



Le Journal de

Rétinostop

Compte rendu de l'Assemblée Générale du 26 janvier 2002

Accueil : Madame FRICAUD-CHAGNAUD, assistante sociale au service de pédiatrie à l'Institut Curie

Madame FRICAUD-CHAGNAUD parle de son travail d'assistance et tient à énoncer 3 avancées dans l'aide apportée aux parents :

- Tout d'abord, la création d'un petit fascicule destiné aux parents avec le mode d'emploi pour tous les problèmes auxquels ils peuvent être confrontés sur les plans pré-scolaire, scolaire et matériel.

La plupart du temps les parents de province se sentent isolés. Ce petit fascicule servira de relais avec les parents d'enfants atteints ; ces enfants qui restent souvent peu de temps en hospitalisation et qui n'ont pas toujours de contact avec l'assistante sociale dès les premiers rendez-vous à Curie.

La chose importante pour les parents c'est de solliciter les Commissions Départementales d'Education Spécialisée locales qui ont pour mission de renseigner et de prendre rendez-vous avec les médecins et les équipes techniques. Il est impensable de recevoir par exemple des décisions d'Allocation d'Education Spécialisée (A.E.S) sans explication.

- Ensuite, grâce à un collectif d'associations qui ont eu des actions depuis plusieurs années auprès du ministère de la solidarité, nous avons relevé un grand nombre de plaintes des parents par rapport aux A.E.S. A pathologie égale, dans un département, vous pouvez avec telle allocation bénéficier d'un complément et dans un autre non. Il semblerait y avoir une refonte en cours au niveau des compléments

accordés. La prise en compte des situations familiales sera beaucoup plus fine.

- Enfin, une nouvelle prestation, l'APP (Allocation de Présence Parentale), permet à un des parents dont l'enfant est atteint soit d'une maladie grave, soit d'un accident, soit d'un handicap de pouvoir suspendre son activité avec reconnaissance dans le code du travail.

L'employeur ne peut refuser cette demande au vu d'un certificat médical.

De par sa fonction, Mme Fricaud-Chagnaud essaie d'optimiser l'accueil en service de pédiatrie (toute profession confondue) tant pour les enfants que pour les parents avec l'aide précieuse de l'Association des Parents et Amis des Enfants Soignés à l'Institut Curie (A.P.A.E.S.I.C) qui rend un service réel aux parents et qui permet surtout une rapidité d'intervention.

Mot de la Présidente : Madame Martine LORRAIN

Ce matin, en venant dans la voiture, mon frère, le trésorier, m'a dit : « tu as préparé quelque chose ? » ; j'ai répondu : « non... ».

Quoi vous dire de plus ? Tous les ans, je vous remercie d'être toujours plus nombreux à venir à cette assemblée. Le nombre grandissant d'adhérents devient difficile à gérer, nous avons besoin de bénévoles...

Des bénévoles prêts à aider au secrétariat, à faire partie du conseil d'administration en prévision des élections de la prochaine Assemblée Générale. Après une mise à jour de nos fichiers, nous pouvons annoncer que nous sommes environ 600.

Un grand merci aux médecins qui font un travail énorme. Si nous sommes là parents, c'est pour les aider mais s'ils n'avaient pas eu la volonté de faire naître et vivre cette association, nous n'en serions pas là aujourd'hui.

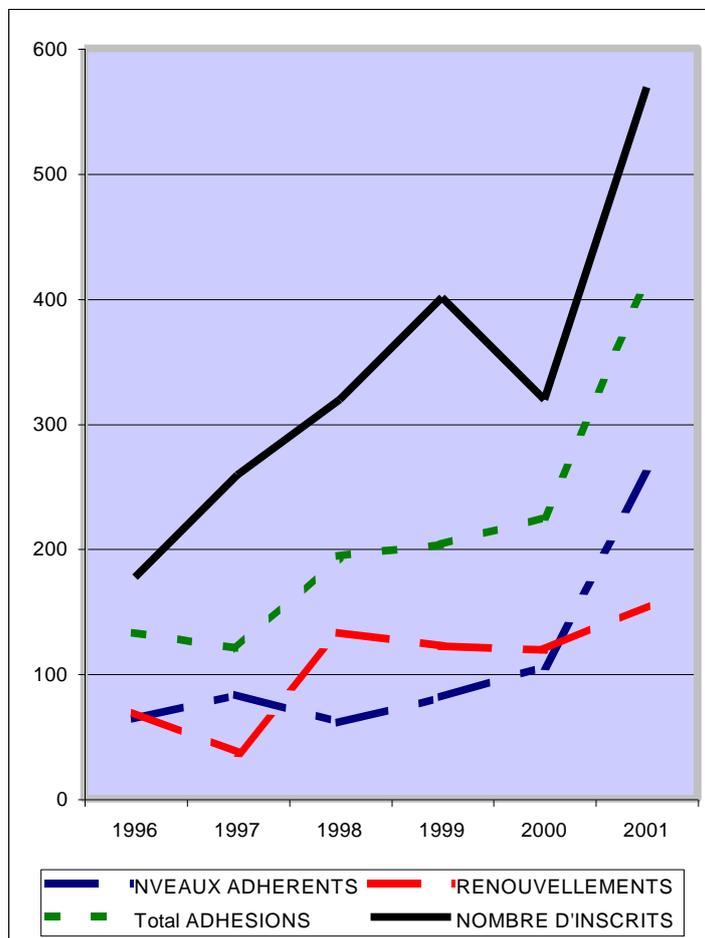
Merci à tous et je souhaite qu'il y ait une très bonne assemblée.

