifération), PS100 (marqueur de différenciation), Melan A, HMB45 sont positives.

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

Mots clés : Mélanome uvéal, facteur, Ki67, p53, HMB45, pS100, immunohistochimie.

Abstract

The objective of our work is to study the morphological and molecular aspects of uveal melanoma; through retrospective study which ran from January 2005 to December 2014, and prospective study took place from January the 1st 2015 to the 31st of May 2015 of 40 ocular globes collected in the laboratory of pathology university hospital center Mustapha bacha (Algiers)

The patients' age ranged from 36 years to 85 years, an average 58 years. With equality between women and men. The choroid location was the most presented with 93% of cases.

Variable molecular markers and genomic anomalies were used to perform immunohistochemical markers namely, Melan A, pS100, HMB 45, Ki67

Our results concerning the histological plan show that the sclera is affected in 55%; the optic nerve is reached in 10% of cases, 35% of the retina, ciliary body 20% is reached when the anterior chamber is reached in 5%.

Mixed cells Melanomas are the most frequent (40%), (37%) fusiform cells cases and (23%) epithelioid cases.

The immunohistochemical technique was performed in only two patients (because of the absence of material) we found all markers Ki 67 (proliferation marker), PS100 (marker of differentiation), Melan A, HMB45 are positive.

This study should be continued and expanded on a large number of cases of patients in order to validate statistically.

Keywords: uveal melanoma, factor Ki67, p53, HMB45, PS100, immunohistochemistry.

الهدف من عملنا هو دراسة الجوانب الشكلية و الجزئية من ميلانوم ايفيال من خلال دراسة استعادية ام
ديسمبر 2014 1 2015 2015 و التي اجريت على 40 من كرات العين جمعت في مختبر علم
2005

36 85 58 سنة مع تساوي بين النساء و الرج

كانت المشيمية الاكثر تقدما 93

و قد استخدمت واسمات جزئية متغيرة لتحقيق علما هيسوكيميائية مناعية و هي

Melan A PS100 HMB 45 Ki67

نتائجنا تظهر على المستوى النسيجي أن الصلبة تتأثر في 55%، يتم الوصول إلى العصب البصري في 10
الجسم الهدي يتم التوصل إليه في 20 . الغرفة الأمامية تم لمسها في 5 . العين ذو الخلايا مختلطة ه الاكثر شيوعا (40)، (37)
من الخلايا المغزلية , (23) من الحالات شبيهه الظهارة..

تم تنفيذ تقنية مناعية في اثنين فقط من المرضى () Ki67 () PS100 (علامة التمايز)

HMB45 Melan A إيجابية.

ينبغي أن تستمر هذه الدراسة ها عدد كبير من الحالات من المرضى من أجل التحقق من صحة إحصائيا.

المفتاحية : العين Melan A Ki67 HMB45 PS100 المناعية..

SOMMAIRE

-Introduction

Chapitre I : Données bibliographiques

I-1-Anatomie de l'œil.....	1
I-2-Mélanome uvéal.....	2
I-3- Embryologie.....	2
I-4- Mélanomagénèse.....	2
I-5- Epidémiologie.....	2
I-6- Aspect clinique.....	2
I-7- Aspect histologique.....	4
I-8-Aspect génétique et moléculaire.....	5
I-8- 1 - Facteurs de risque génétiques	5
I-8- 2 - Classes des mélanomes uvéaux.....	6
I-8- 3 – Carcinogénèse.....	6
I-8- 4 - Les voies de signalisation.....	9
I-9- Traitements.....	12

Chapitre II : Matériel et Méthodes.....13

II- 1- Matériel.....	13
II-1-1- Population d'étude.....	13
II-1-2- Matériel non biologique.....	13
II-2- Méthodes	14
II-2-1-Etude anatomopathologique.....	14
II-2- 2-Etude histologique.....	14
II-2-3-Etude immunohistochimique.....	19

Chapitre III : Résultats.....22

III-1- Paramètres Epidémiologique.....	22
III-2- Paramètres Clinique.....	25

III-3-Paramètres Anatomopathologique.....	26
III-4-Paramètres Immunohistochimique.....	36
Chapitre IV : Discussion.....	40

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes



Introduction



INTRODUCTION

L'œil est l'un des cinq sens du corps humain, c'est l'organe de la vue, la vision est donc la perception. L'organe récepteur de la lumière sa fonction est de transformer l'information lumineuse en influx nerveux transmis au cerveau. (**Gerhard K, 2002**).

Mais parfois des changements rendent leur mode de croissance ou leur comportement anormal.

Entraînent la formation des tumeurs non cancéreuses ou bénignes d'autre peuvent devenir cancéreuses, la plus fréquente est celle qui se développe dans le globe oculaire et le tissu voisin.

Ça prend le plus souvent naissance dans les mélanocytes située dans les couches profondes de l'uvée (constituées par l'iris en avant puis le corps ciliaire et la choroïde) ces cellules produisent des granules pigmentés, riches en mélanine, les mélanosomes qui contribuent à la constitution de la chambre noire de l'œil et le protège contre les agressions du soleil (**Desjardins L, 2007**).

L'apparition d'un cancer au niveau de l'uvée est lié a une prolifération anarchique incontrôlée des cellules mélanocytaires, d'où l'appellation du « **Mélanome uvéal** ».

Le MU représente la tumeur intraoculaire maligne la plus fréquente dans la population adulte, se développe à l'intérieur du globe oculaire et n'est donc pas visible extérieurement, le plus souvent diagnostiqués tardivement durant un examen ophtalmologique de routine (**Solange L, 2007**), mais parfois des symptômes visuels dus au décollement partiel de la rétine, tels que des troubles de la vue comme une perte d'acuité visuelle, la présence d'une tâche dans le champ de vision ou des flashes de lumière. (**Desjardins L, 2007**).

La préoccupation majeure des médecins qui prennent en charge des patients atteints de MU est de préserver leur vue. C'est pourquoi sont privilégiés des traitements dits conservateurs, basés sur la chirurgie et sur deux techniques de radiothérapie : la protonthérapie et la curiethérapie. Mais si la tumeur est trop volumineuse, une ablation chirurgicale de l'œil (énucléation) peut se révéler nécessaire. (**Desjardins L, 2009**).

Le MU soutient une douzaine de projets de recherche qui explorent de nombreuses voies pour : prédire quels patients sont susceptibles de développer des métastases et ceux qui ont moins de risque, avant qu'elles n'apparaissent : les profils génétiques individuels permettant de le savoir commencent à être connus, mais demandent à être affinés. (**Desjardins L, 2007**).

La carcinogénèse et la transformation maligne des mélanocytes uvéaux qui a lieu lors du développement des MU sont due au dérèglement de l'expression des gènes impliqués dans la prolifération, la survie et la mort cellulaire, la compréhension de ces mécanismes cellulaire et moléculaire permet d'envisager de nouvelles cibles thérapeutiques.

Récemment Van Raamsdonk et ces collègues ont démontré que les mutations GNAQ/11 qui codent pour la sous unité α du récepteur couplé à la protéine G, se produisent au début de la tumorigenèse des MU. (Herlyn & Nathanson, 2010; Van Raamsdonk et al., 2009; Van Raamsdonk et al., 2010)

L'objectif de notre travail est l'étude morphologique et moléculaire du MU (apprendre à couper un globe oculaire tumoral, maîtriser les différentes étapes techniques : déshydratation, coupe au microtome, la coloration HE, apprendre la technique d'immunohistochimie et l'appliquer au MU et rechercher les facteurs histologiques de cette tumeur (infiltration du nerf optique, de la sclère), à travers une double étude, rétrospective entre (2005-2014) et prospective 2015.

La première partie représente un rappel bibliographique sur les MU aspect clinique histologique et même génétique.

La deuxième partie sera consacrée au matériel et méthodes utilisées pendant notre travail.

La troisième partie représente les résultats. Ces derniers seront discutés par comparaison aux données de la littérature. Puis nous terminerons par une conclusion générale.

Chapitre I : Données Bibliographiques

I-1 - Anatomie de l'œil

L'œil est un organe sensoriel du corps humain qui reçoit 80% des informations extérieures, il est composé de différents éléments, dont :

La cornée : c'est le prolongement plus bombé de la sclérotique, elle est transparente et très innervée donc très sensible. (Chiesa C, 2005)

La sclère : la plus externe des tuniques du globe oculaire, fibreuse et inextensible, assurant la protection. (Chiesa C, 2005)

La conjonctive : c'est une muqueuse tapissant la face postérieure des paupières. (John S, 2003)

L'iris : un diaphragme circulaire se réglant automatiquement suivant la quantité de lumière reçue. (Couf A, 2013)

Le corps ciliaire : Partie intermédiaire de l'uvée, sous forme d'un anneau saillant à l'intérieur de l'œil. Il joue un rôle fondamental dans l'accommodation et la sécrétion de l'humeur aqueuse. (Gerhard K, 2002)

La choroïde : couche pleine de pigments qui constitue une chambre noire ; elle est très vascularisée.

La rétine : c'est une membrane nerveuse hypersensible qui tapisse le fond de l'œil. (Gerhard K, 2002)

Le nerf optique : nerf qui transmet les informations venant de la rétine au cerveau.

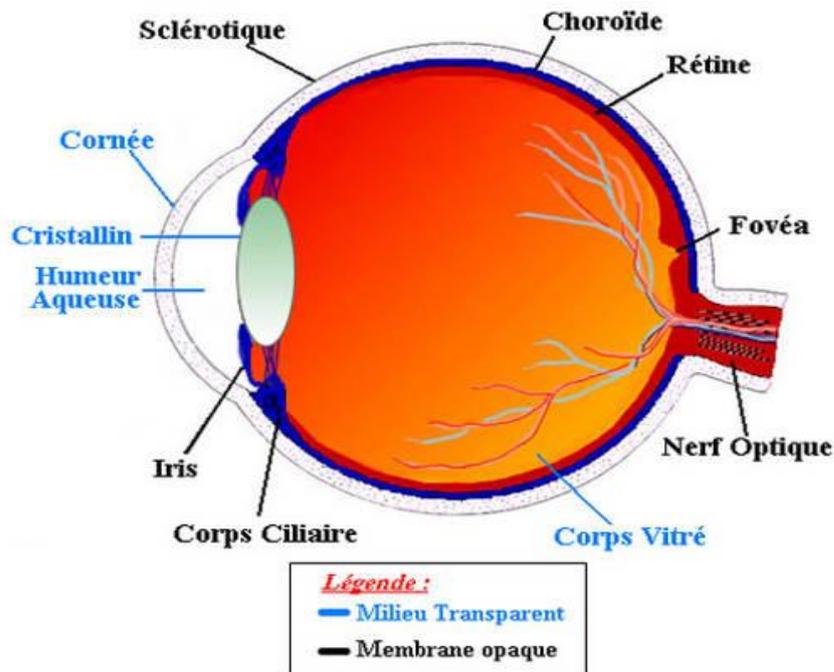


Figure 1 : Représentation schématique de l'anatomie du globe oculaire.

(Desjardins L, 2007)

Chapitre I : Données Bibliographiques

I-2-Mélanome uvéal

C'est la tumeur intraoculaire la plus fréquente de l'adulte, elle se développe à l'intérieur de l'œil au niveau de l'uvée, 80 % des MU sont localisés au niveau de la choroïde. **(Dendale R, 2006)**

I-3-Embryologie

Les mélanocytes uvéaux provenant de la crête neurale, les mélanomes issus de ces cellules ou de leurs précurseurs, sont donc d'origine ectodermique. **(Zografos L, 2002).**

I-4- Mélanomagénèse

Un certain pourcentage des MU provient probablement d'une transformation maligne de naevi préexistant, mais la majorité d'entre eux se forment de novo. Les mélanocytoses oculaire correspond à une augmentation du nombre de mélanocytes, aux caractéristiques histopathologiques similaires à celles des cellules néviques, dans toutes les tuniques oculaires : sclérotique, épisclère, iris, corps ciliaire, choroïde et parfois papille. **(Zografos L, 2002)**

I-5-Epidémiologie

Les MU sont des tumeurs rares, voire exceptionnelles, dans les populations fortement pigmentées, africaines et asiatiques.

Leur incidence dans la population caucasienne est estimée à près de 0,7 cas par 100 000 habitants par année. Cette pathologie concerne aussi bien les femmes que les hommes et surviennent en générale entre 50 et 70 ans.

Les personnes aux yeux clairs ont deux fois plus risque d'être touchées.

La cause des MU n'est pas claire, mais il existe un faisceau d'indices convergents en faveur du rôle des rayons ultraviolets (UV) dans la genèse de ces tumeurs. Enfin, la transmission génétique des MU, tout en étant possible, ne constitue pas un facteur de risque étiopathogénique majeur. **(Zografos L, 2002)**

I-6-Aspect Clinique

Il dépend principalement de la taille, de la localisation, du degré de pigmentation de la tumeur, de l'intégrité de la lame de Bruch et de l'importance du décollement secondaire exsudatif.

Chapitre I : Données Bibliographiques

-Ophtalmoscopie

-Les mélanomes sont le plus souvent diffusément pigmentés et ont une coloration brun verdâtre. Ils peuvent toutefois n'être que partiellement pigmentés et, plus rarement, être entièrement apigmentés. Ils doivent dans ce cas être distingués des tumeurs métastatiques. (Zografos L, 2002).

-Les tumeurs de petite et moyenne taille, dont l'extension est contenue par une lame de Bruch intacte, ont une forme en dôme (Figure 2).

-Les petits mélanomes localisés au pôle postérieur présentent souvent, en surface, une quantité variable de dépôts de pigment orange (Figure 3). (Zografos L, 2002)

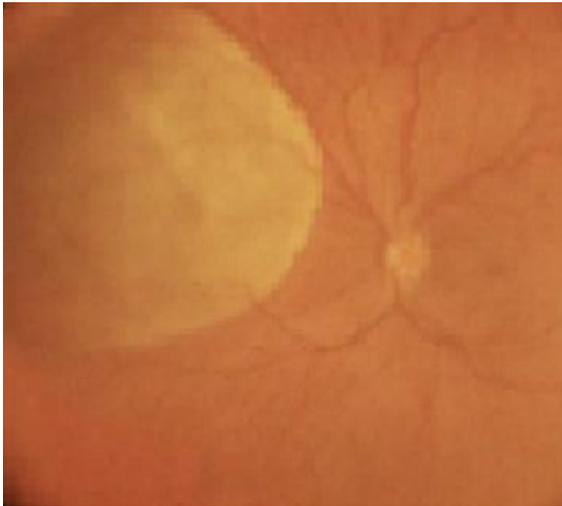


Figure 2 : Fond d'œil d'un mélanome nodulaire de la choroïde de taille moyenne (Zografos L, 2002)

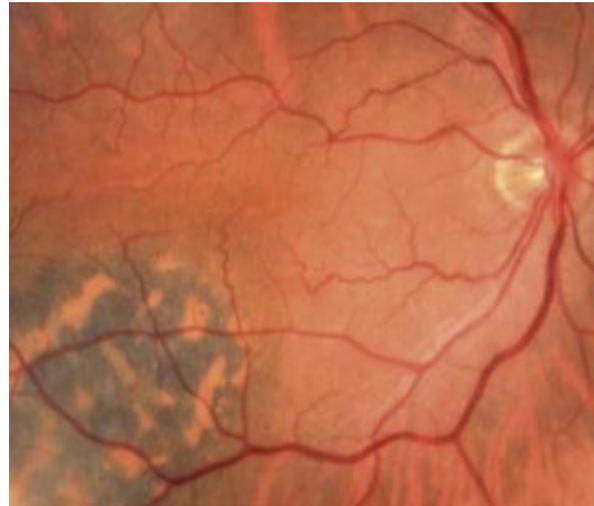


Figure 3 : Fond d'œil d'un mélanome de la choroïde de petite taille avec dépôts de pigment orange.

- Les MU qui s'étendent en direction du segment antérieur peuvent envahir le corps ciliaire et désinsérer la racine de l'iris (Figure 4). Ce type de tumeur suscite souvent la formation de vaisseaux sentinelles (Figure 5) (Zografos L, 2002)

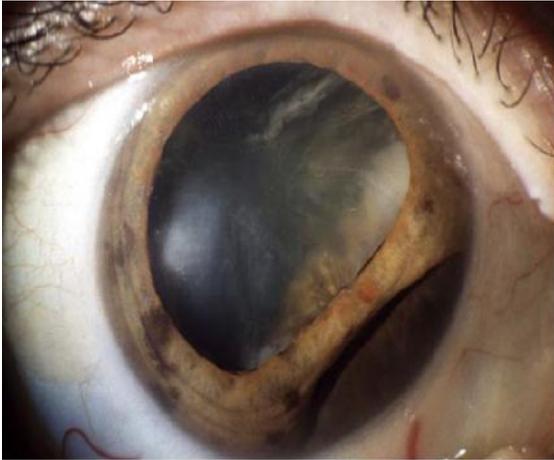


Figure 4 : Invasion du segment antérieur par un mélanome de l'uvée postérieure. (Zografos L, 2002)



Figure 5 : Vaisseaux sentinelles en regard d'un mélanome envahissant le corps ciliaire (Zografos L, 2002)

I-7- Aspect Histologique

La classification histopathologique des MU utilisée est celle de McLean, Foster, Zimmerman et Gamel. (McLean IW et al., 1983). Elle est issue de la classification de Callender-Wilder, (Callender GR, 1931) (Callender GR, 1935). Et établit le degré de malignité de la tumeur et son pronostic vital ; elle distingue :

- les mélanomes fusiformes : tumeurs composées exclusivement de cellules fusiformes. (Figure 6)
- les mélanomes épithélioïdes : tumeurs composées exclusivement de cellules épithélioïdes (Figure 7).

