



**HAL**  
open science

# Évaluation de l'association cisplatine - interleukine-2 - interféron- $\alpha$ dans le traitement du mélanome métastatique

Jocelyne Chinal

► **To cite this version:**

Jocelyne Chinal. Évaluation de l'association cisplatine - interleukine-2 - interféron- $\alpha$  dans le traitement du mélanome métastatique. Sciences pharmaceutiques. 1997. dumas-01762175

**HAL Id: dumas-01762175**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01762175>**

Submitted on 9 Apr 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :  
[bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr](mailto:bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



D

115 021373 8

*1<sup>er</sup> exemplaire*

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER  
FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE

ANNEE 1997

N° D'ORDRE 5061

**EVALUATION DE L'ASSOCIATION CISPLATINE -  
INTERLEUKINE-2 - INTERFERON- $\alpha$  DANS LE TRAITEMENT DU  
MELANOME METASTATIQUE.**

THESE

PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE  
DIPLOME D'ETAT

Par **CHINAL Jocelyne**

[Données à caractère personnel]

Thèse soutenue publiquement le 22 octobre 1997 à 18 heures 30

Devant le jury composé de :

Monsieur le Professeur SCHAEERER R.

Président du jury

Monsieur le Professeur BOLLA M.

Madame le Professeur MOUSSEAU M.

Madame le Docteur JACOB MC.

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER  
FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE

ANNEE 1997

N° D'ORDRE

**EVALUATION DE L'ASSOCIATION CISPLATINE -  
INTERLEUKINE-2 - INTERFERON- $\alpha$  DANS LE TRAITEMENT DU  
MELANOME METASTATIQUE.**

THESE

PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

DIPLOME D'ETAT

Par **CHINAL Jocelyne**  
[Données à caractère personnel]

Thèse soutenue publiquement le 22 octobre 1997 à 18 heures 30

Devant le jury composé de :

Monsieur le Professeur SCHAEERER R.

Président du jury

Monsieur le Professeur BOLLA M.

Madame le Professeur MOUSSEAU M.

Madame le Docteur JACOB MC.

# UNIVERSITE JOSEPH FOURIER FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE

Domaine de la Merci 38700 LA TRONCHE

Doyen de la Faculté  
Vice-Doyen  
Assesseurs

M. le Professeur J. L. DEBRU  
M. le Professeur A. HADJIAN  
M. le Professeur B. RAPHAEL  
M. le Professeur J.P. ROMANET  
M. le Professeur B. SELE

## PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

MM.					
AMBLARD	Pierre	Dermato. Vénérologie	HOSTEIN	Jean	Hépto-Gastro-Entérol.
AMBROISE-THOMAS	Pierre	Parasitologie et Mycol.	JUVIN	Robert	Rhumatologie
BACONNIER	Pierre	Biostatistiques et Informatique Méd.	JALBERT	Pierre	Génétique.
BACHELOTT	Ivan	Endocrinologie et Maladies Métaboliques	JOUK	Pierre-Simon	Biologie du Dévelop.. et de la reproduction.
BARGE	Michel	Neurochirurgie	KOLODIE	Lucien	Hématologie
BARRET	Luc	Médecine Légale	LE BAS	François	Biophys.et Trait. de l'Image.
BAUDAIN	Philippe	Radiologie et Imag. Méd.	LEBEAU	Jacques	Stomat. et Chirurgie Maxillo- Faciale
BEANI	J.-Claude	Dermatologie, Vénérologie	LEROUX	Dominique	Génétique
BENABID	Al.-Louis	Biophys. et Trait. de l'image	LETOUBLON	Christian	Chirurgie Générale
BENSA	J. Claude	Immunologie	LEVERVE	Xavier	Thérapeutique
BERNARD	Pierre	Gynéco et Obstétrique	LEVY	Patrick	Physiologie
BESSARD	Germain	Pharma. Fondamentale	LUNARDI	Joël	Biochimie et Bio. Molécul.
BLIN	Dominique	Chir. Thor. et Cardio Vascul.	MACHECOURT	Jacques	Cardio. et Maladie Vascul.
BOLLA	Michel	Radiothérapie	MAGNE	Jean-Luc	Chir. Vasculaire
BOST	Michel	Pédiatrie	MALLION	J. Michel	Méd. du Trav. et Risques Prof.
BOUCHARLAT	Jacques	Psychiatrie d'adultes	MASSOT	Christian	Médecine Interne
BRAMBILLA	Christian	Pneumologie	MERLOZ	Philippe	Chir. Ortho. et Traumat.
BRAMBILLA	Elisabeth	Anatomie et Cyto. Pathol.	MOREL	Françoise	Bioch. et Biol. Moléculaire
BRICHON	P.Yves	Chir. Thor. et Cardio.Vasc.	MICOUD	Max	Maladies Infect. et Trop.
CARPENTIER	Françoise	Thérapeutique	MOUILLON	Michel	Ophthalmologie
CARPENTIER	Patrick	Méd. Interne	MOUSSEAU	Mireille	Cancérologie
CHAMBAZ	Edmond	Biologie Cellulaire	MOUTET	François	Chir. Plast.Reconst. et Esth.
CHARACHON	Robert	O.R.L.	PASQUIER	Basile	Anat. et Cyto.Patho
CHIROSSSEL	J. Paul	Anatomie	PASSAGIA	J.-Guy	Anatomie.
CINQUIN	Philippe	Biostatistique et Inf. Méd.	PAYEN de LA		
COLOMB	Maurice	Immunologie	GARANDERIE	J. François	Anesthésiologie
COMET	Michel	Biophys. et Trait. de l'image	PELLAT	Jacques	Neurologie
CORDONNIER	Daniel	Néphrologie	PISON	Christophe	Pneumologie
COULOMB	Max	Radiologie et Imagerie Méd.	PHELIP	Xavier	Rhumatologie
CROUZET	Guy	Radiologie et Imagerie Méd.	POLLAK	Pierre	Pharmacologie
DEBRU	Jean-Luc	Médecine Interne	RACINET	Claude	Gynécolog-Obstétrique
DE GAUDEMARIS	Régis	Méd. du Trav. et des risques professionnels.	RAMBAUD	Pierre	Pédiatrie
DEMONGEOT	Jacques	Biostatistique et Inf. Méd.	RAMBEAUD	J. Jacques	Urologie
DENIS	Bernard	Cardio. et Malad. Vascul.	RAPHAEL	Bernard	Stomato. et Chirurgie Maxillo-faciale
DESCOTES	Jean-Luc	Urologie	REYT	Emile	O.R.L.
DUPRE	Alain	Chirurgie Générale	ROMANET	J. Paul	Ophthalmologie
DYON	J.François	Chirurgie Infantile	SARAGAGLIA	Dominique	Chir. Orthopédique et Traumatologique
FAURE	Daniel	Bioph et Trait. Image	SCHAERER	René	Cancérologie
FAVROT	Claude	Anatomie	SEIGNEURIN	Daniel	Histo.embryo.cytogénét. Reproduction
FEUERSTEIN	Marie C.	Cancerologie CLB Lyon	SEIGNEURIN	J. Marie	Bactério-Viro - Hygiène.
FOURNET	Claude	Physiologie	SELE	Bernard	Biologie du Développement et de la Reproduction
FRANCO	Jacques	Hépto-Gastro-Entéro.	SOTTO	J. Jacques	Hématologie et Transfusion
GARNIER	Alain	Médecine. Interne	STAHL	J. Paul	Maladies Infect. et Trop.
GIRARDET	Philippe	Pédiatrie	VIALTEL	Paul	Néphrologie
GOULLIER	Pierre	Anesth. et Réa. Chir.	VROUSOS	Constantin	Radiothérapie
GOULLIER	Andrée	Parasitologie et Mycologie	ZARSKI	J.Pierre	Hépto-Gastro-Entérol.
GUIDICELLI	Henri	Chirurgie Vasculaire			
GUIGNIER	Michel	Réanimation Médicale			
HADJIAN	A.-Jean	Biochimie et biol.Mol.			
HALIMI	Serge	Nutrition			
HOMMEL	Marc	Neurologie			

*A Richard,*

*« De l'autre côté de toi, je suis presque sûre qu'il n'y a plus rien,  
De l'autre côté de toi, le désert commence où finit ta main. »*

*Francis Cabrel 1980*

*A ma mère,*

*A la mémoire de mon père,*

*Aux membres des familles CHINAL et PROVENCAL,*

*A mes amis,*

*« La liberté d'aimer n'est pas moins sacrée que la liberté de penser »*

*Victor Hugo 1802-1885.*

*A nos maîtres et juges :*

*Monsieur le Professeur **SCHAERER***

*Monsieur le Professeur **BOLLA***

*Madame le Professeur **MOUSSEAU***

*Madame le Docteur **JACOB***

*« Quiconque flatte ses maîtres les trahit. »*

*Jean-Baptiste Massillon 1663-1742*



*Je remercie chaleureusement :*

*Monsieur le Docteur **NERSON** François,*

*Monsieur le Docteur **RENVERSEZ** Jean-Charles,*

*Madame le Docteur **GIROUD** Claudine,*

*Mesdames les Docteurs **KOLODIE** Hélène et **BROCHON** Danièle,*

*Monsieur **ARTIGNAN** Xavier,*

*Monsieur **COLONA** Marc,*

*Mesdames **CAS** Fabienne et **CLOUPEAU** Isabelle,*

*Mesdames **POMMIER** Marinette et **PLANTE** Nadine.*

*« Le bonheur humain est composé de tant de pièces qu'il en manque toujours. »*

*Bossuet 1627-1704*

*La vie est un tableau de couleurs*  
*Qu'un peintre selon son humeur*  
*Teinte de noir pour le malheur*  
*Ou revêt de rose pour le bonheur*  
*Mais l'artiste sera en ta faveur*  
*Si dans ton coeur l'espoir demeure*