Monsieur Denis ADAM, trésorier de RETINOSTOP

Bilan financier

ADHESIONS

	1996	1997	1998	1999	2000	2001
NVEAUX ADHERENTS	64	83	61	81	106	259
RENOUVELLEMENTS	69	37	133	122	119	154
Total ADHESIONS	133	120	194	203	225	413
NOMBRE D'INSCRITS	177	259	319	401	319	569



COMPTES 2001

	2000		2001			2001 Variation en % 2001/2000
	En Francs		En Francs			
	REALISE	En %	REALISE	PREVISIONNEL	En %	
RECETTES						
Dons	47 642,00 F	52%	167 371,00 F	55 000,00 F	69%	251,31%
Nouvelles adhésions	10 600,00 F	12%	25 900,00 F	11 000,00 F	11%	144,34%
Renouvelts adhésions	11 900,00 F	13%	15 400,00 F	14 000,00 F	6%	29,41%
Manifestations	20 129,00 F	22%	31 464,00 F	25 000,00 F	13%	56,31%
Ventes d'objets/autres	1 470,00 F	2%	3 685,00 F	2 000,00 F	2%	150,68%
Total recettes	91 741,00 F	100%	243 820,00 F	107 000,00 F	100%	
DEPENSES						
Fonctionnement	15 137,10 F	16%	23 025,00 F	20 000,00 F	17%	52,11%
Achat pour revente		0%			0%	
Divers	81 826,12 F	84%	113 400,00 F	100 000,00 F	83%	38,59%
Total dépenses	96 963,22 F	100%	136 425,00 F	120 000,00 F	100%	
SOLDE DE L'ANNEE	-5 222,22 F		107 395,00 F	- 13 000,00 F		

BUDGET 2002

	2001			2002		
	REALISE			PREVISIONNEL		
	En Francs	EN EURO	En %	En Francs	EN EURO	En %
RECETTES						
Dons	167 371,00 F	25 516,00 €	69%	70 000 F	10 671,00 €	43%
Nouvelles adhésions	25 900,00 F	3 948,00 €	11%	32 798 F	5 000,00 €	20%
Renouvelts adhésions	15 400,00 F	2 348,00 €	6%	26 238 F	4 000,00 €	16%
Manifestations	31 464,00 F	4 797,00 €	13%	30 000 F	4 573,00 €	18%
Ventes d'objets/autres	3 685,00 F	56,00 €	2%	5 000 F	762,00 €	3%
Total recettes	243 820,00 F	36 665,00 €	100%	164 036 F	25 007,13 €	100%
DEPENSES						
Fonctionnement	23 025,00 F	3 510,00 €	17%	28 000 F	4 269,00 €	16%
Achat pour revente			0%			0%
Divers	113 400,00 F	17 288,00 €	83%	150 000 F	21 343,00 €	84%
Total dépenses	136 425,00 F	20 798,00 €	100%	178 000 F	27135,93 €	100%
SOLDE DE L'ANNEE	107 395,00 F	15 867,00 €		-13 964 F-	2128,80 €	

Bilan d'activité : Laurence BONNIN / Catherine BOTHOREL, Secrétaires

Parmi les projets évoqués pour l'année 2001 plusieurs ont vu le jour, notamment :

- Une aide financière pour le mi-temps de Mme Delage psychologue afin d'améliorer l'accueil et l'information des parents ainsi qu'un suivi psychologique.

- Une aide à Mme Stoppa Lyonnet en génétique constitutionnelle pour ses travaux de recherche.

Près des deux tiers des anomalies génétiques sont actuellement identifiées.

- Des aides ponctuelles matérielles ont pu aussi être apportées au cours de l'année.

Au cours de cette année, le Bureau s'est réuni 2 fois dont une fois avec le Conseil d'Administration (C.A). La prochaine réunion du Bureau et du C.A s'est déroulée le samedi 25 mai 2002.

Bienvenue à Mr Adam au poste de trésorier.

- 3 cross ont été organisés : en mars, octobre et novembre. Ces manifestations ont mobilisé près de 1700 enfants du primaire au collège parrainés par 4 joueurs du FC Metz et par un médaillé d'argent aux Jeux Olympiques Handisports à Sydney en 2000 en tennis de table.