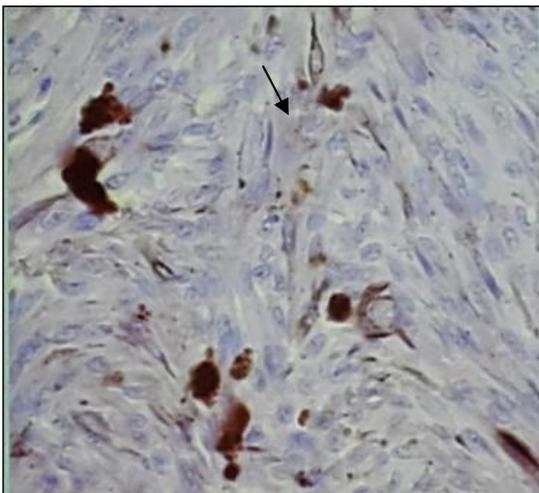


Figure 6 : Mélanome de la choroïde de type fusiforme. (Marc-Henri, 2014)

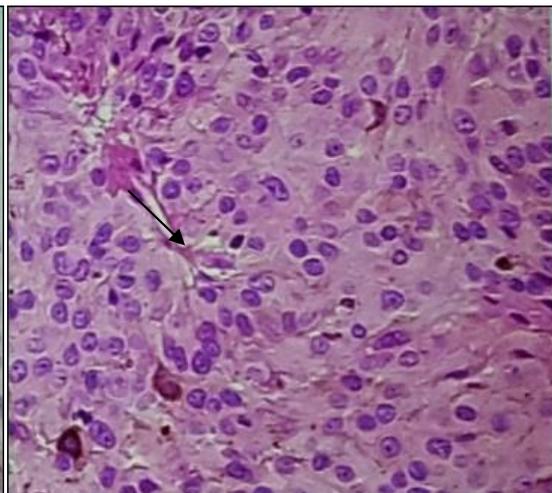


Figure 7 : Mélanome de la choroïde de type épithélioïde. (Marc-Henri, 2014)

Chapitre I : Données Bibliographiques

-les **mélanomes mixtes**: tumeurs composées d'un mélange de cellules fusiformes et épithélioïdes.

(Figure 8)

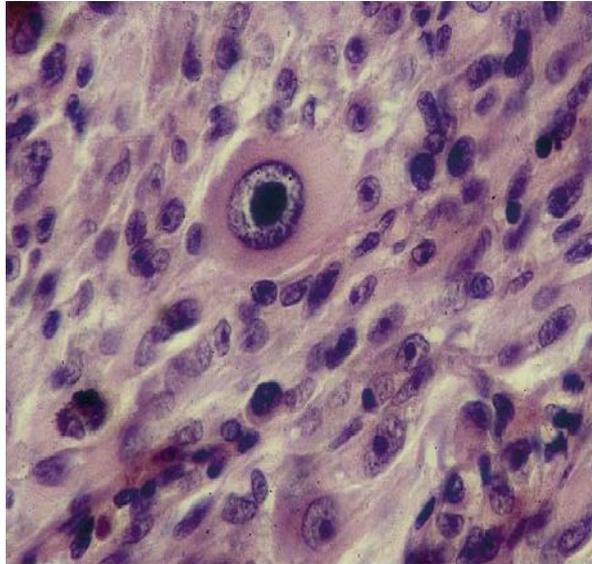


Figure 8 : Mélanome de la choroïde de type mixte. Tumeur composée de cellules fusiformes et de cellules épithélioïdes de grande taille (HE : x 100). (Zografos L, 2002)

I-8-Aspect génétique et moléculaire

I-8-1-Facteurs de risques génétiques

-Prédisposition familiale

- Les résultats des analyses moléculaires de la contribution des mutations germinales de *CDKN2A / P16 (INK4A)*, *P14 (ARF)*, *CDK4* ont été effectués pour des patients ayant une prédisposition génétique de MU, indiquent que ces gènes ne sont pas responsables de la grande majorité de la susceptibilité génétique au MU. (Buecher B *et al.*, 2010)
- Récemment ils ont découvert que des mutations germinales au niveau du gène *BAP1 (BRCA1 associated protein-1)* associé à des MU familial. (Marc-Henri, 2014)

-Prédispositions sporadiques

D'autres gènes de susceptibilité ont été identifiés, dont les mutations confèrent un risque plus faible qui constituent des gènes de prédisposition dans des formes sporadiques lorsqu'ils sont associés entre eux et/ou à des facteurs environnementaux. (Christine L, 2012)

Chapitre I : Données Bibliographiques

I-8-2- Classes des mélanomes uvéaux

-Les **MU classe I** : présentent un faible risque de métastases.

-Les **MU classe II** : sont très métastatiques et sont caractérisés par monosomie du chromosome 3 et gain de 8q. (Marc-Henri, 2014)

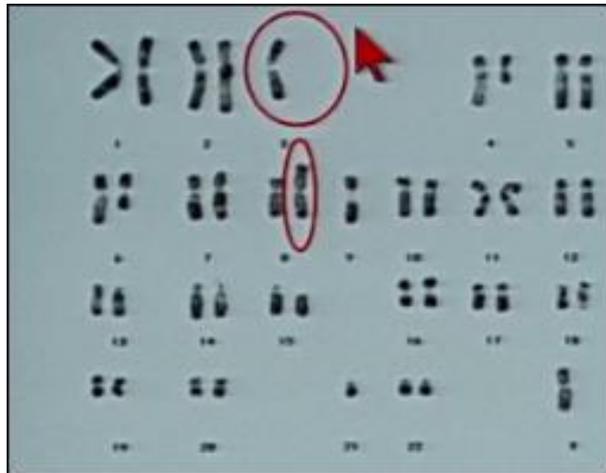


Figure 9: Caryotype d'un patient atteint d'un MU classe II.

(Marc-Henri, 2014)

I-8-3-Carcinogénèse

Une série de changements moléculaires se produit dans les MU agressifs et métastatiques, (Ryu B et al., 2007). Ces changements moléculaires sont caractérisés par :

1-Des gènes conférant un risque élevé du mélanome uvéal

1-1-GNAQ: *Guanine Nucléotide-Binding protein G, q polypeptide*

Ce gène code pour des sous-unités α de récepteur couplé à la protéine G. (Swapna V et al., 2011)

-Localisation cytogénétique : 9q21.2 (Swapna V et al., 2011)

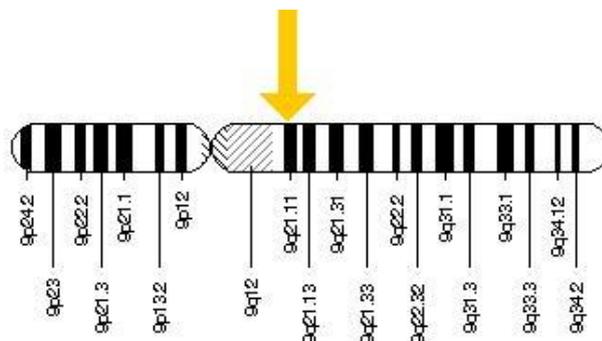


Figure 10: Représentation schématique de la localisation cytogénétique du gène *GNAQ*.

(Swapna V et al., 2011)

Chapitre I : Données Bibliographiques

- **Mutation Somatique :** Mutations somatiques dans *GNAQ* ont été décrites dans la néoplasie mélanocytaires. Dans MU, Les mutations Q209 et R183 entraînent une perte partielle ou complète de l'activité de GTPase intrinsèque respectivement, verrouillant ainsi la protéine dans une forme constitutivement active. Des mutations dans *GNAQ* sont également mutuellement exclusives des mutations hotspot dans *GNA11*, qui appartient à la même famille et part 90% d'homologie de séquence. Les mutations de *GNAQ* ne sont pas concomitante avec d'autres mutations oncogéniques communs dans *BRAF*, *NRAS* ou *C KIT*. (Swapna V et al., 2011)

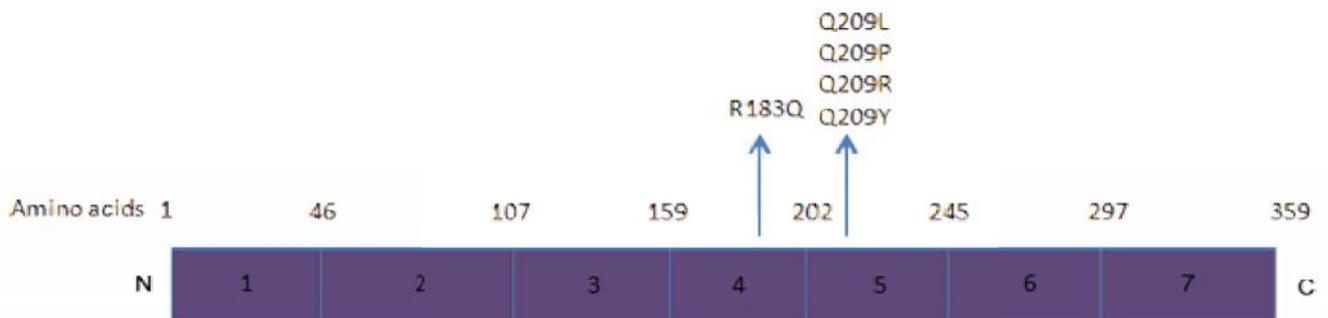


Figure 11 : Représentation schématique des mutations R183 et Q209 dans les tumeurs mélanocytaires.

Les boîtes pourpres représentent les exons avec les numéros d'exon indiqués à l'intérieur des boîtes, les numéros d'acides aminés indiqués sur le dessus. Les flèches représentent les deux mutations de point d'accès en même temps que le changement d'acide aminé. N et C représentent les extrémités amino et carboxy-terminale de la protéine GNAQ.

(Swapna V et al., 2011)

1-2- *GNA11*: Guanine Nucléotide Binding protein G, 11 polypeptide

Le gène *GNA11* fournit des instructions pour la fabrication d'un composant, la sous-unité alpha (α), d'un complexe de protéine appelée protéine de liaison nucléotidique de la guanine (protéine G) appelé $G_{\alpha 11}$. (Griewank KG et al., 2011)

-Localisation cytogénétique : 19p13.3

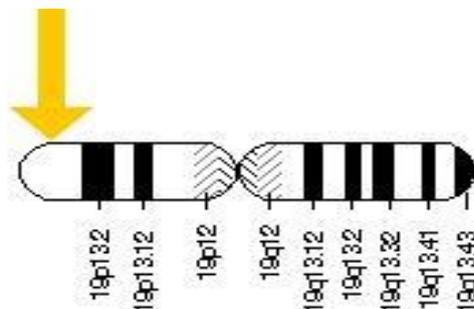


Figure 12 : Représentation schématique de la localisation du gène *GNA11*.

(Griewank KG et al., 2011)

Chapitre I : Données Bibliographiques

-Mutation somatique : Les mutations somatiques dans le gène *GNA11* ont été trouvées dans les MU, qui sont des mutations activatrices, ce qui conduit à la production d'une suractivité de la protéine $G\alpha_{11}$ qui stimule la prolifération incontrôlée des cellules productrices de pigments (mélanocytes) dans l'uvée. (Griewank KG et al., 2011)

1-3-BAP1 : *BRCA1 associated protein-1 (ubiquitine hydrolase carboxy-terminale)*

-Structure de BAP1 : BAP1 est une protéine de 729 aa. UCH, hydrolase ubiquitine C-terminal; HBM, motif de HCF-liaison (séquence NHNY); NLS, signal de localisation nucléaire.

(Frédéric et Francine, 2009)

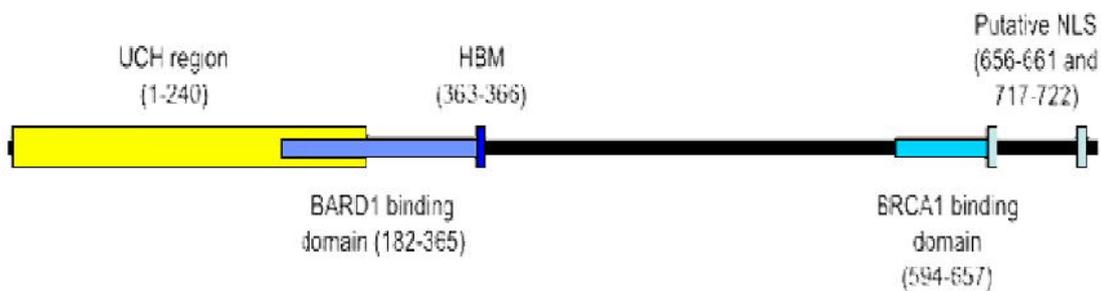


Figure 13 : Représentation schématique de la structure de la protéine BAP1.

-Expression : BAP1 est exprimée dans une variété de tissus adultes humains. *BAP1* (BRCA1 associated protein-1) qui est un gène suppresseur de tumeur.

-Localisation cytogénétique : 3p12 (Frédéric et Francine, 2009)

-Fonction : BAP 1 intervient dans les cas des dommages d'ADN provoquant le retard de la phase S en inhibant l'activité ubiquitaire du complexe BRCA1 / BARD1, dont ce dernier possède une activité ubiquitine ligase E3 double, capable de dégrader les protéines impliqués dans la réparation de l'ADN. (Frédéric et Francine, 2009)

-Mutation : des mutations somatique et même germinale de *BAP 1* sont fortement associées dans les cas des MU assurant la perte de fonction du BAP1, favorisant la pronostication des MU. (Marc-Henri, 2014)

2-Des gènes conférant un risque faible du mélanome uvéal

2-1-SF3B1: *Splicing Factor 3 B Subunit 1*

Ce gène code pour une sous-unité du complexe protéique 3b facteur d'épissage.

-Localisation cytogénétique : 2q33.1 (Dessen P, 2002)

Chapitre I : Données Bibliographiques

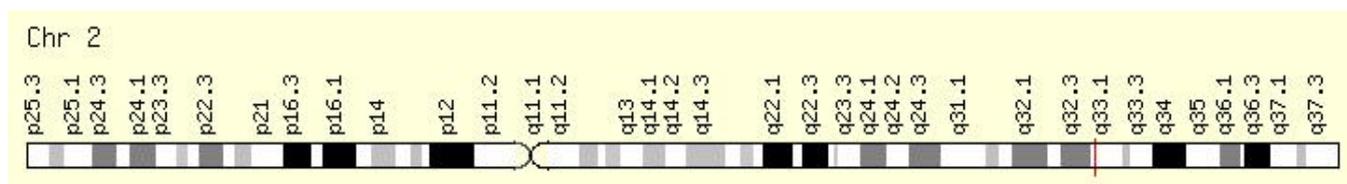


Figure 14: Représentation schématique de la localisation du gène *SF3B1*.

-Fonction : impliquée dans l'épissage de pré ARN – m (Dessen P, 2002)

-Mutation : Des mutations somatiques au niveau du codon 625 associé aux MU avec un risque bas. (Marc-Henri, 2014)

2-2-EIF1AX: Eukaryotic translation initiation factor 1a x -chromosomal.

Ce gène code pour un facteur eucaryote d'initiation de la traduction. La protéine est nécessaire pour la liaison des complexes 43S à l'extrémité 5 'de l'ARN coiffé. (Martin M et al., 2013)

- Localisation cytogénétique : Xp22.12 .

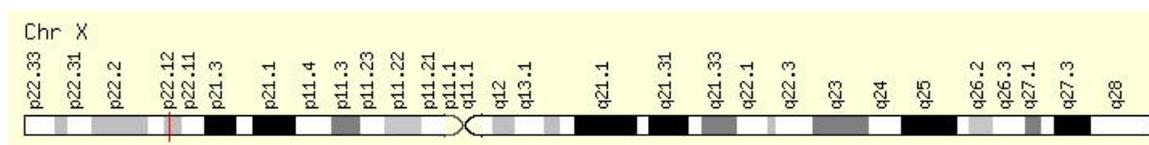


Figure 15 : Représentation schématique de la localisation du gène *EIF1AX*. (Martin M et al., 2013)

- Mutation cytogénétique : Des mutations dans ce gène ont été vu récurrentes associée à des cas de MU avec disomie 3. (Martin M et al., 2013) mais avec un risque bas.

I-8- 4-Les voies de signalisation

Les mutations *GNAQ* /*GNA11* activent deux voies , la voie MAPK(Van Raamsdonk et al., 2010) ,et la voie Hippo YAP(Yu et al., 2014)

1-La voie de MAPK (Mitogen Activeted Protein kinase)

La voie MAPK régule de façon physiologique la croissance, la survie et la migration cellulaire par transduction de signaux membranaires jusqu'au noyau, via la phosphorylation d'effecteurs. L'activation pathologique de cette voie est un événement fréquent dans les mélanomes par des mutations oncogénique des gènes *BRAF*, *NRAS* (Christine L, 2012). Mais ces mutations sont moins fréquentes dans le cas des MU. (Marc-Henri, 2014)

Récemment Van Raamsdonk et ces collègues ont démontré que 80 % des MU associé à des mutations activatrices aux niveaux des deux gènes *GNAQ*, *GNA11* ((Herlyn & Nathanson, 2010; Van Raamsdonk et al., 2009; Van Raamsdonk et al., 2010). Ces gènes appartiennent à une sous-famille

Chapitre I : Données Bibliographiques

des gènes codant pour la sous-unité α de protéine G- impliqué dans la signalisation cellulaire MAPK. Des mutations *GNAQ* / *GNAI1* ont été trouvées dans des cas de MU dont 46% et 35% respectivement. Ces deux gènes ont montré pour être mutuellement exclusifs et qu'ils ont par leur conversion oncogénique suggéré d'être la cause de la voie de MAP-kinase. Ceci à son tour conduit à la prolifération des cellules même en l'absence de stimuli extracellulaires. Ces mutations sont donc pensées à se produire au début de la tumorigenèse, qui est souligné par le fait qu'ils ne sont pas corrélés avec l'une des classes moléculaire ou d'une métastase en général. (Bauer et al., 2009; Onken et al., 2008).

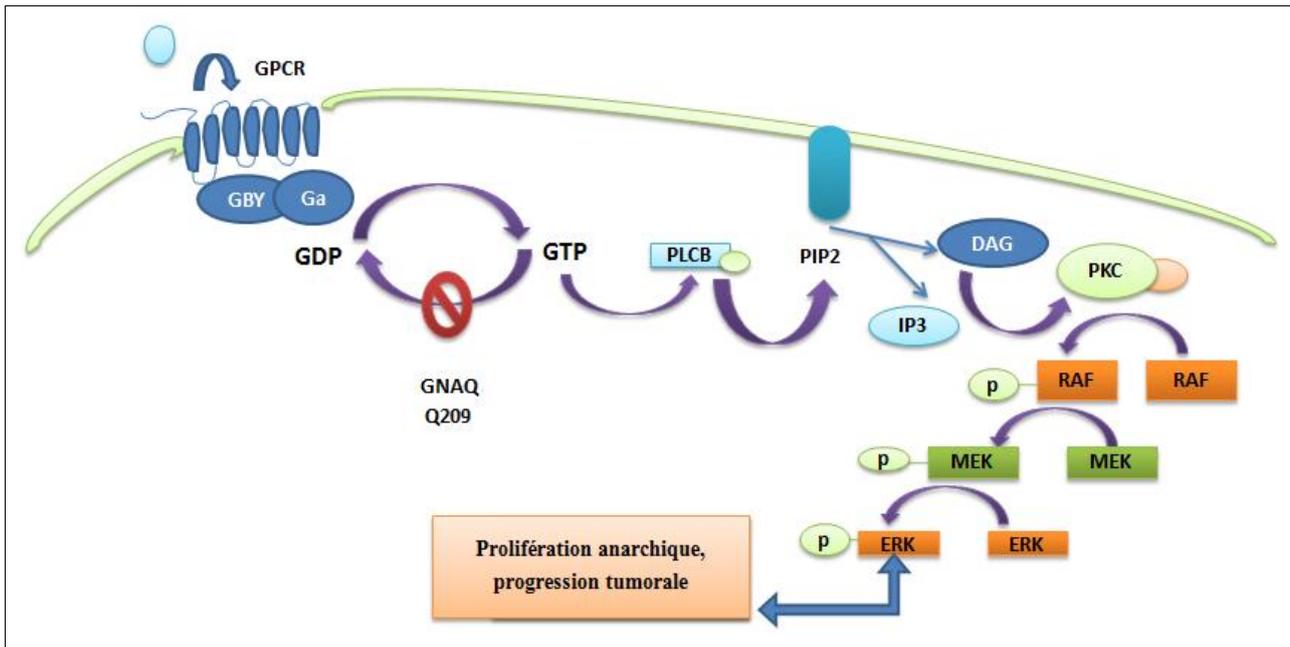


Figure 16 : Représentation schématique de la voie MAPK.