Cela a nécessité un investissement personnel et familial important de la part de notre Présidente. Les dons récoltés s'élevant à 49500F ont été entièrement reversés à Rétinostop.

Martine vous parlera du déroulement de ces cross afin de donner des idées aux adhérents qui souhaitent s'investir.

- Une journée « Nez Rouges » a été organisée avec l'aide de Mme Piault, représentante régionale de la Fédération des Maladies Orphelines (F.M.O) à Metz. Mme Plais-Richard, représentante nationale de la F.M.O est venue à Metz le 1^{er} décembre pour la soirée de remerciements des bénévoles.

- Un grand merci à Mr Doz pour un don important, en effet celui-ci récompensé pour son travail d'équipe a reversé cet argent à l'association.

- Grâce à notre correspondant d'île de France, une conférence sur le Rétinoblastome a eu lieu à Rambouillet en octobre ; Mme Desjardins et Mme Delage y ont participé.

- Pour ce qui est de notre reconnaissance d'Utilité Publique : le projet a été soumis aux membres du CA qui l'ont approuvé, mais ont jugé cette démarche encore trop prématurée, ... affaire à suivre.

Nos projets 2002 vont dans plusieurs directions. Nous les aborderons plus tard.

Je laisse la parole à **Martine LORRAIN** qui va vous parler des cross :

« La réussite passe d'abord par une bonne information auprès des élèves et n'importe quelle personne peut le faire.

Je me sers des cassettes des émissions « Savoir plus santé » qui sont passées il y a quelques années et dans les 2 émissions on voit Madame Desjardins.

En 4 mois, j'ai pu ainsi voir 1800 élèves très intéressés. »

Madame DELAGE : Psychologue à l'Institut Curie

J'ai le plaisir de vous dire que l'étude consacrée au vécu des parents dont l'enfant est atteint d'un Rétinoblastome se déroule bien. Elle doit se dérouler sur 2 ans. Au cours de cette année 2001 j'ai pu rencontrer 51 familles sur les 54 dont les enfants ont été traités à Curie.

J'ai distribué des questionnaires très précis concernant la qualité de l'information qui est donnée à Curie et l'accueil des parents et des enfants.

Cette étude a été très bien acceptée à part 2 familles qui n'ont pas souhaité y répondre. Le recueil de données se fait actuellement. J'ai également eu des entretiens avec ces mêmes personnes.

Ces entretiens ont été un peu plus compliqués à mettre en œuvre surtout pour les familles venant de Province (il leur était difficile de consacrer une heure de leur temps).

Cette expérience a été très riche, les informations seront très précieuses pour tout le monde.

Monsieur DOZ - Madame DESJARDINS : Projets 2002

Monsieur Doz :

« Avant de présenter les projets, je voudrais apporter deux précisions :

- la première concerne le prix qui a été accordé par le Comité Départemental des Hauts de Seine 93 de la Ligue contre le cancer. S'il est vrai que c'est moi qui ai soumis cette candidature à ce prix, je ne l'ai pas fait à mon titre personnel évidemment. J'ai été l'ambassadeur des équipes d'ophtalmologie, de pédiatrie, de génétique (à la fois

sur le plan de l'approche génétique de l'individu et tumorale elle-même) et du laboratoire de biologie moléculaire des tumeurs de l'Institut Curie.

- petit rappel sur le rôle difficile du correspondant régional d'un point de vue émotionnel : lorsqu'on est proche de la période du diagnostic cela rend difficile l'aide apportée aux autres. Notre expérience médicale peut nous amener à déconseiller, pour une période donnée, à tel ou tel parent d'assumer ce rôle d'écoute et d'aide qui serait trop lourd à assumer. »

Monsieur DOZ :

« Nous allons donc faire un sort aux 150.000F » en aidant le projet de Madame STOPPA - LYONNET et son équipe, Monsieur COUTURIER en cytogénétique et Monsieur MAILLARD dans ses travaux de photothérapie dynamique ainsi que le projet de dépistage par photo-flash.

➔1^{er} projet : Développement des nouveaux traitements photo dynamiques

Madame DESJARDINS : Ophtalmologiste à l'Institut Curie

Depuis 7 ans, nous observons une avancée thérapeutique importante dans le rétinoblastome. C'est la mise au point de la thermochimiothérapie et qui permet maintenant d'éviter l'irradiation pour à peu près 60% des yeux traités, c'est un très grand progrès. Cette méthode utilise du carbo-platine qui a une certaine toxicité même s'il est relativement bien toléré.

Le but de ces études qui vont être lancées, je l'espère très vite d'abord sur l'animal, bien sûr, c'est de mettre au point un traitement qui va permettre d'utiliser des médicaments qui rendent la tumeur sensible à la lumière de façon importante. Ces traitements avaient déjà été essayés il y a au moins une dizaine d'années mais on avait arrêté de les utiliser car les molécules photosensibilisantes restaient trop longtemps dans l'organisme de l'enfant ce qui le privait de sorties pendant 3 mois.

Monsieur MAILLARD : Chimiste travaillant dans un laboratoire qui dépend de l'Institut Curie dans le site du Campus d'Orsay.

Les traitements conservateurs non toxiques du Rétinoblastome restent un défi difficile à relever ceci étant dû aux effets secondaires inhérents à la chimiothérapie ou à la radiothérapie. La thérapie photodynamique ou PDT est considérée, depuis peu, comme une méthode alternative de traitement moins agressive. Cependant, à l'heure actuelle, le seul colorant utilisable en clinique, le HpD (pour HématoPorphyrin Dérivatives) induit lui-aussi des effets secondaires tels qu'une photosensibilisation générale et ne peut être appliqué à une situation clinique chez l'enfant. Nous suggérons que l'utilisation de nouveaux colorants soit une approche

innovante.

Historique

2000 ans avant J.-C. Egypte ancienne

Extrait de plantes contenant des psoralènes + soleil ≡ traitement du vitiligo

1900 Raab Acridine orange + lumière ≡ létal pour les paramécies

1903 Trappeiner ≡ 1^{er} traitement d'une tumeur de la peau par éosine + lumière

1909 Hausman ≡ Localisation sélective des porphyrines dans les tumeurs

1924 Policard ≡ détection de la fluorescence de porphyrines endogènes

1961-1968 Lipson ≡ traitement de tumeurs cancéreuses du poumon par photochimiothérapie

(HpD), début de la PDT antitumorale

1986 Dougherty ≡ PhotofrinII composé utilisé en clinique

Le principe : le photosensibilisateur est injecté par voie intraveineuse. On attend quelques heures et ce produit va se localiser dans la tumeur. Ensuite par une lumière émise par un laser de longueur d'onde de couleur bien précise, on peut introduire ce produit à l'intérieur de la tumeur toxique. L'association de la lumière et du produit sur la tumeur induit la nécrose de la tumeur.

Ce système est simple, non agressif, non douloureux et ne demande pas d'hospitalisation.

En effet, on fait une injection intraveineuse, on attend 1 à 48 heures, puis quelques minutes de laser, puis on peut rentrer chez soi.

Depuis plusieurs années, l'équipe de chimie de l'Institut Curie développe la synthèse et l'étude de l'activité phototoxique de colorants glycoconjugués. L'étude systématique de ceux-ci, comme photosensibilisateur anti-tumoral, nous a permis de mieux comprendre l'influence des sucres sur leur propriété photocytotoxique *in vitro*.

Parmi les nombreuses molécules préparées au laboratoire, les dérivés substitués par trois ou quatre sucres présentent des propriétés photobiologiques intéressantes. Nous présentons ici les résultats obtenus *in vitro* pour quatre molécules portant des glucoses. Leur propriété phototoxique est comparée à celle du Foscan.TM (tétra méta - hydroxyphényl-chlorine, développé en Angleterre), photosensibilisateur, dit de seconde génération, non glycoconjugué, en cours d'évaluation clinique pour des cancers de l'œsophage.

Macrocycle	Number of Glucoses	A549	HT29	Y79
Foscan TM	0	9.5 (18)	0.5 (15)	0.3 (3)
Chlorin 1	3	3.8 (>20)	5.6 (>20)	3 (3)
Chlorin 1	4	7 (>20)	3.5 (>20)	2.8(5.3)
Chlorin 2	3	n.t.	9(>20)	3.5(>10)
Porphyrin 1	4	>20	>20	6 (8)
Porphyrin 1	3	5(>20)	4.2 (>20)	4 (4)
Porphyrin 2	3	n.t.	1.3(>20)	0.6(>20)

En absence de lumière, les colorants glucoconjugués sont dénués de cytotoxicité *in vitro*, vis à vis des lignées cellulaires de tumeur humaine (HT29 et A549). Par contre, après une irradiation par une lumière rouge, ces composés possèdent une phototoxicité significative en particulier sur la lignée de Rétinoblastome Y79.

Le Foscan TM apparaît comme le composé le plus efficace. Cependant la lignée Y79 est fortement sensible, en absence de lumière, à la plupart des composés testés d'où une forte cytotoxicité intrinsèque, exceptées les porphyrines -2- et chlorine -2-.

Par comparaison avec le Foscan, la porphyrine -2- présente un indice thérapeutique supérieur grâce à **une très faible cytotoxicité *in vitro***. Ainsi cette molécule est un meilleur candidat photosensibilisateur que le Foscan pour une application clinique dans le cadre d'un traitement des Rétinoblastomes.

Les porphyrines glycoconjuguées

Tentative de mise au point d'un traitement du Rétinoblastome.