2-La voie Hippo- YAP

La voie de suppresseur de tumeur Hippo, contrôle la croissance des tissus, la prolifération cellulaire et l'apoptose (Harvey et al., 2013), par des effecteurs clés comprennent les oncoprotéines homologues YAP et TAZ, qui favorisent la croissance des tissus en régulant l'activité des facteurs de transcription tels que Teads.

Dans la plupart des cellules proliférantes, YAP est localisée dans le noyau sous sa forme active. La voie de signalisation Hippo conduit à la phosphorylation de YAP par les kinases de sérine / thréonine-protéine LATS1 / 2, conduisant à l'inactivation YAP et la rétention dans le cytoplasme et à la dégradation par le protéasome.

Chapitre I : Données Bibliographiques

Des mutations activatrices somatiques dans GNAQ ou GNA11 qui associés au MU promouvoir la tumorigenèse en activant YAP (Zhao L *et al.*, 2014), déclencher la déphosphorylation et la localisation nucléaire de YAP.

L'activation de YAP par mutations GNAQ/11 est médiée uniquement par inhibition de LATS1 / 2 et nécessite le facteur guanine nucléotidique de change, Trio, et en aval petites GTPases Rac1 et RhoA. L'activation de RhoA et Rac1 induit la polymérisation de l'actine de G-actine de F-actine, entraînant la dissociation de la protéine angiomotine cytosquelettique-associé (AMOT) de YAP, permettant ainsi YAP à translocation du cytoplasme vers le noyau pour activer la transcription YAP-dépendante, favorisant la croissance et la progression tumoral.

Un ciblage pharmacologique de cette nouvelle voie de YAP-dépendante peut être critique pour une thérapie efficace contre les MU présentant des mutation *GNAQ/11*, incité par l'identification récente de vertéporfine comme inhibiteur de l'activité de YAP (Liu-Chittenden *et al.*, 2012).

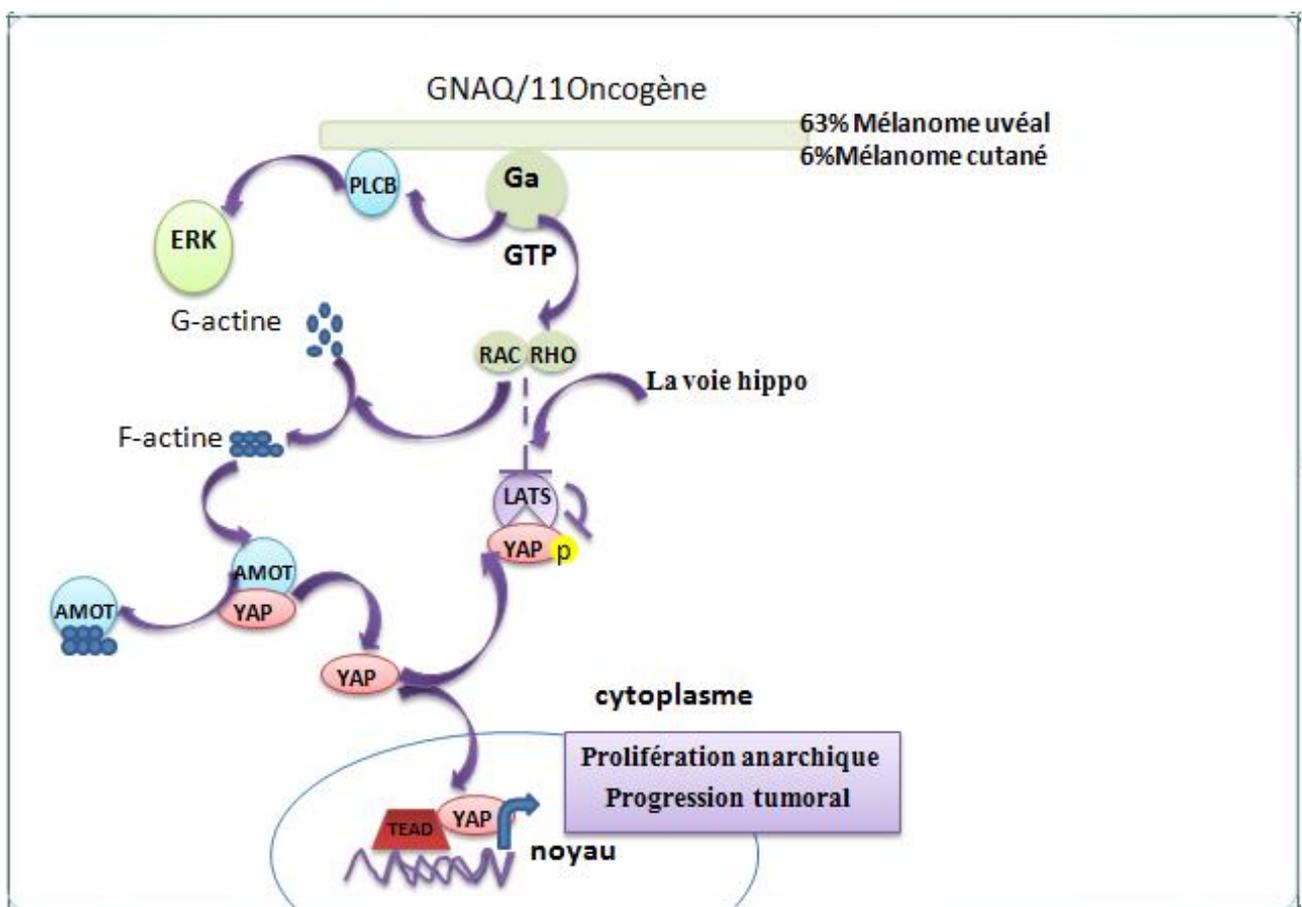


Figure 17 : Représentation schématique de la voie Hippo- YAP.

Chapitre I : Données Bibliographiques

I-9- Traitements

I-9-1-La chirurgie

L'ablation de la tumeur avec conservation du globe oculaire n'est possible que pour certaines tumeurs. Si la tumeur est trop volumineuse, en cas de récurrence ou de complications majeures du traitement conservateur, une ablation chirurgicale de l'œil peut être envisagée. **(Desjardins L, 2007)**

I-9-2- La chimiothérapie

Une chimiothérapie est un traitement médical général (appelé aussi traitement systémique) qui agit dans l'ensemble du corps. Cela permet d'atteindre les cellules cancéreuses quelle que soit leur localisation, même si elles sont isolées et n'ont pas été détectées lors du diagnostic.

Les médicaments de chimiothérapie agissent sur les mécanismes de la division de la cellule.

Une chimiothérapie peut être proposée pour traiter des MU avec envahissement locorégional et qui ne sont pas opérables, ou des MU avec des métastases à distance (le cas des métastase hépatique). **(Desjardins L, 2007)**

I-9-3-Traitements conservateurs

1-La protonthérapie

La protonthérapie, radiothérapie utilisant un faisceau de protons à la balistique très précise, est idéale pour traiter les tumeurs situées à proximité d'organes sains car elle permet de réduire leur irradiation. Cette forme de radiothérapie est utilisée pour traiter les tumeurs postérieures à l'arrière du plan équatorial de l'œil. Cette thérapie permet de conserver le globe oculaire dans 90 % des cas. Elle permet également un contrôle local de la tumeur dans 96 % des cas et le risque de récurrence, inférieure à 5 % à dix ans, reste très faible. **(Hamrouni Z et al., 2005)**

2-La curiethérapie

La curiethérapie est indiquée pour traiter les petites tumeurs situées dans la partie antérieure de l'œil, tout en protégeant les paupières et la glande lacrymale. Les médecins placent directement au niveau de la tumeur un disque en or, d'un diamètre de 12 à 20 mm, et dans lequel sont incorporés des grains d'iode radioactif (iode 125). Le contrôle local de la tumeur est obtenu dans 95 % des cas.

(Desjardins L et al., 2003)

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II-1- Matériel

II-1-1-Population d'étude

Notre partie pratique a été réalisée au Service d'Anatomie Pathologique du CHU Mustapha (Alger) sur une période de 5 mois allant de janvier 2015 à mai 2015.

Nous avons Mené une double étude :

- **Rétrospective** s'étendant sur 10 années (janvier 2005 – Décembre 2014).
- **Prospective** s'étendant sur 5mois (01janvier 2015- 31 Mai 2015) sur une série des patients algériens provenant de tout le territoire national.

Durant cette période nous avons colligé 40 globes oculaires.

Les données cliniques (L'âge, le sexe, la localisation) des patients ont été recueillis à partir des fiches de renseignements cliniques. Tous les cas ont bénéficié d'une réévaluation histologique après coupes classées.

II-1-2- Matériel non biologique

Appareillages	Matériel et verreries	Réactifs	Kits d'immunohistochimie
- Bain-marie - Microtome - Agitateur (AGIMATIC-S) - Etuve - Appareille d'inclusion	- Lame d'étalement. - Lames silanisées. - Panier des lames. - Micropipettes.	- Formol à 10% - Eau distillée et Eau de robinet - Paraffine - Hématoxyline de Harris - Eosine - Xylène _Eukitt	-Solution de PH (6-9) -Eau oxygénée -Solution d'anticorps Iaire (spécifique) - Ac anti Melan A, Ac anti ki 67, Ac Anti PS 100, Ac anti HMB45 -Solution PBS (phosphate buffered saline). -Solution d'anti corps secondaire -Solution DAB chromogène - Hématoxyline de Mayer -Ammoniaque

Tableau 1 : Matériel non biologique.

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II-2-Méthodes

II-2-1-Etude Anatomopathologique

1)-Examen macroscopique

Les globes oculaires reçus fixés au formol (formaldéhyde=méthanal en solution aqueuse) afin d'éviter l'autolyse des tissus. L'examen macroscopique consiste à décrire le globe oculaire : aspect externe, taille du globe, taille du nerf optique, remaniements (calcifications, hémorragies...).

2)-Prélèvement

Les globes oculaires doivent être inclus en totalité. La coupe doit passer par la papille avec l'utilisation des instruments bien tranchants, afin de ne pas écraser les tissus. Les prélèvements sont mis dans des cassettes numérotées pour chaque patient.



Figure 18 : Globe oculaire.

II-2- 2-Etude histologique (étapes pré – analytique) (Annexe 1)

1)-Fixation

Le but est de conserver l'échantillon dans un état le plus proche possible de l'état in vivo par son action intrinsèque (empêcher l'hydrolyse et la digestion enzymatique) et extrinsèque (éviter la putréfaction des tissus par des micro- organismes). la fixation est effectuée par immersion des échantillons durant 48h, dans du formol à 10% (9 volumes d'eau distillé pour 1 volume de formol).

Chapitre II : Matériel et Méthodes

2)-Circulation

Pour que la lumière puisse passer à travers le tissu à examiner, celui-ci doit être très fin. Or les tissus sont mous, il faut donc leur donner une consistance solide ; c'est le principe de l'inclusion ,mais cette étape est précédée par une étape très importante c'est la circulation qui est réalisée en 3 phases : **la déshydrations** , **l'éclaircissement** et **l'imprégnation** grâce à un circulateur automatique (LEICA TP 10 20) appelé « autotechnicon »(Figure 19) .
-Le circulateur possède 12 baignoires, arrangées en cercle facilite le transfert automatique d'un panier (contenant les cassettes des prélèvements) toutes les 2h, d'un bain à un autre.

- la phase de déshydratation

(Élimination du formol de la fixation, et enlèvement de l'eau tissulaire), la déshydratation se réalise par l'alcool (agent déshydratant).

Les cassettes sont ensuite immergées dans 6 baignoires d'alcool de concentration croissante de 70% à 100% pour éviter l'apparition trop rapide d'une distorsion des structures du tissu.

- la phase de l'éclaircissement

La paraffine liquide n'est pas miscible avec l'alcool, dont les tissus sont imprégnés et ne pourra donc pas les pénétrer. Pour y remédier, les tissus doivent passer dans un liquide intermédiaire miscible entre eux, à l'alcool et à la paraffine, c'est le xylène (agent éclaircissant), qui est un solvant miscible à la paraffine : dont le panier est plongé dans 4 baignoires du xylène (miscible dans l'alcool, mais également dans la paraffine, va remplacer dans un premier temps l'alcool dans un tissu, le rendant transparent et dans un second temps, facilite la pénétration de la paraffine

- la phase de l'imprégnation

Le panier des cassettes prélevées est immergé dans deux derniers baignoires de paraffine liquide.



Figure 19: Circulateur automatique (LEICA TP 10 20)

Chapitre II : Matériel et Méthodes

3)-Inclusion(enrobage)

A pour but de permettre la réalisation des coupes fines et régulières. Les étapes de l'inclusion (enrobage) sont réalisées à l'aide d'un appareil (LEICA) (Figure 20) comporte, un circuit chauffé (à 60°C) se terminant par un distributeur d'où s'écoule la paraffine liquide, et une plaque froide.

D'abord nous avons versé la paraffine dans le moule, ensuite nous avons déposé la pièce à inclure dans le centre du moule à l'aide d'une pincette et placer la cassette numérotée sur la surface de la coupe, puis la paraffine liquide est versée sur la cassette afin qu'elle adhère à la pièce. A la fin, le moule est mis sur la plaque froide pour que la paraffine durcisse (15min). Le bloc obtenu est démoulé et mis dans une congélation pour accélérer le durcissement de la paraffine.



Figure 20 : Appareil d'inclusion.

4)- Coupe au microtome

Le but de cette étape est d'avoir des tranches fines régulières, par l'utilisation d'un microtome qui fait avancer le bloc de la paraffine sur un rasoir : d'abord nous avons débité le microtome à 25 μ pour enlever l'excès de la paraffine et arriver à la surface du prélèvement, ensuite nous avons diminué à 3 μ ou 4 μ pour obtenir des rubans fins d'environ 2 à 3 μ m (Figure 21).

Chapitre II : Matériel et Méthodes



Figure 21 : Microtome : confection des rubans fins.

5)-Etalement

L'étalement des lames se fait soit par une plaque chauffante soit par un bain marie. Dans notre étude, nous avons utilisé un bain marie. Les coupes sont mises dans un bain marie afin d'enlever les plis du tissu, ensuite elles sont portées à l'aide des lames (Figure 22), pour obtenir des lames blanches (contient le tissu du prélèvement). Les lames sont par la suite placées dans un panier pour lames et séchées à 70°C dans une étuve pendant 1 heure ce qui facilite le déparaffinage.



Figure 22 : Etalement des lames au bain marie

6)- Etapes de préparation à la coloration

Cette étape consiste deux phases nécessaires avant la coloration, la première phase c'est le **déparaffinage**, dans lequel nous avons mis notre panier des lames dans un bain de xylène pendant 15 min pour enlever la paraffine tissulaire. La deuxième phase c'est la phase de la **réhydratation** a pour objectif de retirer le xylène du tissu et la remplacer par l'eau, cette phase se fait par 3 bains d'alcool de concentration décroissant.

Chapitre II : Matériel et Méthodes

Après le dernier bain d'alcool, les lames sont rincées dans un bain d'eau du robinet.

7)-Coloration histochimique à l'HE

Une batterie de colorants et de réactifs est utilisée, constituée respectivement

- 1)-d'un bac d'hématoxyline de Harris (assure la coloration des noyaux)
- 2)- un bac d'eau acidifiée (5 ml d'acide chlorhydrique concentré dans 1000 ml d'eau distillée) (élimination de l'excès de d'hématoxyline)
- 3)-un bac d'eau ammoniacale (2ml ammoniaque dans 1000 ml d'eau distillée)
Bleuir les noyaux
- 4)-un bac d'éosine (1000ml de solution aqueuse à 3% d'éosine, 125ml d'alcool à 95% et 2 gouttes d'acide acétique glacial dans 375 ml d'eau distillée) (assure la coloration des cytoplasmes).
- 5)- un bac d'alcool à 95% (déshydratation)
- 6)-un bac de xylène. (Éclaircissement)



Figure 23: Les différents bains de coloration HE.

Les différentes étapes sont

- Immersion du panier des lames dans le bac à Hématoxyline de Harris durant 5 min.
- Rinçage par l'eau du robinet pendant 2min.
- Enfoncement du panier une à deux fois dans l'eau acidifié.
- Rinçage par l'eau du robinet pendant 2min
- Enfoncement une à deux fois dans l'eau ammoniacale

Chapitre II : Matériel et Méthodes

- Rinçage par l'eau du robinet pendant 2min
- Immersion dans l'Eosine pendant 2 min
- Rinçage par l'eau du robinet pendant 2min.

Après la coloration et avant le montage il est très nécessaire de passer sur deux phases qui permettent d'enlever l'eau (assurant une bonne visualisation sur le microscope), d'abord la déshydratation par un bain d'alcool de 100 °C, ensuite l'éclaircissement par un bain de xylène.

8)-Montage

Consiste à fixer une lamelle sur une lame qui contient notre coupe histologique, par l'utilisation d'une colle ce qui confère une protection contre les bris mécanique et la dégradation chimique des colorants.

Une lamelle (24X40 mm ,24X50mm, 24X60mm) est fixée sur la coupe histologique en appliquant une goutte de colle (EUKITT) et quelques gouttes de xylène pour aider à la diffusion de la colle sur toute la surface que recouvre la lamelle.