Les premiers tests effectués avec les porphyrines glycoconjuguées, sur un modèle *in vitro* de Rb, sont encourageants, ouvrant ainsi un espoir de mettre au point un nouveau traitement conservateur, non mutagène et mieux toléré des Rétinoblastomes.

Perspectives & développement :

Afin d'optimiser cette nouvelle famille, il est indispensable de :
 Tester de nouvelles molécules glycoconjuguées (plus de 65 molécules disponibles au laboratoire).
 Etablir de nouvelles lignées cellulaires de Rétinoblastome afin de vérifier que les

colorants sélectionnés présentent une phototoxicité indépendante de l'origine de la tumeur.

Afin de valider ce concept, il est indispensable de tester les meilleures molécules sur un modèle *in vivo* de Rétinoblastome. A l'heure actuelle, un modèle animal de souris greffées avec des cellules Y79 est disponible au laboratoire, avec tous les inconvénients liés aux tumeurs greffées.

Un modèle de souris transgénique est développé aux USA.

Il est important d'introduire cette lignée à l'Institut Curie ou de mettre au point un modèle animal propre à l'Institut. Compte tenu des problèmes administratifs et scientifiques, c'est la partie qui nous limite, sachant qu'il faut 80 000 à 100 000 Euros uniquement pour faire entrer une souris dans le laboratoire (indépendamment de toute manipulation) de l'animalerie de l'Institut Curie.

Laboratoires et personnels impliqués dans le projet

UMR 176 Institut Curie/CNRS : Laboratoire R. Latarjet, Faculté des Sciences, 91 405 Orsay

- Dr David Grierson DR1 CNRS
- Dr Philippe Maillard DR2 CNRS
- Bernard Loock IR CNRS

U 350 Institut Curie/INSERM : Laboratoire R. Latarjet, Faculté des Sciences, 91 405 Orsay

- Dr Alain Croisy DR2 INSERM
- Danielle Carrez IE INSERM

Laboratoire de Physicochimie Biomoléculaire et cellulaire (LPBC), UMR 7033 CNRS, Université P.& M. Curie, 4 place Jussieu, 75252 Paris

- Dr Jocelyne Blais, MC-HC Université P. & M. Curie
- Isabelle Laville, interne en pharmacie Doctorat 1^{ère} année

Services d'oncologie pédiatrique et d'ophtalmologie, Hôpital Claudius Regaud, Institut Curie, 26 rue d'Ulm, 75 Paris

- Dr François Doz
- Dr Laurence Desjardins
- Dr Livia Lumbroso
- UMR 147 Institut Curie/CNRS, Institut Curie, 26 rue d'Ulm, 75 Paris
- Dr M ; - Fr. Poupon, DR1 CNRS

Question :

Combien de temps mettrait l'organisme humain pour évacuer les produits de l'organisme ?

Les produits qui avaient été utilisés jusqu'à ce jour mettaient 5 à 6 semaines à être évacués. Il fallait donc rester dans une atmosphère de pénombre ; éviter le plein soleil, pour un petit enfant cela peut être différent. Pour les produits de nouvelle génération comme le Foscan, c'est quelques jours.

Question :

Est-ce que l'on a une idée de la catégorie de tumeurs de laquelle on pourra venir à bout avec ce procédé ?

La principale limitation de cette technique c'est qu'il faut pouvoir amener la lumière à l'endroit où il y a la tumeur et également la pénétration de la lumière de l'ordre du centimètre.

Les tumeurs du Rétinoblastome sont superficielles, facilement irradiables pour un laser ophtalmique. C'est très différent d'une tumeur du poumon ou de la prostate ou du foie où ce serait impossible.

Question :

Par rapport aux souris qui seraient aux Etats-Unis.

Je suppose qu'il y a des souris transgéniques aux Etats-Unis. Avez-vous des équipes de chimistes qui ont déjà fait des expériences comme vous et où en sont les résultats ? Y a-t-il des animaux porteurs du Rétinoblastome ?

Il n'y a pas eu d'autres travaux depuis une dizaine d'années sur ces systèmes car les seuls composés accessibles pour des biologistes sont des produits de premières générations qui posent des problèmes d'effets secondaires. Les Américains qui ont ces souris n'ont pas forcément l'équipe de chimistes qu'il faudrait pour produire le produit adéquat.

Monsieur DOZ :

La mise au point d'un tel modèle expérimental est difficile. Ce n'est pas une tumeur rencontrée spontanément sur les animaux. Pour faire plusieurs lots d'animaux traités par le composé photochimique sans irradiation, traités par irradiation sans le composé photochimique, traités par les 2, cela réclamerait plusieurs dizaines d'animaux rigoureusement identiques par expérience.

Par ailleurs le développement d'un modèle transgénique est très complexe et onéreux surtout si l'on parle d'une maladie orpheline qu'est le Rétinoblastome.

Question :

Peut-on tenter une photothérapie dynamique avant de faire l'énucléation pour voir si ce n'est pas plus efficace ?