Les lames sont ensuite séchées à l'air libre.



Figure 24: Montage des lames après coloration

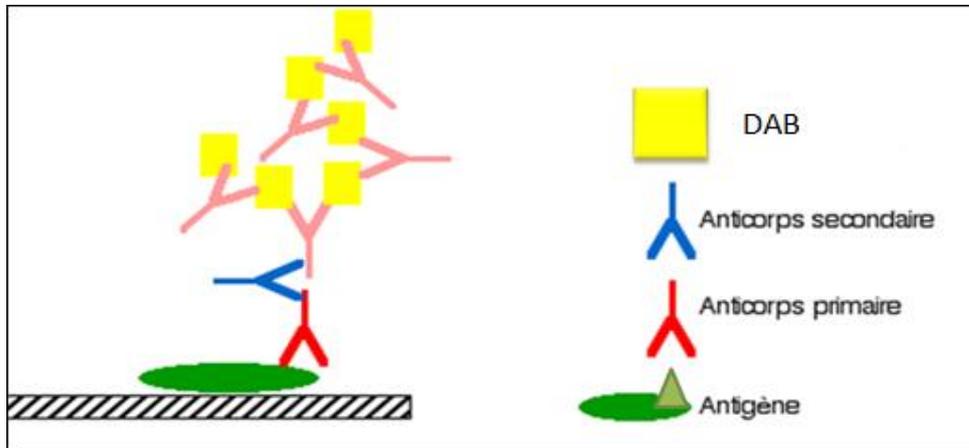
9)-Interprétation

La lecture des lames est effectuée au grossissement (x 100, x400, x1000) l'hématoxyline colore les noyaux en bleu. L'éosine les cytoplasmes en rose.

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II-2-3- Etude Immunohistochimique (Annexe 2)

L'immunohistochimie consiste à mettre en évidence divers antigènes (Ag) cellulaires, ou extracellulaires, grâce à des anticorps (AC) spécifiquement dirigés contre eux, sur des coupes de tissus fixés, et inclus en paraffine.



Les principales étapes de la technique d'immunohistochimie utilisée sont :

- **préparation des lames** : les blocs reçue inclus en paraffine sont coupés par le microtome, ensuite les coupes obtenus sont étalées dans un bain marie et porter par des lames silanisée, à la fin elles sont mises dans une étuve à 70C°.
(Assure la fixation du prélèvement sur les lames)
- **Déparaffinage** : 4 bains de xylène 5 min pour chacun.
- **Réhydratation** : 4 bains Alcool de concentration décroissant (100°, 95°, 80°, 75°) 5 min pour chacun.
- **Démasquage des sites antigéniques (pré traitement)** : Placer les lames dans des étuis remplis par un tampon PH préalablement préparée (pH 6 -9) selon le type d'anti corps spécifique utilisée. Ensuite les étuis sont mis dans un bain marie de 98C° (35 à 40 min). Après cela ils sont ouverts et ils sont plongés dans l'eau distillée pendant 5 minutes. (le refroidissement petit à petit)

Les lames sont enlevées des étuis et elles sont mises dans une chambre humide (un palato avec compresse mouillé par l'eau) pour éviter le dessèchements des prélèvements.

- Immersion des lames dans l'eau oxygénée (5 à 10 min).
- Cerclé les prélèvements à l'aide d'un Dacopen (de nature huileux).

Chapitre II : Matériel et Méthodes

- **Introduction d'AC I :** Ajouter l'AC I sous forme d'une solution à l'aide d'une micropipette pour toutes les lames pendant 45 min. Ensuite rinçage par 2 bacs du PBS 5min pour chacun.
- **Introduction d'AC II :** Ajouter l'AC II qui contient deux flacons, le premier est représenté par un amplificateur 20 min et le deuxième c'est la streptavidine 20min pour toutes les lames et laisser agir. Ensuite lavage des lames par 2 bacs du PBS 5min pour chacun.
- **Révélation :** Se fait par le chromogène-substrat DAB qui donne une coloration marron au tissu tumoral, suivi d'un rinçage avec l'eau distillée.
- **Contre coloration:** Immerger les lames 2 à 3 minutes dans l'hématoxyline de Mayer ensuite rincé à l'eau courante (5 minutes).
- Plonger les lames dans un bain d'eau ammoniaquée pour bleuir les noyaux, puis déshydrater et éclaircir.
- **Montage :** Les lamelles sont déposées sur les lames à l'aide d'un Eukitt.
- **Lecture :** effectuer au grossissement (x 100, x400, x1000).



Figure 25 : Introduction d'anti corps primaire.



Figure 26 : Introduction d'anticorps secondaire.



Figure 27 : Révélation par la DAB.

Chapitre III : Résultats

III -1-Paramètres épidémiologiques

- Notre série

La population d'étude est constituée de 40 cas.

-Rétrospective : 38 cas sélectionnés.

- Prospective : deux cas sélectionnés.

a)- Répartition des cas par année

Années	N cas	%
[2005- 2006[2	5
[2006- 2007 [3	7
[2007-2008 [0	0
[2008-2009 [1	3
[2009-2010 [3	7
[2010-2011 [1	3
[2011-2012 [8	20
[2012-2013 [9	22
[2013-2014 [7	18
[2014-2015 [4	10
[2015- 2016 [2	5
Total	40	

Tableau 2 : Répartition des MU selon les années.

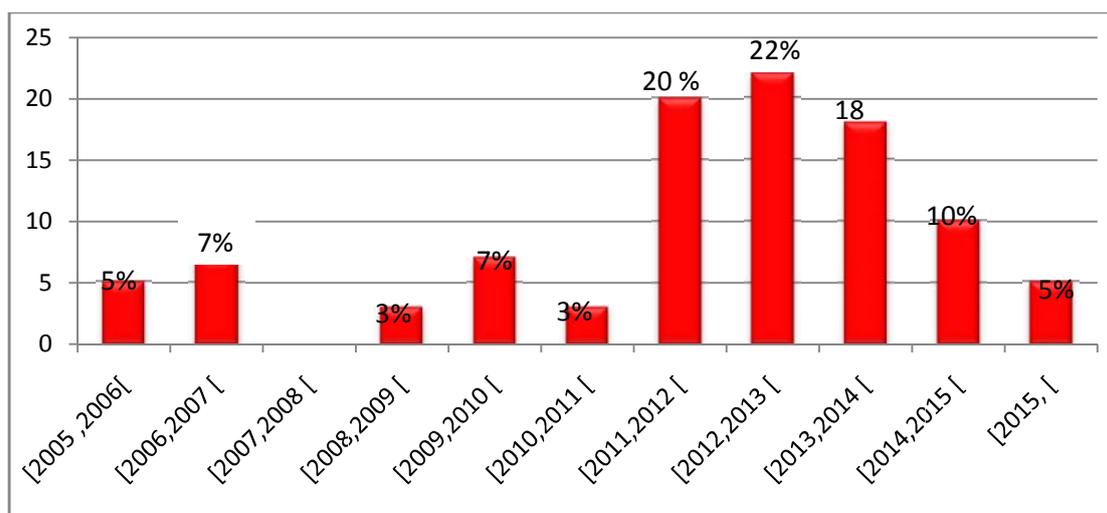


Figure 28: Répartition des MU selon les années.

Nous avons constaté un pic en [2012-2013 [soit 22%.

Chapitre III : Résultats

b) – Répartition selon le sexe

-Parmi les 40 cas étudiés, il y'a 20 hommes et 20 femmes.

Le sexe ratio (F/H) est de 1.

Le sexe	N cas	%
Hommes	20	50
Femmes	20	50
Total	40	

Tableau 3 : Répartition des MU selon le sexe.

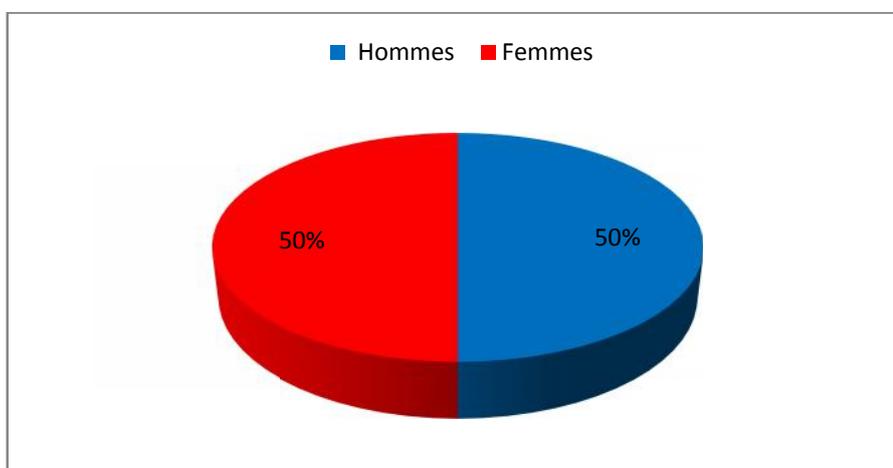


Figure 29: Répartition des MU selon le sexe.

c)- Répartition selon l'âge

Les âges extrêmes sont de 36 et 85ans, avec un moyenne d'âge 58 ans.

Age	N cas	%
[35 - 45[8	20
[45 - 55[9	22
[55 - 65[12	30
[65 - 75[10	25
[75 - 85[1	3
Total	40	

Tableau 4 : Répartition des MU selon l'âge.

Chapitre III : Résultats

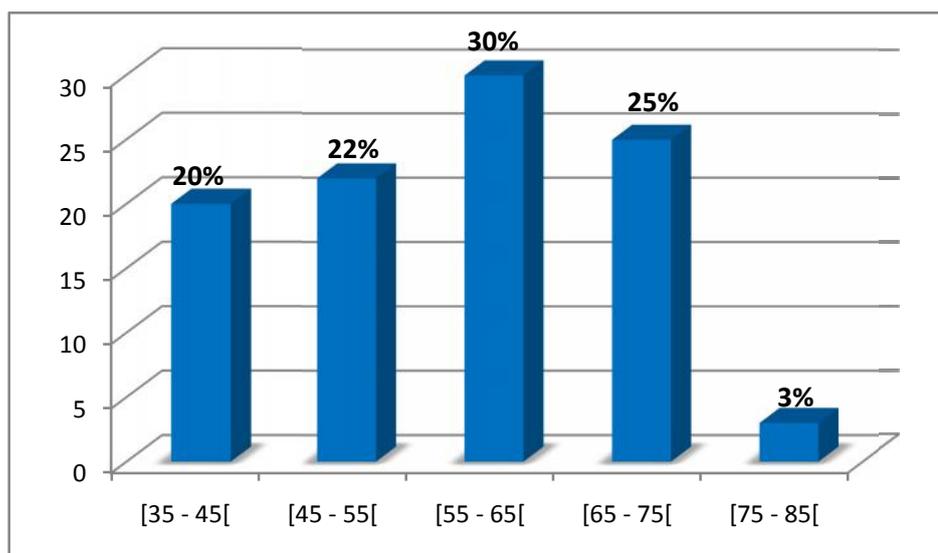


Figure 30: Répartition des MU selon l'âge.

La moyenne d'âge est 58 ans, avec un pic de fréquence dans la tranche d'âge [55 - 65[

Soit 30 %.

d)- Répartition des MU selon la localisation

Selon la localisation des MU dans notre série, nous avons sélectionné 3 types principaux.

Type	N ° cas	%
Mélanome de la choroïde	37	93
Mélanome iridociliaire	1	2
Mélanome choroïdociliaire	2	5
Total	40	

Tableau 5 : Répartition des MU selon la localisation.

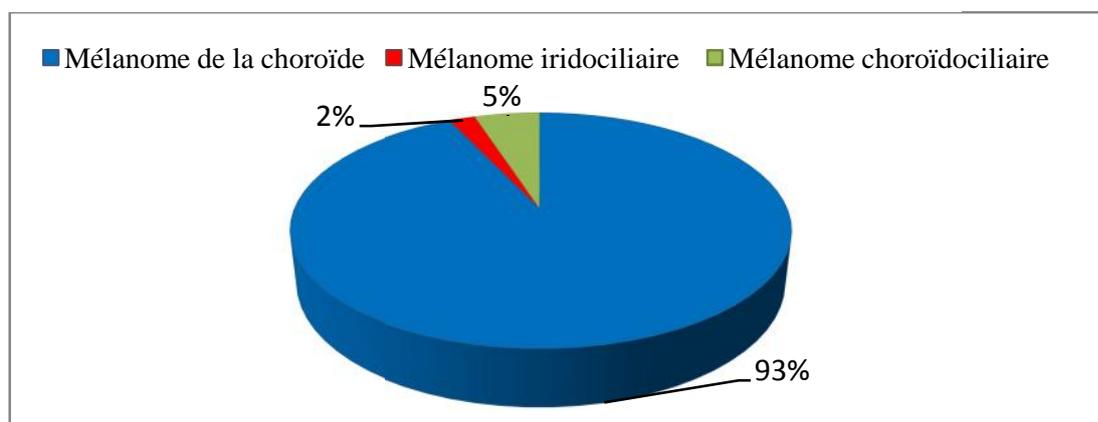


Figure 31: Répartition des MU selon la localisation.

Les résultats montrent que 93% des MU sont localisés au niveau de la choroïde.

Chapitre III : Résultats

III- 2- Paramètres Cliniques

1- Signes cliniques

Les MU se développent à l'intérieur de l'œil, donc il n'est pas visible de l'extérieur. Il provoque des troubles de la vue comme une perte d'acuité visuelle, la présence d'une tâche dans le champ de vision ou des flashes de lumière.

2- Fond d'œil

Le plus souvent, les MU sont diagnostiqués au cours d'un examen ophtalmologique de routine, il permet de préciser la localisation de la tumeur et la présence ou non d'un envahissement du vitré.



Figure 32 : Fond d'œil révélant un mélanome choroïdien

Envahissement du vitré.

3-Echographie B

Permet d'obtenir une vue à 2 dimensions, en coupes, de l'intérieur de l'œil. Il est utilisé pour déterminer la taille, les caractéristiques et l'étendue du MU, et pour savoir si cette tumeur est une métastase provenant d'une autre partie du corps.

4-IRM

Imagerie par résonance magnétique permet de déterminer la taille du MU, étendue (savoir si le nerf optique est touché), le stade (s'est propagé à l'extérieur de l'orbite de l'œil au cerveau ou à la moelle épinière).

Tous nos patients ont subi une échographie B et IRM.

Chapitre III : Résultats

III- 3-Etude Anatomopathologique

III- 3-1-Macroscopiquement (Annexe 4)

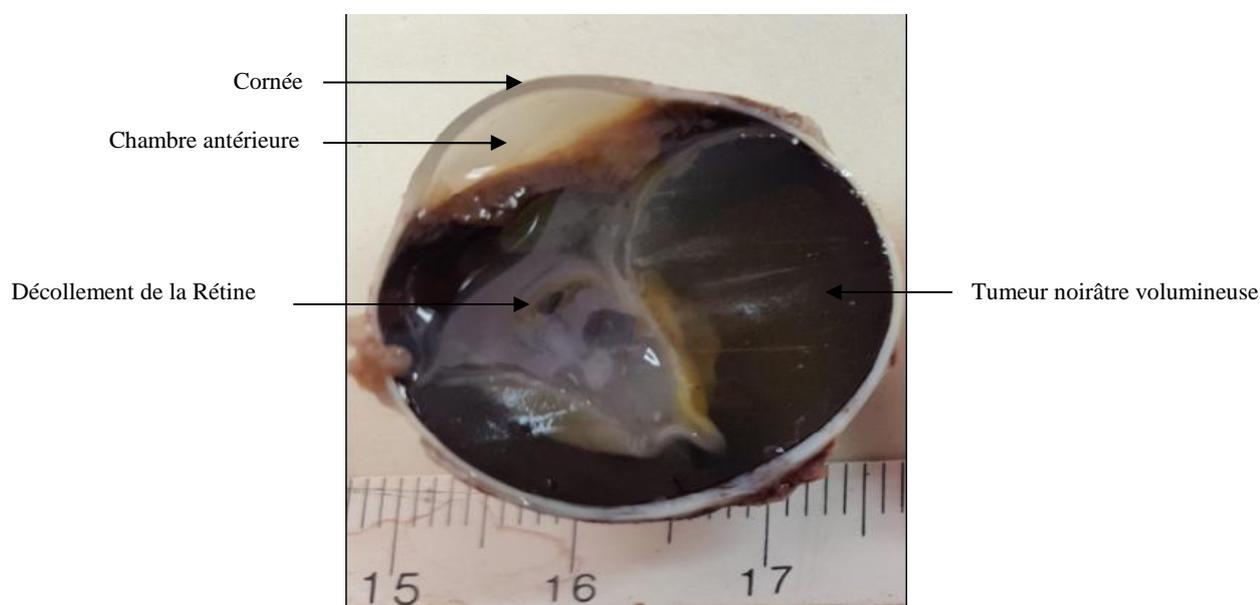


Figure 33: Aspect macroscopique du globe oculaire.

Présence d'un Mélanome choroïdien.

1)- Taille du globe

La taille du globe oculaire varie entre (2 et 3) cm. Mais la plupart des globes ont une taille de 2,5 cm.

2)-Taille du nerf optique

La tranche de section du nerf optique comprise entre (0,5- 1) cm était la plus fréquente.

Taille du nerf optique (cm)	N cas	%
<0,5	9	22
0,5 – 1	13	33
>1	5	13
Ras du GO	1	2
Non précisée	12	30
Total	40	

Tableau 6: Répartition des MU selon la taille du nerf optique

Chapitre III : Résultats

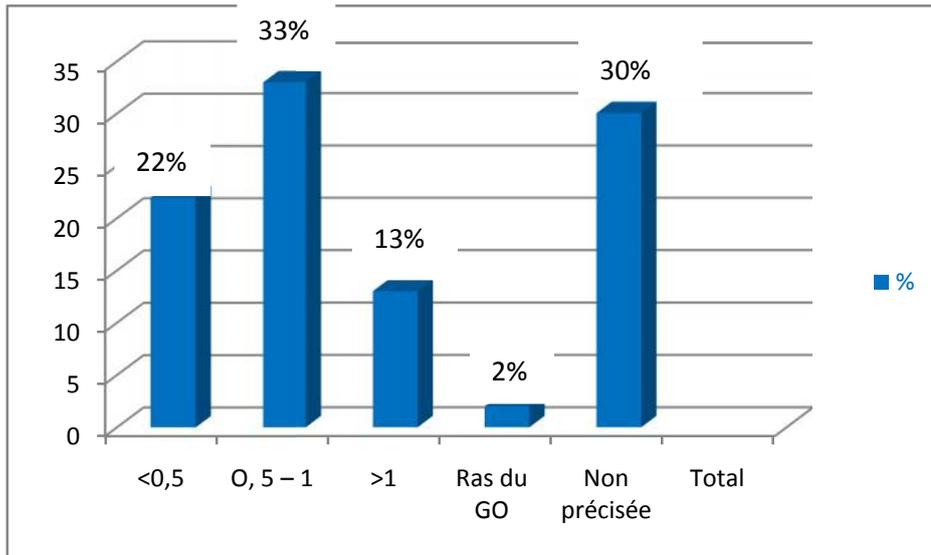


Figure 34: Répartition des MU selon la taille du nerf optique.