Madame DESJARDINS :

On ne peut pas faire ça en dehors de toutes les études animales et en dehors d'un protocole bien précis de traitement. Pour l'instant c'est trop précoce pour être utilisé même sur un œil qui va être conservé.

➔2^{ème} projet :

Monsieur COUTURIER : Unité de cytogénétique Institut Curie.

Nous avons accumulé grâce à vous une bonne quantité de résultats, 70 Rétinoblastomes ont été étudiés par la technique d'hybridation génomique comparative qui permet d'établir des profils des déséquilibres chromosomiques des gains, des pertes présentes dans les tumeurs et nous analysons l'ensemble de ces informations pour voir comment on peut aller plus loin. Ces résultats vont être diffusés.

Notre projet serait l'acquisition d'un poste de microscopie avec système de capture et d'analyse d'images pour imagerie chromosomique.

Un microscope permettant l'analyse en fluorescence (lumière ultra-violette), équipé d'une caméra numérique couplée à un ordinateur avec logiciels de capture et d'analyse d'images constitue la station de travail de base dans une Unité de Cytogénétique.

Un tel ensemble a pour fonctions :

- l'établissement des caryotypes d'images en parfois de très faible intensité, comme pour l'Hybridation In Situ en Fluorescence (FISH), permettant la recherche de gènes.
- la capture et le traitement complexe d'image impliquant du calcul, comme pour l'Hybridation Génomique Comparative (CGH), permettant la détection de gains et de pertes de segments de chromosomes.

Les analyses impliquant des techniques de fluorescence tendent à se développer en Oncologie en raison de leur résolution supérieure, en permettant par exemple la détection d'anomalies d'un seul gène (FISH) ou de déséquilibres chromosomiques dans des tumeurs pour lesquelles le caryotype ne peut être établi

(CGH).

La prise en charge du conseil génétique pour le Rétinoblastome à Curie repose sur la détection des anomalies constitutionnelles du gène RB, permettant de reconnaître les sujets à risque. Cette approche se fait essentiellement par analyse moléculaire. Toutefois, les anomalies sont parfois de grande taille, délétions de la totalité du gène RB, remaniements chromosomiques, et relèvent alors de l'analyse cytogénétique. Ainsi, actuellement, les cas bilatéraux ou familiaux sont étudiés par analyse caryotypique et FISH avec une sonde RB.

L'Unité ne possède qu'un seul poste de microscope de fluorescence pour ces analyses, et nous projetons l'acquisition d'un second. Cet équipement serait utilisé pour l'étude du Rétinoblastome et d'autres tumeurs pédiatriques.

Il s'agit d'un investissement lourd (autour de 550kF HT), et le financement n'en n'est pas encore obtenu. L'association Rétinostop pourrait prendre en charge une partie de la caméra numérique ou du logiciel d'analyse, représentant chacun environ 100 KF HT.

Question :

Est-ce que dans votre laboratoire vous ne faites que de la recherche ou en finançant un matériel de ce type vous pourriez fonctionner de façon complémentaire avec Mme Stoppa-Lyonnet ?

Nous collaborons étroitement, nous sommes dans le même projet d'un point de vue dépistage, diagnostic.

Nous sommes un laboratoire de diagnostic ; l'approche caryotypique s'intègre dans la démarche d'identification d'une anomalie conditionnelle du gène RB.

►Présentation de la consultation génétique :

Depuis février 2000, il y a une consultation de génétique dédiée au Rétinoblastome. Elle a lieu 1 fois par semaine le vendredi matin et permet de recevoir 4 à 6 familles.

En 2001, on a vu 140 personnes concernant le Rétinoblastome. Tous les parents ayant un enfant traité pour un Rétinoblastome peuvent être rencontrés mais aussi tous les adultes qui ont été traités dans l'enfance. On sait qu'il existe des cas de Rétinoblastome familiaux et lorsque apparaît dans une famille un cas de Rétinoblastome, on va proposer fortement une surveillance ophtalmologique très lourde pour les enfants apparentés au patient atteint. Un des buts de la génétique est aussi de libérer certains enfants indemnes de cette surveillance.

Il s'agit dans un premier temps d'une consultation d'information, on va reprendre avec le patient ou ses parents l'histoire généalogique du patient atteint et ensuite on discute de la probabilité qu'il existe une prédisposition génétique. Il faut savoir que lorsqu'on voit un patient avec un Rétinoblastome bilatéral on va imaginer d'emblée qu'il est porteur d'une prédisposition génétique. Lorsque le patient a un rétino unilatéral, on estime que 10% des ces patients vont être porteurs d'une prédisposition génétique. Qu'est ce que c'est cette prédisposition génétique au Rétinoblastome ?

Une personne qui est porteuse d'une anomalie sur un de ses 2 gènes RB va avoir un risque très important au cours de son enfance de développer un Rétinoblastome.

Tout notre patrimoine génétique est sur un ensemble de gènes dans le noyau de toutes nos cellules. Tous nos gènes au moment de la fécondation se retrouvent en double exemplaire. On reçoit un exemplaire de notre père et un de notre mère, le gène RB fait partie de notre patrimoine génétique. Tout homme, toute femme possède un gène RB et même deux exemplaires reçus de son père et de sa mère. Lorsqu'une personne va être porteuse d'une anomalie sur un de ses 2 gènes RB elle va avoir un risque très important au cours de son enfance d'avoir un Rétinoblastome. C'est cette information là qu'on essaie de transmettre aux parents, aux patients et on va proposer au patient qui a eu un Rétinoblastome unilatéral ou bilatéral, une étude moléculaire du gène RB pour essayer de voir si l'on ne trouve pas une anomalie sur le gène RB. Lorsque la personne accepte une recherche d'altération du gène RB, il faut qu'un consentement soit signé, pour un enfant mineur par les 2 parents. Nous avons besoin de 2 prélèvements sanguins.

Quand l'étude génétique est terminée, on demande à rencontrer une 2^{ème} fois les parents ou le patient pour les informer du résultat.

Soit on a trouvé une altération sur le gène RB : il va être possible de proposer des tests génétiques aux apparentés à ce patient atteint, pour voir s'ils sont porteurs ou pas de cette altération et les libérer de la surveillance ophtalmologique si aucune altération n'est détectée.

Soit on n'a pas trouvé d'altération du gène RB : là ce sera plus difficile parce qu'on ne sait pas faire la différence entre « on n'a pas trouvé parce qu'il n'existe pas de prédisposition génétique ou bien on n'a pas trouvé parce que peut être qu'il existe quelque chose que nos techniques ne mettent pas en évidence et donc on ne peut pas avancer plus et on va continuer la surveillance ophtalmologique des apparentés. »

Pour qu'il y ait une étude génétique de faite, on demande aux patients de rencontrer un généticien.

Question :

Vous avez parlé d'anomalie génétique et des questions posées pour les frères et sœurs du patient. On peut imaginer que s'il y a une anomalie génétique, elle remonte aux grands-parents, elle peut donc concerner les oncles et tantes.

La surveillance ophtalmologique s'étend souvent jusqu'aux cousins du patient atteint. Si jamais on trouve une altération génétique chez 1 enfant, on peut déjà vérifier si l'un de ses parents est porteur de l'altération. Finalement si aucun de ses parents n'est porteur cela ne vient ni de la tranche paternelle ou maternelle, il n'y a donc pas lieu de remonter plus loin. On peut donc libérer les 2 branches familiales de la surveillance ophtalmologique.

Question :

Combien de temps s'écoule-t-il, pour une consultation génétique, entre le premier entretien et le résultat?

On peut en moins de 6 mois donner un résultat.

Question :

J'ai lu un article dans un journal grand public qui parlait qu'en cas de test anténatal, l'amniocentèse pourrait être remplacée par de simples prises de sang.

Vous faites allusion à la détection dans le sang maternel de cellules fœtales circulantes. Effectivement, il y a eu la semaine dernière aux Assises de Génétique qui avaient lieu à Marseille, une communication d'une équipe conjointe faite à Necker et à l'hôpital américain. Cela portait sur le diagnostic du sexe fœtal masculin.

L'un des développements de cette technique, c'est la détection dans le sang maternel d'une altération de n'importe quel gène si elle a été identifiée au préalable.

Question :

Je crois avoir compris que les prélèvements étaient aussi effectués sur la tumeur plutôt que par prélèvements sanguins.

La prédisposition génétique est ce qu'on appelle une altération constitutionnelle donc une altération du gène RB qui serait présente dans toutes les cellules.

En prélevant du sang, on va trouver des globules blancs. Dans leurs noyaux, on trouve les chromosomes et donc le gène RB pour pouvoir l'étudier.

Dans la tumeur, il y aura plein d'anomalies chromosomiques qui vont s'additionner. On ne pourra pas chercher une anomalie particulière constitutionnelle dans le gène RB.

Quand on n'a pas trouvé d'anomalie sur le gène RB, on peut encore faire une étude des chromosomes en prélevant chez la famille. Dans ce cas, la tumeur du patient peut donner une aide supplémentaire.

Question :

Lorsque les 2 yeux sont atteints alors c'est héréditaire, l'altération est constitutionnelle. Est-ce qu'on aurait vu un contre exemple ?

On ne trouve pas une anomalie constitutionnelle dans tous les cas de Rétino bilatéraux, mais cela ne veut pas forcément dire qu'elle n'existe pas. On pense que l'on ne la trouve pas c'est tout.