La plupart des patients ayant une taille du nerf optique varie entre (0,5- 1) cm avec une fréquence de 33%.

3)-Taille de la tumeur

Taille de la tumeur (cm)	N cas	%
< 1	5	12
1- 2	33	83
>2	2	5
Total	40	

Tableau 7: Répartition des MU selon la taille de la tumeur.

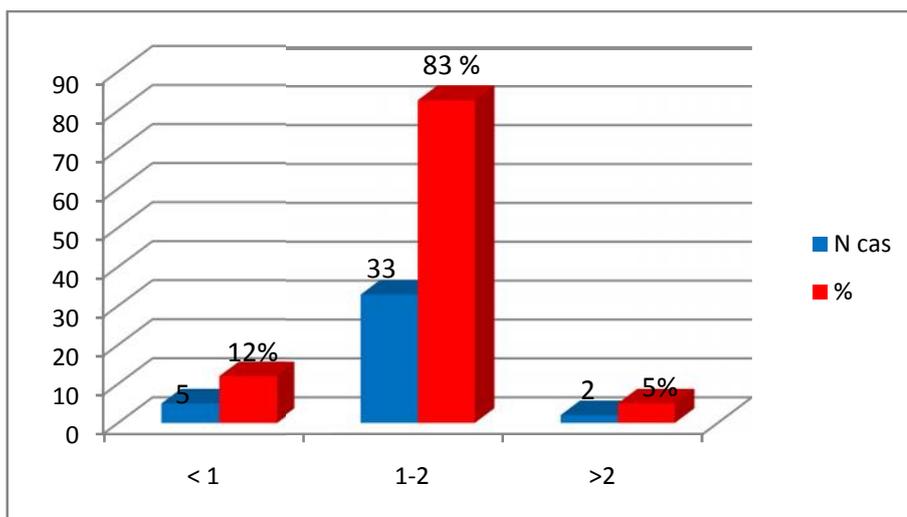


Figure 35: Répartition des MU selon la taille de la tumeur.

Chapitre III : Résultats

Selon la répartition des MU Par rapport à la taille de la tumeur nous avons remarqué que 33cas (83%) ont une taille de tumeur varie entre 1-2 cm, 5cas (12%) ont une taille inferieur à 1cm, et 2 cas (5%) ont une taille supérieur à 2cm.

III- 3-2- Microscopiquement (Annexe 5)

III- 3-3-1- Etude histologique

1) – Envahissement du Sclère

Sclère	N cas	%
Saine	18	45
Atteinte	22	55
Total	40	

Tableau 8 : Répartition des MU selon l'extension du sclère.

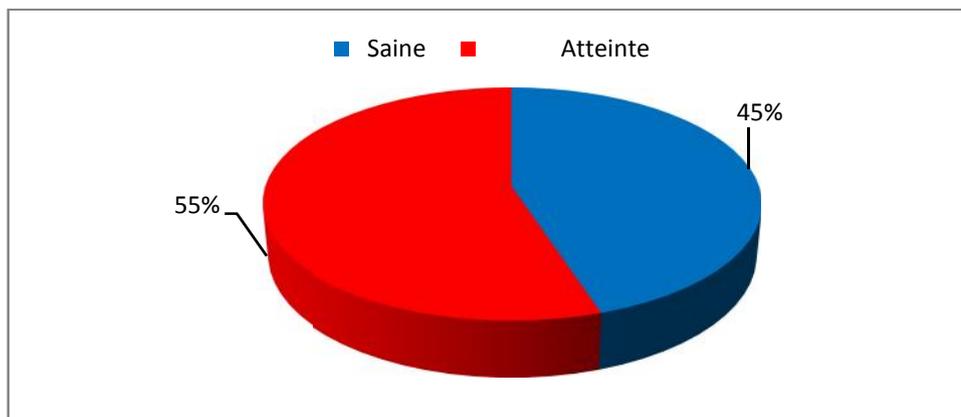


Figure 36 : Répartition des MU selon l'extension du sclère.

Les résultats des répartitions des MU selon l'extension sclérale montrent que 22 patients sont atteints. (55%)

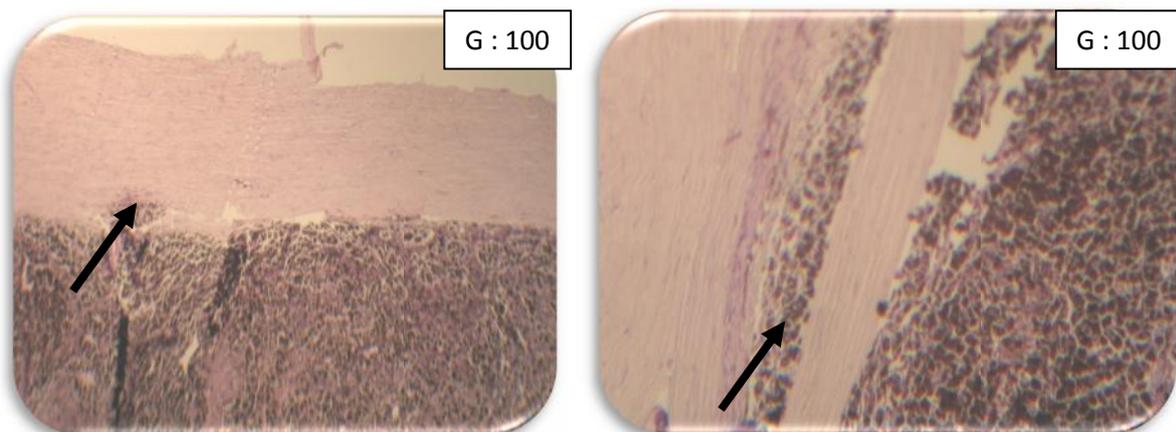


Figure 37 : coupe histologique d'un MU : effraction scléral.

2) – Envahissement du nerf optique

Nerf optique	N cas	%
sain	36	90
Atteint	4	10
Total	40	

Tableau 9 : Répartition des MU selon l'envahissement du nerf optique.

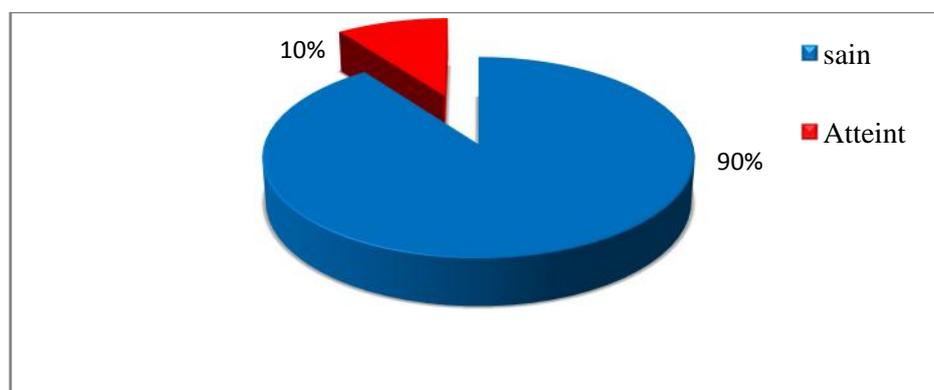


Figure 38: Répartition des MU selon l'envahissement du nerf optique.

Nous avons constaté que 36 patients (90%) ont un nerf optique sain et 4 patients (10%) ont un nerf optique atteint.

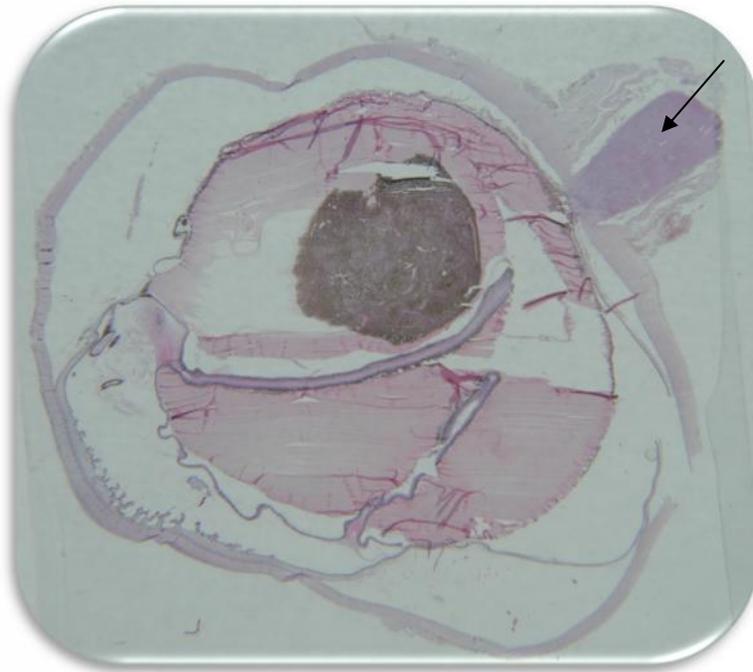


Figure 39 : Mélanome choroïdien avec un nerf optique sain.

3) – Envahissement rétinien

Rétine	N cas	%
Saine	26	65
Atteinte	14	35
Total	40	

Tableau 10 : Répartition des MU selon l'envahissement de la rétine.

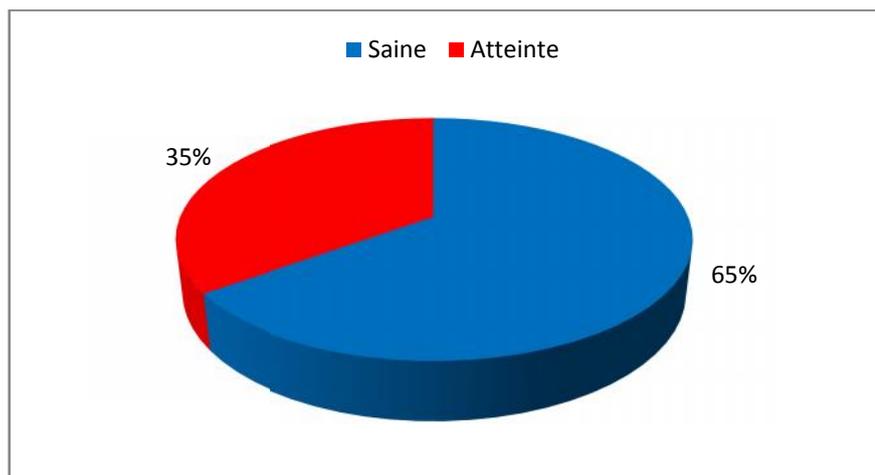


Figure 40: Répartition des MU selon l'envahissement de la rétine.

Dans notre série 26 patients (65%) ont une rétine saine et 14 patients (35%) atteinte.

Chapitre III : Résultats

4)- Envahissement du Corps ciliaire

Corps ciliaire	N cas	%
Sain	32	80
Atteint	8	20
Total	40	

Tableau 11 : Répartition des MU selon l'envahissement du corps ciliaire.

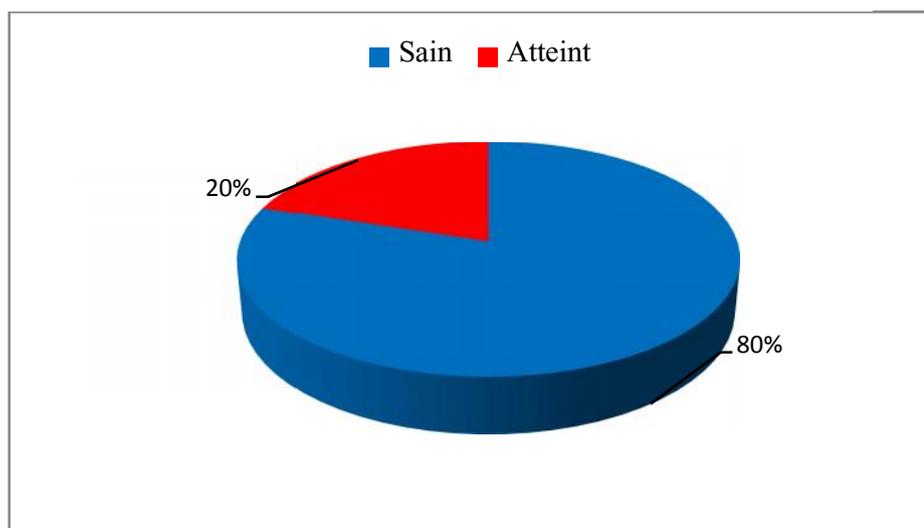


Figure 41: Répartition des MU selon l'envahissement du corps ciliaire.

Nous avons noté que 32 patients (80%) ont un corps ciliaire sain et 8 patients (20%) sont atteints.

5)- Envahissement de la chambre antérieure

Chambre antérieur	N cas	%
Saine	38	95
Atteinte	2	5
Total	40	

Tableau 12 : Répartition des MU selon l'envahissement de la chambre antérieure.

Chapitre III : Résultats

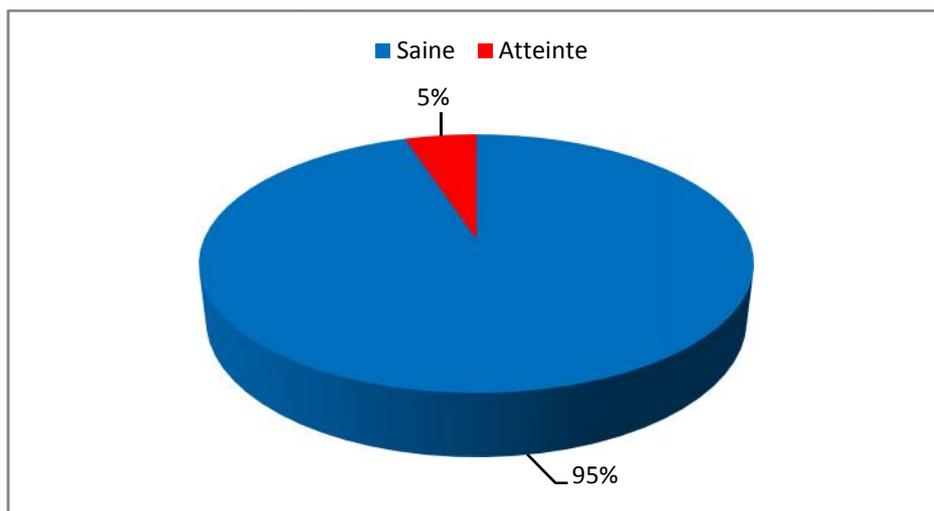


Figure 42: Répartition des MU selon l'envahissement de la chambre antérieure.

La majorité 38 patients (95%) ont une chambre antérieure saine.

6)- Types cellulaires (Annexe 6)

Types cellulaires	N cas	%
fusiforme	15	37
épithéloïde	9	23
mixte	16	40
Total	40	

Tableau 13 : Répartition des MU selon le type cellulaire.

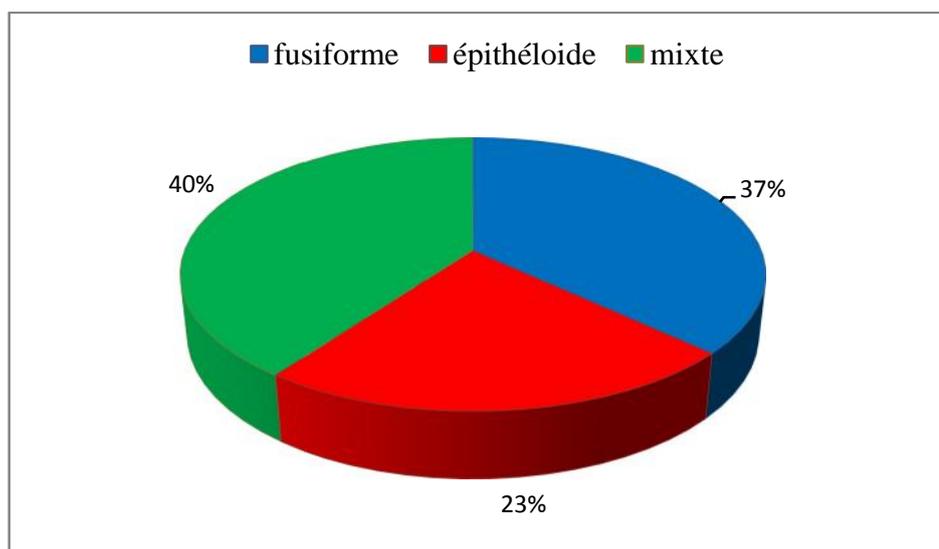


Figure 43: Répartition des MU selon le type cellulaire.

Nous avons constaté que 16 cas (40%) ont un type cellulaire mixte, 15 cas (37%) fusiforme et 9 cas (23%) épithéloïde.

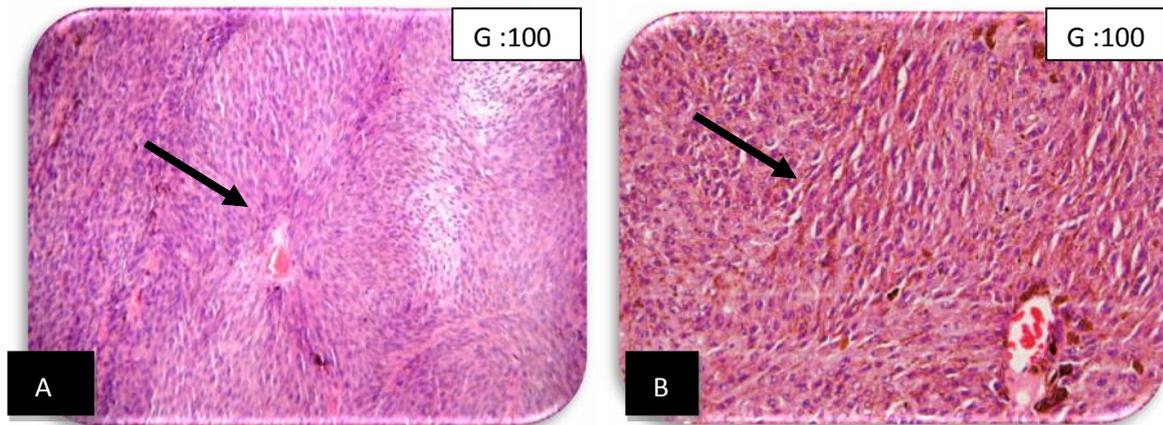


Figure 44 : coupe histologique d'un MU fusiforme.