Mme Stoppa-Lyonnet, chef d'unité de Cytogénétique à l'institut Curie

Quand on fait les études génétiques du Rétino, on peut faire une étude chromosomique, on peut aller plus loin en recherchant une anomalie dans le gène lui-même. Le caryotype peut montrer une délétion partielle du chromosome 13 (RB). Un chromosome 13 plus petit que l'autre. La région chromosomique comportant le RB est absente, ceci confère un risque de Rétino chez l'enfant porteur d'une telle particularité chromosomique.

Pour rechercher une altération du gène RB qui peut siéger à n'importe quel endroit, il va falloir avoir une stratégie complexe à l'aide de 2 techniques balayant l'ensemble du gène. Les gènes ont des parties codantes et d'autres non codantes. Les parties codantes seront très importantes dans la constitution de la protéine RB puisque les gènes vont fabriquer une protéine.

Il va falloir explorer une à une toutes ces parties codantes. On va d'abord chercher des altérations de petites tailles, puis des grandes délétions du gène. L'exploration du gène RB revient à peu près à faire 30 fois le même type de manipulation. Chaque examen d'une partie codante représentant une journée de travail.

Avec un an et demi de recul, on a pu examiner 102 cas d'enfants non apparentés entre eux; dans 85 cas il s'agissait d'enfants qui n'avaient pas d'histoire familiale en amont, dans 51 cas c'est un Rétino unilatéral et dans 34 cas c'est une forme bilatérale sans histoire familiale. Dans 17 cas il y avait une histoire familiale antérieure chez les ascendants de Rétinoblastome. Nous avons identifié au total 37 altérations du gène RB et puis 3 modifications dont on ne sait pas aujourd'hui quelle est la signification.

Les altérations sont très diverses : pour chaque enfant c'est une histoire différente. Dans les cas de Rétino non familiaux on a trouvé 20 altérations soit 23.5% des cas. Dans les cas de Rétino familiaux avec une histoire familiale ascendante sur les 17 cas on a toujours trouvé une altération. Sans le cas des bilatéraux non familiaux, on n'a trouvé une altération que dans 19 cas donc 19/34 soit 56% des cas. Ce travail a été présenté aux Assises de Génétique à Marseille et cela a été pour nous

l'occasion de remercier Rétinostop.

Car sans le concours de Melle Karszynski, on n'aurait pas pu étudier autant de cas. Melle Karszynski remercie l'association Rétinostop d'avoir bien voulu prendre en charge les frais de sa formation et ainsi lui avoir permis l'intégration au sein de l'équipe du docteur Stoppa-Lyonnet. Elle espère que nos attentes seront récompensées par ses travaux et ses résultats.

Question :

Les consultations pédiatriques informent les parents d'enfant atteint d'éventuelles possibilités d'autres tumeurs au cours de son enfance. Est-ce que sur le plan génétique vous envisagez des recherches sur d'autres gènes ?

Il est vrai qu'il y a un risque de seconde tumeur qui est un peu plus élevé par rapport à la population générale chez ces enfants atteints. Il peut exister des facteurs qui modifient ce risque tumoral. Aujourd'hui il n'y a pas d'étude mise en place la-dessus mais il faudra déjà rechercher des corrélations entre la nature de l'altération sa position sur le gène et un risque éventuel de seconde tumeur.

Question :

Comment faites-vous pour examiner les parties codantes avec un microscope ou d'autres techniques ?

C'est assez facile d'extraire l'ADN, on met une sorte de détergent, on libère l'ADN qui est une double hélice avec des bases complémentaires, on chauffe, on dénature l'ADN, on a pu synthétiser in vitro des petits fragments d'ADN d'une vingtaine de bases qui vont venir spécifiquement reconnaître parmi les 3 milliards de nucléotides différents qui composent notre génome, l'endroit du gène RB que l'on veut étudier.

On fait ce cycle-là un grand nombre de fois, on fabrique dans nos tubes à essai un grand nombre de copies avec la PCR, sorte de loupe. La constitution de ce fragment amplifié diffère de la norme.

➔3^{ème} Projet : PCR

L'appareil à PCR ou thermocycleur permet d'avoir des cycles de température en dénaturant l'ADN, de le renaturer plusieurs fois et ainsi d'amplifier dans le tube à essai le fragment de gène que l'on veut étudier et c'est l'outil de base de tout laboratoire de génétique moléculaire. Si on veut augmenter notre activité, il nous faut avoir plus d'appareils PCR.

Ce projet 2002 a déjà vu le jour : Rétinostop a pu financer un appareil de ce type.

La suite du compte-rendu de l'Assemblée Générale du 26 janvier 2002 apparaîtra dans le prochain journal, à savoir :

-l'exposé de Madame Mendoza, Présidente de L'Association des Parents et Amis des Enfants Soignés à l'Institut Curie (A.P.A.E.S.I.C)

-et le témoignage de Françoise THEROUIN, correspondante régionale à Angers

Comité de rédaction : L. Bonnin, C. Bothorel et M. Lorrain.

Mise en page : G. Lorrain.