Fusiforme A : cellules allongées avec noyau ovalaire et nucléole mal défini ou absent

Fusiforme B : cellules allongées avec noyau ovalaire au nucléole bien visible

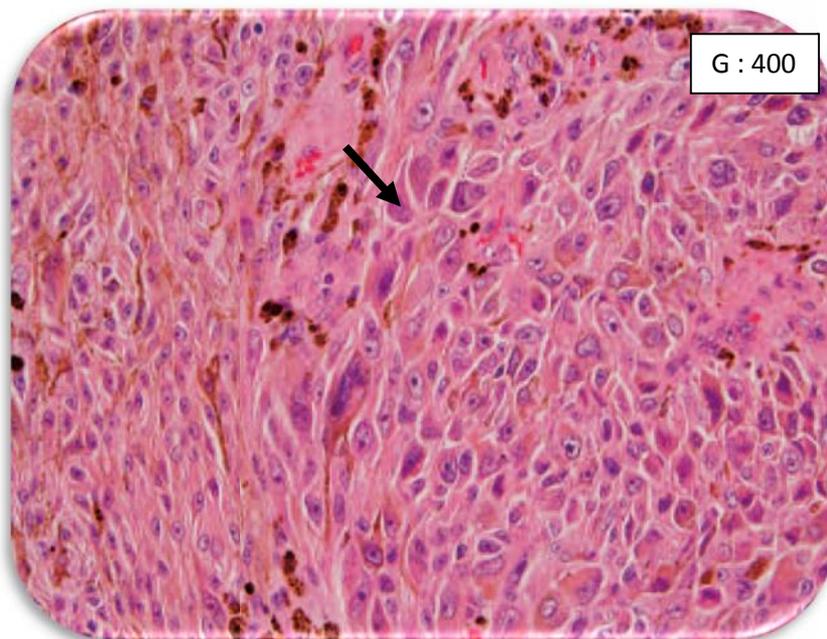


Figure 45: coupe histologique d'un MU épithéloïde.

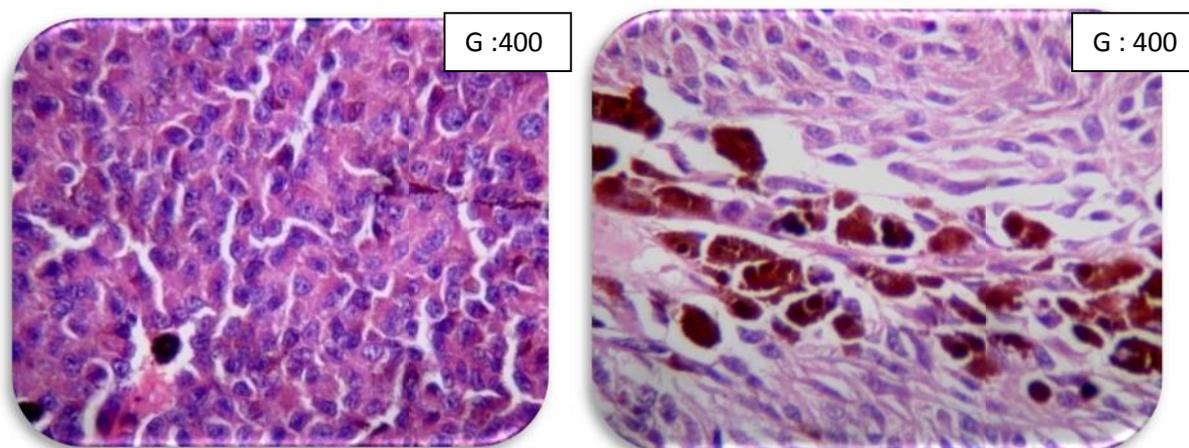


Figure 46 : coupe histologique d'un MU mixte.

7)- Degré de pigmentation (Annexe 7)

Degré de Pigmentation	N cas	%
Peu pigmenté	6	15
Bien pigmenté	16	40
Fortement pigmenté	18	45
Total	40	

Tableau 14 : Répartition des MU selon le degré de pigmentation

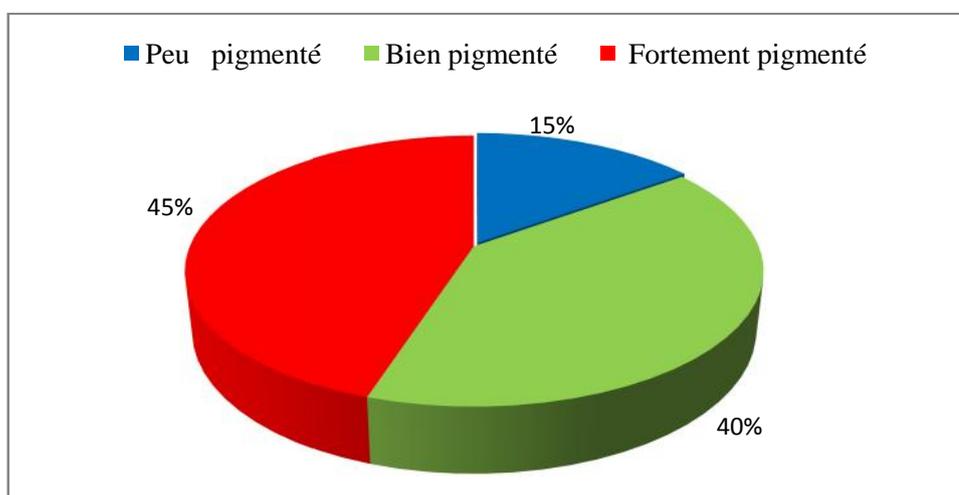


Figure 47: Répartition des MU selon le degré de pigmentation.

Dans notre série 18 patients (45%) ont une forte pigmentation, 16 cas (40%) bien Pigmenté et 6 cas (15%) peu pigmenté.

-Absence de cas achromique.

Chapitre III : Résultats

8)- Vascularisation (Annexe 7)

Vascularisation	N cas	%
présence	19	47
Absence	21	53
Total	40	

Tableau 15 : Répartition des MU selon la vascularisation.

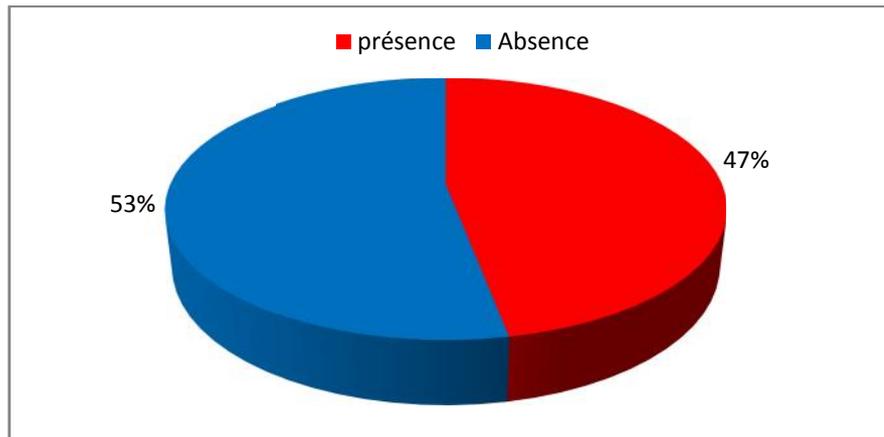
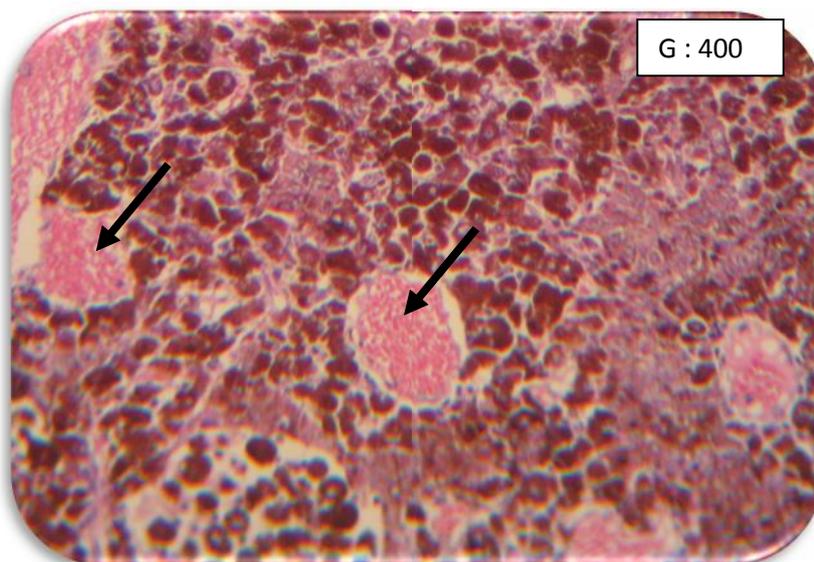


Figure 48: Répartition des MU selon la vascularisation.

Nous avons constaté que 21 patients (53%) n'ont pas une vascularisation, et 19 patients (47%) présentant.



Les tumeur qui ont une vascularisation plus complexe comme des boucles vasculaire ou des réseaux vasculaires sont associés a une augmentation d'un risque métastatique .

Figure 49 : mélanome choroïdien vascularisé.

Chapitre III : Résultats

9)- Nécrose (Annexe 7)

Nécrose	N cas	%
présence	8	20
Absence	32	80
Total	40	

Tableau 16 : Répartition des MU selon la nécrose.

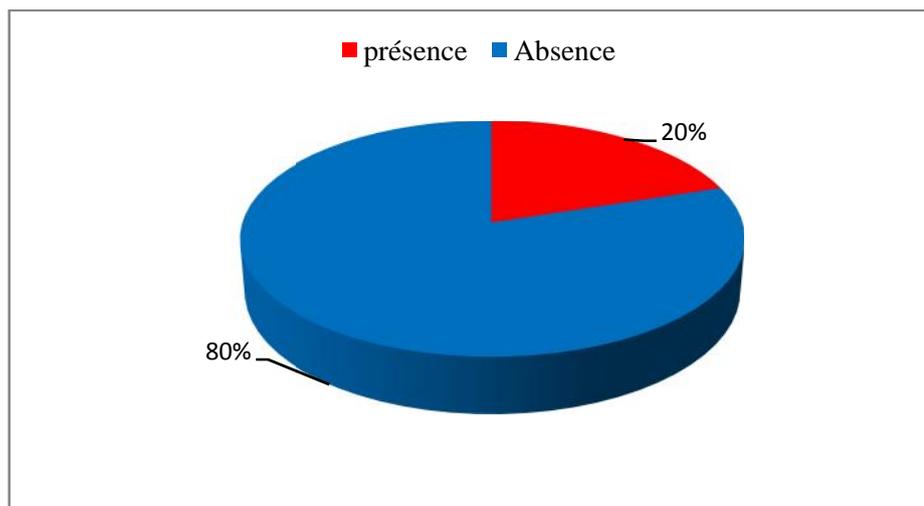


Figure 50 : Répartition des MU selon la nécrose.

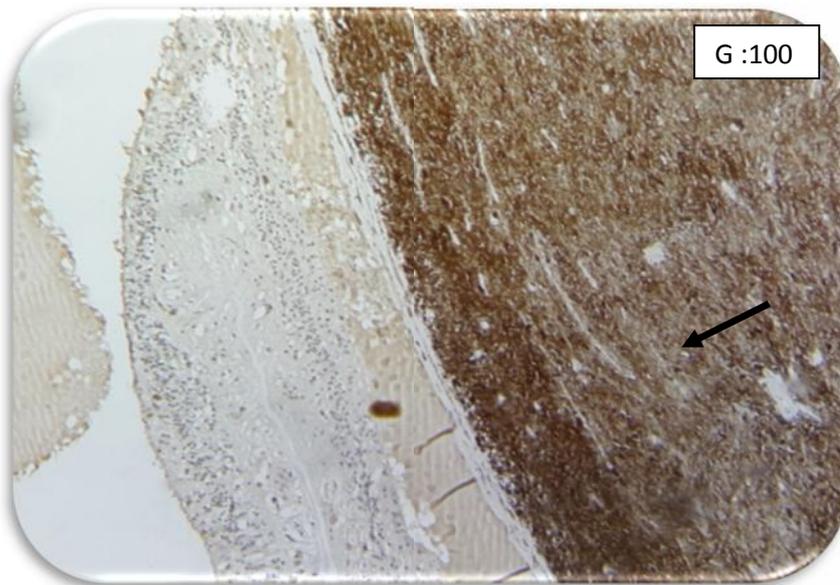
Nous avons remarqué que la majorité des patients ne présente pas une nécrose (80%).

III- 3-3-2 – Etude Immunohistochimique

Consiste à mettre en évidence quatre marqueurs associés à des anomalies moléculaires des MU : Ki 67 (marqueur de prolifération), PS100 (marqueur de différenciation), Melan A, HMB45.

1)- Immunomarquage par Ki 67

Ki 67 un marqueur de prolifération qui est facilement utilisable, peu onéreux et accessible à tout laboratoire d'anatomie pathologique.

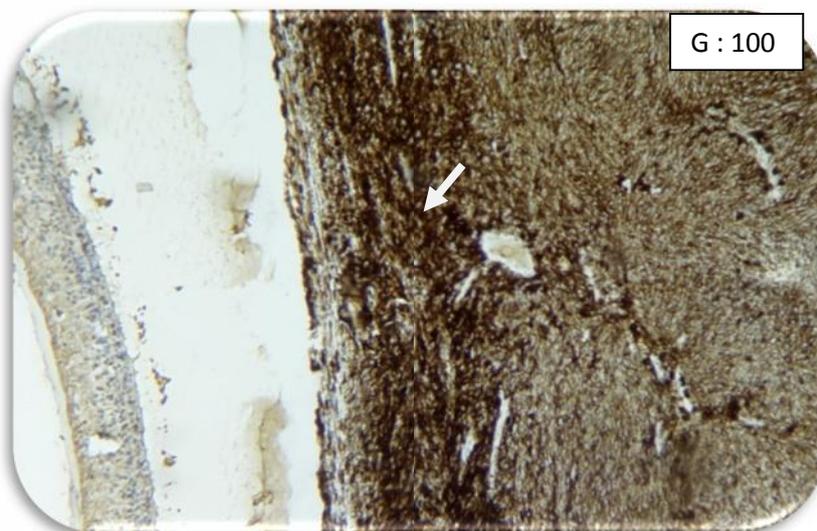


La coupe histologique d'immunomarquage par Ki 67 Montre qu'il positif avec une localisation intranucléaire et diffus au niveau de la choroïde.

Figure 51 : Coupe histologique d'un Mélanome de choroïde : Immunomarquage par Ki 67.

2)- Immunomarquage par PS100

La protéine S-100B résulte de sa libération au niveau extracellulaire au cours de processus tumoraux dans lesquels le gène de la protéine S-100B est exprimé, en particulier le mélanome malin (Gelineau MC *et al.*, 2002)



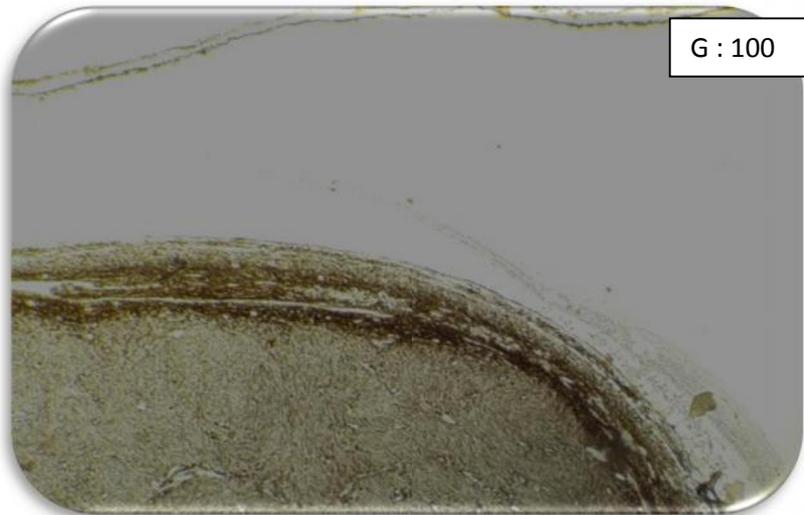
La coupe histologique d'immunomarquage par PS100 montre qu'il est fortement positif avec une localisation cytoplasme.

Figure 52: Coupe histologique d'un Mélanome de choroïde : Immunomarquage par PS100.

Chapitre III : Résultats

3)- Immunomarquage par Anti -Melan A

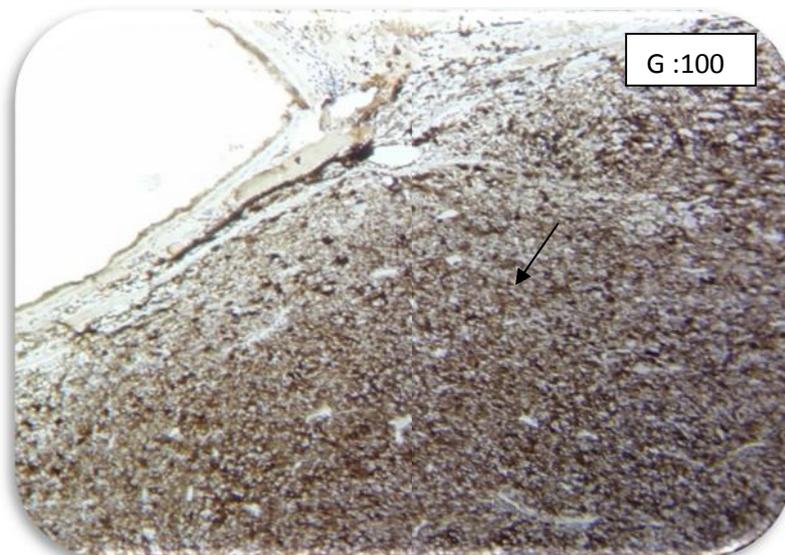
Un anticorps monoclonal qui marque 80% à 90% des mélanomes. Le marquage est souvent plus homogène que celui de l'HMB45.



L'immunomarquage par Melan A
Montre qu'il est positif avec une
localisation cytoplasmique qui
soulève la rétine.

Figure 53: Coupe histologique d'un Mélanome de choroïde : Immunomarquage par Melan A.

4)- Immunomarquage par HMB45



L'immunomarquage par HMB45
montre qu'il est positif avec une
localisation cytoplasmique.

Figure 54: Coupe histologique d'un Mélanome de choroïde après Immunomarquage par HMB 45.

Chapitre III : Résultats

Présentation d'un cas clinique

Patiente de 62 ans qui consulte en ophtalmologie pour baisse progressive d'acuité visuelle.

a)-Signe clinique

- Fond d'œil

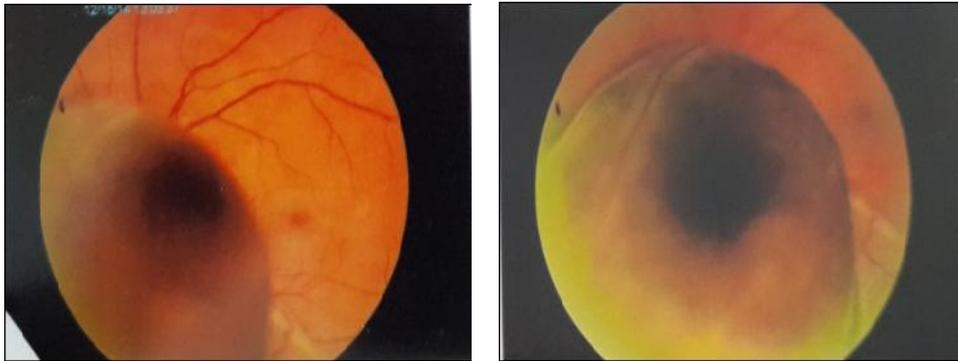


Figure 55: Fond d'œil d'un mélanome choroïdien en bouton de chemise.

-IRM

L'IRM orbitaire montre qu'il s'agit d'un mélanome choroïdien gauche avec décollement rétinien diffus secondaire, sans signe d'extension péri-oculaire. (**Figure 56**)



Figure 56 : Aspect d'IRM orbitaire d'un mélanome choroïdien gauche.

-Scintigraphie

Un renforcement hétérogène de la fixation du radiotracer intéressant le toit du cotyle gauche d'allure péjorative qu'il convient de confronter au contexte clinique et aux données radiologiques pour une meilleure analyse.

Chapitre III : Résultats

-Macroscopie

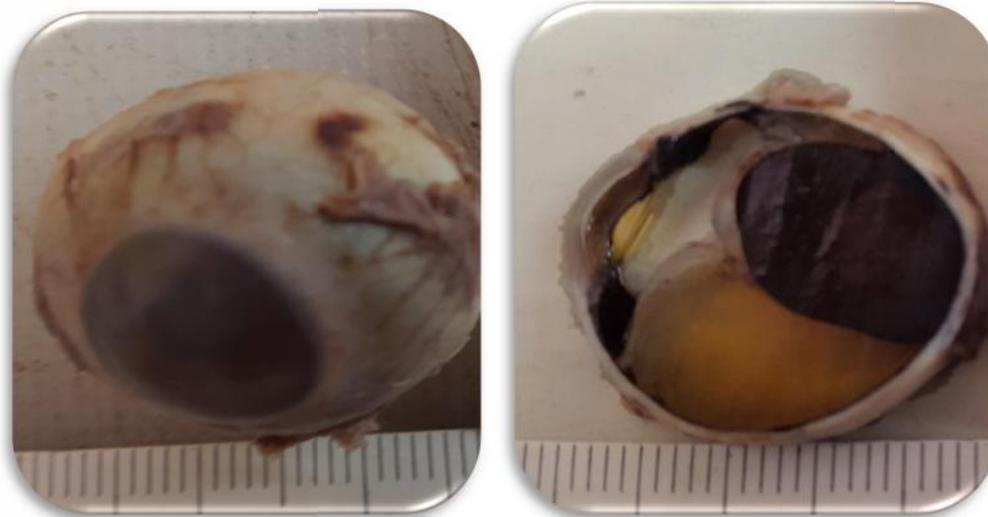


Figure 57 : Aspect macroscopique du globe oculaire de la patiente.

Le globe oculaire montre la présence d'un nodule intraoculaire noirâtre.

-Microscopie

1- Histologie



Figure 58 : volumineux mélanome noirâtre

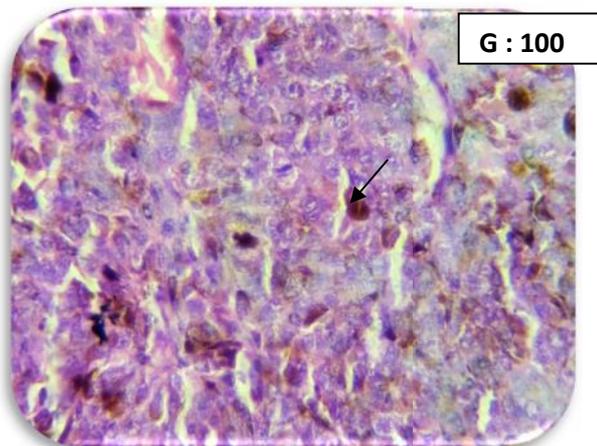


Figure 59 : coupe histologique d'un mélanome épithéloïde

2- Immunohistochimie

L'immunomarquage par Ki 67, PS100, HMB45, Melan A est positif.

Chapitre IV : Discussion

Le MU représente la tumeur intraoculaire maligne la plus fréquente dans la population adulte. De plus, 40% des MU sont asymptomatiques et sont donc diagnostiqués tardivement durant un examen ophtalmologique de routine. (Solange L., 2007)

L'objectif principal de notre travail est l'étude anatomoclinique, et facteurs histopronostiques des MU à travers une analyse rétrospective et prospective de 40 dossiers des patients atteints de MU.

IV-1-Paramètres épidémiologique

Cette étude nous a permis de colliger 40 cas de MU sur une période de 10 ans allant de 2005 à 2015. Ce chiffre ne reflète en rien l'incidence réelle de ces tumeurs en Algérie. Ceci peut s'expliquer par le biais de recrutement dû à la mise en place d'une équipe pluridisciplinaire bien entraînée à ce type de pathologie.

La répartition des patients par année montre une moyenne de 3.8 cas par an avec une légère tendance à la hausse à partir de 2012. D'après les données recueillies sur la période 1980-2005 et publiées en 2008, l'incidence définie par le nombre de nouveaux cas d'une maladie diagnostiquée sur une période donnée serait actuellement de 7400 nouveaux cas en France par an Belot et al (2008).

- Sexe et l'âge

L'âge moyen de nos patients et de 58 ans avec des limites d'âge est de 36 à 85ans.

Ce résultat est proche de celui des données L. Levecq et al(2003) qui ont trouvé une moyenne d'âge de 63 ans, et de celui de Cécile Laurent(2011) qui a trouvé un moyen ns d'âge de 55 ans.

Dans notre étude une égalité entre les hommes et les femmes avec un sexe ratio 1 alors que Solange Landrevilleen (2007) a trouvé qu'il y a une légère prédominance du MU chez les hommes (ratio homme: femme de 1.5) par contre Desjardins L et al (2007) ont trouvé que MU touche autant les femmes que les hommes.

-Répartition des patients selon le type du mélanome uvéal

Parmi les 40 cas de MU, nous avons noté une prédominance du mélanome choroïdien (93%) suivi du mélanome e (5%) puis du mélanome iridociliaire (2%) comme cela a été rapporté dans la série de Frédéric, Michel FUCHS(2005) Les mélanomes uvéaux se retrouvent donc principalement dans la choroïde (80-90%des cas), dans les corps ciliaires (7-15%) et l'iris (2-5%).

Chapitre IV : Discussion

IV-2-Etude Anatomopathologique

-Etude histologique

Dans notre étude la sclère est atteinte dans 55% des cas. Ce qui concorde avec la série de **J. Poitevin** qui a trouvé que la sclère est atteinte dans 52%. Corps ciliaire est atteint chez 20% de nos patients et un décollement de La rétine chez 35% patients,, ces données se rapprochent de celles de **J. Gambrelle et al** qui a trouvé que le corps ciliaire est atteint chez 27% et un décollement de rétine chez 41.5% des patients.

Dans notre étude 23% de MU sont à cellule épithéloïdes ,40% à cellules mixtes et 37% s fusiformes. Ceci concorde avec la série de **Jackelien van Beek et al(2013)**qui ont trouvé 5% a cellules épithéloïdes, 22% a cellules mixtes et 16% a cellules fusiformes

- Etude immunohistochimique

L'utilisation du Ki 67 (marqueur de prolifération) montre qu'il est fortement positif avec une localisation nucléaire dans les deux cas que nous avons marqué et nos résultats sont similaires à ce **Chowers I et al(2002)**.

Le marquage par HMB 45 (un anticorps monoclonal spécifique et très sensible au MU) montre qu'il est positif dans les deux cas, et il est localisé au niveau du cytoplasme ,nos résultats sont parallèles a ce **Burnier M et al. , 1991** qui ont trouvé que tous les lésions mélanocytaire uvéaux étaient positives pour HMB-45 et qu'il est un outil utile pour différencier les MU et **Jump up et al(2002)** qui ont prouvé que HMB 45 avait une sensibilité de 92% lorsqu'il est utilisé pour identifier les MU.

Le marquage par Melan A indique qu'il est surexprimé dans les deux cas et il est localisé au niveau du cytoplasme, nos résultats sont analogues avec les résultats de **Bruno Fernandes et al(2007)** qui ont trouvé que Melan A est positif dans 91,7%.

Les Protéines S100 sont des holoprotéines dimériques, se composant d'une sous unité α et d'une sous unité β , les fonctions essentielles des PS 100 sont au niveau intracellulaire la fixation du calcium intracytosolyque et au niveau extracellulaire, leur l'intérêt biologique résulte de sa libération au niveau extracellulaire au cours de processus tumoraux en particulier le MU. (**Benabdesselam O et al., 2007**)

Chapitre IV : Discussion

Le marquage par PS 100 montre qu'il est positif avec une localisation cytoplasmique dans les deux cas que nous avons étudiés. Pour Burnier M et al(1991) la PS 100 est négative dans 21% des cas.



Conclusion



Conclusion

Le tractus uvéal est la couche pigmentée de la paroi oculaire. Les MU sont considérés comme des tumeurs rares, mais ils représentent en fait 13% des décès par mélanomes, toutes localisations confondues et sont la tumeur intra oculaire maligne primitive la plus fréquente chez l'adulte.

La plupart des mélanomes iriens ont une évolution favorable et occasionnent rarement des métastases à distance contrairement aux mélanomes uvéaux postérieurs qui ont un pronostic relativement défavorable.

L'objectif de notre travail a été atteint d'une part pour la recherche des facteurs histopronostiques (le facteur de différenciation, de prolifération et de signalisation) et d'autre part de maîtriser la technique d'IHC.

Notre étude de 40 cas de MU a montré des résultats assez similaires à la plupart des études rapportées dans la littérature. Nous avons constaté un pic en [2012,2013 [soit 22%. la moyenne d'âge est de 58 ans, avec un pic de fréquence dans la tranche d'âge [55-65[soit 30% avec un sexe ratio (F/H) de 1. La localisation choroïdienne était majoritaire avec 93%. Dans notre série 40% des MU sont à cellules mixtes.

-La classification de callender modifiée à des inconvénients :

- controverse persistante sur le nombre de cellules épithéloïdes nécessaire pour que la tumeur soit considérée comme mixte.
- Résultat est difficilement reproductible même parmi des pathologistes expérimentés .

-Devant une nécrose extensive la classification de callender est difficile a appliqué.

-Les mélanomes totalement nécrotiques ont le même pronostic que les mélanomes à cellules mixtes.

-L'étude immunohistochimique utilisant les marqueurs de différenciation (Melan A, HMB45 et /ou pS100) ont permis de confirmer le diagnostic de mélanome . L'étude du marqueur de prolifération Ki67, a montré que 90% des mélanomes uvéaux avaient un indice de prolifération élevé.

-Des mutations dans le gène codant pour la sous unité α de la protéine G (GNAQ) ont été décrites dans près de la moitié des MU.

-Cette découverte pourrait mener à la découverte de nouvelles cible thérapeutique pour le mélanome uvéal dans le future



Annexes



Annexe 1: Etude histologique (étapes pré – analytique)



Figure 1 : les différentes formes des moules.



Figure 2 : une étuve



Figure 3: les paniers des lames dans l'étuve

Annexe 2 : Etude Immunohistochimique.



Figure 4 : la chambre humide



Figure 5 : une micropipette



Figure 6 : hématoxyline de Mayer



Figure 7 : la DAB

Annexe 3 : Paramètres Epidémiologiques.

N°	N° fiche	Age	Sexe	Service	Diagnostique et Histologie
1	9379/05	72	H	ophtalmo	Mélanome de la choroïde à cellules fusiforme
2	10461/05	40	F		Mélanome de la choroïde à cellules fusiforme
3	95/06	59	F	ophtalmo	Mélanome de la choroïde malin à cellules fusiforme
4	8258/06	71	F	ophtalmo	Mélanome de la choroïde à cellules fusiforme
5	7822/06	59	F	ophtalmo	Mélanome de la choroïde à cellules fusiforme
6	1738/08	45	F		Mélanome de la choroïde à cellules fusiforme
7	8519/09	67	F	maxillo	Mélanome de la choroïde de type mixte
8	4917/09	56	F		Mélanome de la choroïde de type fusiforme
9	8521/09	40	F	ophtalmo	Mélanome de la choroïde à cellules fusiforme
10	13289/10	60	F	ophtalmo	Mélanome iridociliaire de type épithéloïde
11	4133/11	48	F	ophtalmo	Mélanome de la choroïde de type mixte
12	5515/11	70	F		Mélanome de la choroïde à cellules épithéloïdes
13	7347/11	39	F	ophtalmo	Mélanome de la choroïde à cellules fusiforme
14	3125/11	49	F	ophtalmo	Mélanome de la choroïde de type mixte
15	12544/11	45	F		Mélanome de la choroïde de type mixte
16	845/11	37	F	ophtalmo	Mélanome de la choroïde à cellules mixte
17	941/11	80	F		Mélanome de la choroïde à cellules fusiforme
18	9854 /11	57	F	ophtalmo	Mélanome de la choroïde à cellules mixte
19	1391/12	67	F	ophtalmo	Mélanome choroïdiliaire à cellules mixte
20	16947/ 12	36	F	ophtalmo	Mélanome de la choroïde de type mixte
21	2400/12	45	F	ophtalmo	Mélanome de la choroïde à cellule fusiforme
22	5925/12	43	F	ophtalmo	Mélanome choroïdien à cellules mixte
23	10309/12	50	F	ophtalmo	Mélanome choroïdien à cellules fusiforme
24	8730/12	73	F	ophtalmo	Mélanome choroïdien mixte
25	10310/12	71	F	ophtalmo	Mélanome choroïdien mixte
26	10454/12	71	F	ophtalmo	Mélanome choroïdien fusiforme
27	13468/12	36	F	ophtalmo	Mélanome choroïdien de type mixte
28	14323/13	55	F	ophtalmo	Mélanome choroïdien de type mixte
29	5468/13	44	F	ophtalmo	Mélanome de la choroïde de type mixte
30	4758/13	68	F	ophtalmo	Mélanome de la choroïde de type mixte
31	9033/13	58	F	ophtalmo	Mélanome de la choroïde à cellules mixtes
32	10894/13	51	F	ophtalmo	Mélanome choroïdien à cellules épithéloïde
33	9761/13	70	F	ophtalmo	mélanome choroïdien à cellules fusiforme
34	2218/13	64	F	ophtalmo	Mélanome choroïdien à prédominance fusiforme
35	4379/14	64	F	ophtalmo	Mélanome de la choroïde à cellules mixte
36	15794/14	48	F	maxillo	Mélanome de la choroïde de type mixte
37	18427/14	63	F	ophtalmo	Mélanome choroïdiliaire à cellules fusiforme
38	19625/14	62	F	ophtalmo	Mélanome choroïdien à prédominance épithéloïde
39	8087/15	48	F	ophtalmo	Mélanome de la choroïde
40	9913/15	62	F	ophtalmo	Mélanome choroïdien à prédominance épithéloïde

Annexe 4 : Macroscopie

N°	N° fiche	Age	Sexe	Taille du globe	Taille de la tumeur	Taille du nerf optique	Siège
1	9379/05	72	H	2.5cm			Globe oculaire
2	10461/05	40	F				Globe oculaire
3	95/06	59	H	3x2.7	0.7 cm	7 mm	Globe oculaire
4	7822/06	59	H	25 mm	8X10 mm		Globe oculaire
5	8258/06	71	H	22 cm	10x5 mm		Globe oculaire
6	1738/08	45	F	28 mm	3mm	3mm	Globe oculaire
7	8519/09	67	H	2,5 cm	1cm		Pièce d'énucléation
8	8521/09	40	H	2,5 cm		0,5cm	Enucléation de l'œil droite
9	4917/09	56	F	25mm	(20x5mm)	5mm	Globe oculaire
10	13289/10	60	F	2X1,5 cm	1 cm	0,5 cm	œil gauche
11	4133/11	48	H	2.5cm	1.8cm	02mm	Globe oculaire
12	5515/11	70	F	27mm		4mm	Globe oculaire
13	7347/11	39	H	(2.2x1.9cm)	(0.8x1cm)		Globe oculaire
14	3125/11	49	H	2.7cm	(3x0.5cm)	sans nerf optique	Enucléation de l'œil droit
15	12544/11	45	F	27mm	17mm	3mm	Enucléation d'œil gauche
16	9854 /11	57	H	3X2 cm		0,8 cm	Enucléation de l'œil droit
17	941/11	80	H	25mm	(10x7mm)	1mm	Globe oculaire
18	845/11	37	H	2,5 cm	1,5X1,2 cm	02 mm	Globe oculaire
19	5925/12	43	F	25 mm	19mm	9 mm	Globe oculaire
20	16947/ 12	36	F	27 mm	1X0, 6 cm		globe oculaire
21	2400/12	45	F	2,5 cm	1cm	05 mm	Globe oculaire
22	1391/12	67	F	2,5 cm		03 mm	Globe oculaire
23	10309/12	50	H	3X2, 5x2 cm			Globe oculaire
24	8730/12	73	H	3,5 cm	1,8 cm	05 mm	Globe oculaire
25	10310/12	71	F	3X2, 5x2 cm	2X1 cm	9 mm	Globe oculaire
26	10454/12	71	F	02 cm	1 cm	0,5 cm	Globe oculaire
27	13468/12	36	F	2,5 cm	2,1 X 1 cm	1,5 cm	Globe oculaire
28	14323/13	55	H	2,5 cm	1cm	3 mm	Globe oculaire
29	5468/13	44	F	2,5 cm	2X1,2 cm	20 mm	Globe oculaire
30	4758/13	68	F	2,5 cm	(1,5 x1cm)	3mm	Enucléation de l'œil droite
31	2218/13	64	F				œil + tumeur
32	9033/13	58	H	27 mm	1X0, 6 cm		Globe oculaire
33	9761/13	70	H	3,5 cm	1,3X1 cm	0,7 cm	énucléation
34	10894/13	51	F	2 cm	18X10 mm		(œil gauche)
35	4379/14	64	H	27cm			Globe oculaire
36	18427/14	63	H	3X2X2 cm	2X1, 5cm	5mm	Globe oculaire
37	15794/14	48	F	(5X3X4) cm		(2X0.7) cm	Globe oculaire
38	19625/14	62	F	2,5 cm	4mm	1,5X1	Globe oculaire
39	8087/15	48	F	2,5 cm	3mm	2X1cm	Globe oculaire
40	9913/15	62	H	03cm	12mm	7mm	énucléation

Annexe 5 : Microscopie.

N°	N° fiche	Age	Sexe	Sclère	Choroïde	Iris	Corps ciliaire	Nerf Optique	Rétine	Chambre antérieure
1	9379/05	72	H	-	+	-	-	-	+	-
2	10461/05	40	F	-	+	-	+		+	-
3	95/06	59	H	-	+	-	-	-	-	-
4	7822/06	59	H	+	+	-	-	-	-	-
5	8258/06	71	H	+	+	-	-	-	-	-
6	1738/08	45	F	+	+	-	-	-	-	-
7	8519/09	67	H	+	+	-	-	-	-	-
8	8521/09	40	H	+	+	-	+	-	-	-
9	4917/09	56	F	-	+	-	-	-	-	-
10	13289/10	60	F	-	-	+	+	-	-	-
11	4133/11	48	H	+	+	-	-	-	-	-
12	5515/11	70	F	+	+	-	-	-	-	-
13	7347/11	39	H	+	+	-	-	-	-	-
14	941/11	80	H	+	+	-	-	-	+	-
15	12544/11	45	F	+	+	-	-	-	-	-
16	845/11	37	H	-	+	-	-	-	+	-
17	9854/11	57	H	+	+	-	-	+	-	-
18	3125/11	49	H	+	+	-	-	-	-	-
19	1391/12	67	F	-	+	-	+	+	+	-
20	16947/12	36	F	+	+	-	-	+	-	-
21	5925/12	43	F	+	+	-	-	-	-	-
22	2400/12	45	F	+	+	-	-	-	-	-
23	10309/12	50	H	-	+	-	-	-	-	-
24	8730/12	73	H	+	+	-	-	+	-	-
25	10310/12	71	F	-	+	-	-	-	-	-
26	10454/12	71	F	-	+	-	-	-	+	-
27	13468/12	36	F	-	+	-	+	-	-	+
28	9761/14	70	H	-	+	-	+	-	+	-
29	5468/13	44	F	-	+	-	-	-	+	-
30	4758/13	68	F	+	+	-	-	-	+	-
31	2218/13	64	F	+	+	-	-	-	-	-
32	14323/13	55	H	-	+	-	-	-	+	-
33	9033/13	58	H	+	+	-	-	-	-	-
34	10894/13	51	F	+	+	-	-	-	-	-
35	4379/15	64	H	-	+	-	-	-	+	-
36	15794/14	48	F	+	+	-	-	-	-	-
37	18427/14	63	H	-	+	-	+	-	+	-
38	19625/14	62	F	+	+	-	+	-	+	+
39	8087/15	48	F	-	+	-	-	-	-	-
40	9913/15	62	H	-	+	-	-	-	+	-

Annexe 6 : types cellulaires.

N°	N° fiche	Sexe	Age	Cellules fusiformes	Cellules mixte	Cellules épithéloïdes
1	9379/05	H	72	+		
2	10461/05	F	40			+
3	95/06	H	59	+		
4	7822/06	H	59	+		
5	8258/06	H	71	+		
6	1738/08	F	45	+		
7	8519/09	H	67		+	
8	8521/09	H	40	+		
9	4917/09	F	56	+		
10	13289/10	F	60			+
11	4133/11	H	48		+	
12	5515/11	F	70			+
13	7347/11	H	39	+		
14	845/11	H	37		+	
15	12544/11	F	45		+	
16	3125/11	H	49		+	
17	9854 /11	H	57		+	
18	941/11	H	80			+
19	1391/12	F	67		+	
20	16947/ 12	F	36		+	
21	5925/12	F	43		+	
22	2400/12	F	45	+		
23	10309/12	H	50	+		
24	8730/12	H	73		+	
25	10310/12	F	71		+	
26	10454/12	F	71	+		
27	13468/12	F	36		+	
28	14323/13	H	55			+
29	5468/13	F	44		+	
30	4758/13	F	68		+	
31	9033/13	H	58		+	
32	2218/13	F	64	+		
33	9761/13	H	70	+		
34	10894/13	F	51			+
35	4379/14	H	64		+	
36	18427/14	H	63	+		
37	15794/14	F	48			+
38	19625/14	F	62			+
39	8087/15	F	48			
40	9913/15	H	62			+

Annexe 7 : Degré de pigmentation, nécrose et vascularisation.

N°	N° fiche	sexe	âge	pigmentation			Nécrose	vascularisation
				Peu pigmenté	Bien pigmenté	fortement pigmenté		
1	9379/05	H	72			+	-	-
2	10461/05	F	40			+	+	-
3	95/06	H	59			+	-	+++++
4	7822/06	H	59			+	-	-
5	8258/06	H	71			+	-	+
6	1738/08	F	45			+	-	-
7	4917/09	F	56			+	-	++
8	8519/09	H	67		+		+++	-
9	8521/09	H	40		+		-	-
10	13289/10	F	60		+		-	+
11	941/11	H	80		+		-	-
12	5515/11	F	70			+	-	++
13	7347/11	H	39	+			-	-
14	3125/11	H	49	+			-	-
15	4133/11	H	48			+	-	+++++
16	12544/11	F	45	+			-	-
17	9854 /11	H	57	+			-	+
18	845/11	H	37		+		+	-
19	5925/12	F	43		+		-	+
20	16947/ 12	F	36		+		+	-
21	2400/12	F	45	+			-	-
22	1391/12	F	67			+	-	-
23	10309/12	H	50		+		-	-
24	8730/12	H	73			+	++	++
25	10310/12	F	71		+		-	-
26	10454/12	F	71		+		-	-
27	13468/12	F	36			+	-	-
28	14323/13	H	55		+		-	++
29	5468/13	F	44		+		-	-
30	2218/13	F	64			+	-	+++++
31	9761/13	H	70			+	-	-
32	4758/13	F	68		+		-	++
33	9033/13	H	58			+	+++++	+++++
34	10894/13	F	51	+			-	+++++
35	4379/14	H	64			+	-	+
36	18427/14	H	63			+	-	-
37	15794/14	F	48		+		+	+
38	19625/14	F	62		+		-	++
39	8087/15	F	48					
40	9913/15	H	62		+			+++

Annexe 8 : Classification TNM/AJCC

Mélanome de la choroïde et de corps ciliaire

PTX	Impossible d'évaluer la tumeur primitive
PTO	Absence de tumeur primitive
PT1	Taille tumorale de catégorie 1
PT1a	Sans invasion de corps ciliaire et extension extra oculaire
PT1b	Avec invasion du corps ciliaire
PT1c	Sans invasion de corps ciliaire mais avec extension extra oculaire ≤ 5 mm de diamètre
PT1d	Avec invasion de corps ciliaire et extension extra oculaire ≤ 5 mm de diamètre
PT2	Taille tumorale de catégorie 2
PT2a	Sans invasion de corps ciliaire et extension extra oculaire
PT2b	Avec invasion de corps ciliaire
PT2c	Sans invasion de corps ciliaire mais avec extension extra oculaire ≤ 5 mm de diamètre
PT2d	Avec invasion de corps ciliaire et extension extra oculaire ≤ 5 mm de diamètre
PT3	Taille tumorale de catégorie 3
PT3a	Sans invasion de corps ciliaire et extension extra oculaire
PT3b	Avec invasion de corps ciliaire
PT3c	Sans invasion de corps ciliaire mais avec extension extra oculaire ≤ 5 mm de diamètre
PT3d	Avec invasion de corps ciliaire et extension extra oculaire ≤ 5 mm de diamètre

Annexe 9 : Classification TNM/AJCC

Mélanome de l'iris, 7 e édition classification 2009

pTX	Impossible d'évaluer la tumeur primitive
PT0	Absence de la tumeur primitive
PT1	Mélanome limité à l'iris
PT1a	surface ≤ 3 heures
PT1b	Surface > 3 heures
PT1c	Avec glaucome mélanocytique
PT2	Mélanome confluent s'étendant dans le corps ciliaire, la choroïde ou les 2
PT2a	Avec glaucome secondaire
PT3	Mélanome confluent s'étendant dans le corps ciliaire, la choroïde ou les 2, avec extension sclérale
PT2a	Avec glaucome secondaire
PT4	Mélanome avec extension extra -sclérale
PT4a	≤ 5 mm de diamètre
PT4b	> 5 mm de diamètre
pNX	Statut ganglionnaire non évaluable
PN0	Absence de métastase ganglionnaire
PN1	Métastase ganglionnaire régionale
PM0	Absence de métastase à distance
PM1	Métastase à distance



Références bibliographiques



Références bibliographiques

- Bauer et al., 2009** : Bauer, J., Kilic, E., Vaarwater, J., et al. (2009). Oncogenic GNAQ mutations are not correlated with disease-free survival in uveal melanoma. *Br J Cancer*, Vol. 101, No. 5, pp. 813-815.
- **Benabdesselam O et al., 2007** : Benabdesselam O, Ziani S, Beaudoux JL. La protéine S-100B : biomarqueur de diagnostic et de suivi de lésions cérébrales aiguës. *Spectra Biol* 2007 ; No 158 : 40-45. Gelineau MC, Badel N, Denis I, Thomas L, Poggi B. Suivi biologique du mélanome humain par deux marqueurs sériques : MIA et PS100 β . *Immunoanal Biol Spéc* 2002 ; 17 : 153-159.
- Buecher B et al., 2010** : *Buecher B , Gauthier-Villars M , L Desjardins , Lumbroso-Le Rouic L , C Levy , De Pauw A , J Bombléd , Tirapo C , C Houdayer , Bressac-de Paillerets B , Stoppa-Lyonnet D .*
- **Burnier M et al. , 1991**: Burnier MN Jr , McLean IW , Gamel JW .Département de pathologie ophtalmique, Institut de pathologie des forces armées, Washington, DC 20306-6000 .*Cancer* 1991 15 août; 68 (4): 809-14.
- Bruno Fernandes et al., 2007** : Bruno Fernandes F ' Alexandre N Odashiro ' Vinicius S Saraiva ' Patrick Logan ' Emilia Antecká ' Miguel Burnier N Jr Département d'ophtalmologie et de pathologie, le Centre universitaire de santé McGill et Henry C, Witelson Laboratoire de pathologie oculaire, Montréal, Canada; Département d'ophtalmologie de l'Université fédérale de São Paulo, UNIFESP / EPM, São Paulo, au Brésil, Département d'ophtalmologie et de pathologie, le Centre universitaire de santé McGill et Henry C, Witelson Laboratoire de pathologie oculaire, Montréal, Canada 2007.
- **Callender GR, 1931**: Callender GR. Malignant melanotic tumors of the eye: a study of histologic types in 111 cases. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol* 1931; 36:131–141)
- **Callender GR, 1935**: Callender GR, Wilder HC. Melanoma of the choroid: the prognostic significance of argyrophil fibers. *Am J Cancer* 1935;25:251–25).
- **cecile laurent , 2011** : caractérisation de marqueurs moléculaires associés à un haut risque de développement de métastases chez des patients atteints du mélanome de la choroïde. Agricultural sciences. Université paris sud - paris xi.

-**Chiesa C, 2005** : Petite Approche Rédigée Par Carlo Chiesa.

-**Chowers I et al., 2002**: Chowers I, Folberg R, Livni N, Pe'er J. p53 Immunoreactivity, Ki-67 expression, and microcirculation patterns in melanoma of the iris, ciliary body, and choroid. *Curr Eye Res*, 2002;24:105-8.

- **Christine L, 2012** : Christine Longvert. Rôle de NRAS et PTEN au cours de la melanomagenese. Agricultural 00787304> HAL

- **Couf A, 2013** : Collège Des Ophtalmologistes Universitaires De France.

- **Dendale R, 2006**: Proton beam radiotherapy for uveal melanoma: results of Curie Institut-Orsay proton therapy center (ICPO). » Dendale R et coll. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1er juillet 2006, 65(3):780-7.

-**Desjardins L et al., 2003**: Treatment of uveal melanoma with iodine 125 plaques or proton beam therapy: indications and comparison of local recurrence rates » Desjardins L et coll. *J Fr Ophtalmol*. Mars 2003, 26(3):269-76.

- **Desjardins L, 2007** : dossier de presse institut Curie 7 avril 2007

- **(Dessen P, 2002)**: Dessen P, Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol 2002

-**Frédéric et Francine, 2009** : Frédéric Guénard, Francine Durocher 2009

Laboratoire de génomique du cancer, de l'oncologie et du Centre de recherche en endocrinologie moléculaire, CRCHUL, CHUQ et de l'Université Laval, Québec, G1V 4G2, Canada

- **Gerhard K, 2002** : Atlas De Poche Ophtalmologie, Gerhard K. Lang, Edition Maloine 2002

- **(Griewank KG et al., 2011)**: Griewank, KG; Vemula, S; Bastian, BC .Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol. 2011; 15(10):828-830.

- **Harvey et al., 2013** : KF Harvey, X. Zhang, DM Thomas. *Nat. Cancer Rev.* 2013; 13: 246-257.

-**Hamrouni Z et al., 2005**: Results of treating uveal melanoma with proton beam radiation: 10-year follow-up » Hamrouni Z et coll. *J Fr Ophtalmol*. Octobre 2005, 28(8):833-9

- **Herlyn & Nathanson, 2010**: Herlyn, M. & Nathanson, K.L. (2010). Taking the guesswork out of uveal melanoma. *N Engl J Med*, Vol. 363, No. 23, pp. 2256-2257.

- **Jackelien van Beek** , Anna Koopmans; Jolanda Vaarwater; Annelies de Klein; Robert Verdijk; Emine Kilic,**2013**: Extraocular extension in uveal melanoma

-**John S, 2003:** Eye Diseases In Hot Climates, John Sandford-Smith, Fourth EDITION ELSEVIER 2003.

- **Jump up et al., 2002 :** Jump up Mahmood, M. N.; Lee, M. W.; Linden, M. D.; Nathanson, S. D.; Hornyak, T. J.; Zarbo, R. J. (2002). "Diagnostic Value of HMB-45 and Anti-Melan a Staining of Sentinel Lymph Nodes with Isolated Positive Cells". *Modern Pathology* **15** (12): 1288–1293. doi:[10.1097/01.MP.0000037313.33138.DF](https://doi.org/10.1097/01.MP.0000037313.33138.DF). PMID [12481009](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12481009/). edit

-**Liu-Chittenden et al., 2012 :** Y. Liu-Chittenden, B. Huang, JS Shim, Q. Chen, SJ Lee, RA Anders, JO Liu, D. Pan *Genes Dev* 2012; 26:... 1300-1305 Crossref.

- **MARC-Henri, 2014 :** Marc-Henri Stern, Département de recherche translationnelle, Institut Curie, Paris 75248, France 2014.

-**McLean IW et al., 1983 :** McLean IW, Foster WD, Zimmerman LE. Modifications of Callender's classification of uveal melanoma at the Armed Forces Institute of Pathology. *Am J Ophthalmol* 1983;96: 502–509)

- **Martin M et al., 2013 :** Martin, M; Maßhöfer, L; Temming, P; Rahmann, S; Metz, C; Bornfeld, N; Van De Nes, J; Klein-Hitpass, L; Hinnebusch, AG; Horsthemke, B; Lohmann, DR; Zeschnigk, M (2013). "Séquençage Exome identifie mutations somatiques récurrents dans EIF1AX et SF3B1 dans le mélanome de l'uvée avec disomie 3" *Nature Genetics* **45** (8):. 933-6. doi : 10.1038 / ng.2674 . PMID 23793026

- **Onken et al., 2008:** Onken, M.D., Worley, L.A., Long, M.D., et al. (2008). Oncogenic mutations in GNAQ occur early in uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, Vol. 49, No. 12, pp. 5230-5234.

- **Ryu B et al., 2007:** Ryu B, Kim DS, DeLuca AM, Alani RM (2007) Comprehensive Expression Profiling of Tumor Cell Lines Identifies Molecular Signatures of Melanoma Progression. *Molecular Melanoma Signatures*. 2007, p 1-13

- **Solange L, 2007 :** Solange landreville identification et caractérisation partielle de gènes spécifiques à la tumeur primaire du mélanome uvéal.

- **Swapna V et al., 2011:** Swapna Vemula, Klaus Griewank, Boris C Bastian 2011

Département de pathologie, Université de Californie, San Francisco, CA, USA (SV); Département de pathologie et humaines Programme d'Oncologie et la pathogenèse, le Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, NY, USA (KG, BCB)

-**Van Raamsdonk et al., 2009:** Van Raamsdonk, C.D., Bezrookove, V., Green, G., et al. (2009). Frequent somatic mutations of GNAQ in uveal melanoma and blue naevi. *Nature*,

Vol. 457, No. 7229, pp. 599-602.

-Van Raamsdonk et al., 2010: Van Raamsdonk, C.D., Griewank, K.G., Crosby, M.B., et al. (2010). Mutations in GNA11 in uveal melanoma. *N Engl J Med*, Vol. 363, No. 23, pp. 2191-2199.

- Zografos L, 2002 : Zografos L. Tumeurs intraoculaires. Paris: Masson; 2002.

-Zhao L et al., 2014 : Zhao L, Yu FX, Luo J, Mo JS, Liu G, Kim YC, Meng Z, Peyman G, Ouyang H, Jiang W, Zhao J, Chen X, Zhang L, Wang CY, Bastian BC, Zhang K, Guan KL

16 juin 2014; 25 (6): 822-30.