*J. C.P. - 1984*

**INTRODUCTION**

Le mélanome pose aujourd'hui plusieurs problèmes d'une particulière gravité. Le premier d'entre eux correspond à l'évolution de son épidémiologie. Toutes les études concordent à montrer un doublement de son incidence tous les 10 ans dans les pays occidentaux.

Le deuxième élément d'inquiétude est dû à la particulière gravité de ce cancer. Ce mauvais pronostic tient au fort potentiel métastatique et à la particulière chimiorésistance de cette tumeur .

Le mélanome en phase métastatique laisse le thérapeute désespéré et représente un véritable défi. La médiane de survie de ces patients est de 6 à 8,5 mois et le taux de survie à 5 ans est inférieur à 10 %.

Après avoir relaté les données épidémiologiques récentes, nous rappellerons brièvement les facteurs de risque de développement du mélanome. Nous recenserons les moyens thérapeutiques actuels mais aussi leurs limites.

Dans ce travail, nous analyserons de façon rétrospective les réponses et la durée de survie de 38 patients porteurs d'un mélanome métastatique et traités par une association chimio-immunothérapie comprenant du cisplatine, de l'interleukine-2 et de l'interféron- $\alpha$ . Ce schéma a été proposé initialement par Khayat et al. <sup>46</sup> en 1992 et nous comparerons nos résultats avec ceux de cette équipe.

Nous analyserons la réponse en fonction de la localisation et du nombre de sites métastatiques, de la « dose-intensité » de traitement administrée. A travers la surveillance biologique de l'expression des antigènes lymphocytaires et du dosage de cytokines, nous tenterons de corréler l'évolution biologique à la réponse au traitement. Nous essaierons d'individualiser des facteurs prédictifs de réponse afin de sélectionner au mieux et au plus vite les patients susceptibles de bénéficier de ce traitement.

Nous relaterons enfin une étude pilote visant à tester les capacités fonctionnelles des lymphocytes et leurs variations durant le traitement.

**GENERALITES**

## I - EPIDEMIOLOGIE

L'augmentation de l'incidence du mélanome dans le monde entier <sup>38</sup> est un phénomène épidémiologique sans précédent, qui n'a comme semblable que l'augmentation d'incidence du cancer du poumon chez la femme.

C'est en Australie que l'incidence du mélanome est la plus élevée <sup>63</sup>, en particulier dans les régions nord proches de l'Equateur où elle est d'environ 30 pour 100 000 habitants alors que l'incidence en Europe se situe entre 7 et 10 pour 100 000 habitants <sup>38</sup>.

Ménégoz et al. <sup>64</sup> ont étudié l'incidence et la mortalité par cancer en France entre 1975 et 1995, à partir de données des registres du cancer de 15 départements ou régions.

Les données concernant le mélanome sont rapportées dans le tableau I.

**Tableau I : Epidémiologie du mélanome en France.**

		1975	1985	1995
Nombre de cas incidents/	<b>Hommes</b>	610 (2.5)	1308 (5.0)	1752 (6.4)
Taux standardisés d'incidence	<b>Femmes</b>	1178 (3.8)	2064 (6.7)	2503 (8.0)
Mortalité/ Taux standardisés de	<b>Hommes</b>	177 (0.7)	372 (1.4)	516 (1.9)
mortalité	<b>Femmes</b>	180 (0.6)	395 (1.2)	494 (1.3)

On retrouve la prédominance de cas dans la population féminine <sup>10</sup> mais un taux de mortalité inférieur dans cette population, conférant aux femmes un meilleur pronostic. Les taux de mortalité augmentent moins vite que les taux d'incidence, ce qui reflète une amélioration de la survie de ces malades et un diagnostic plus précoce.

En Isère, pour la période de 1985 à 1990 <sup>65</sup>, le taux d'incidence était de 3.8 pour 100 000 hommes plaçant le mélanome au 19<sup>me</sup> rang de fréquence des cancers chez l'homme (le quatuor de tête restant les cancers du poumon (57/100 000), de la prostate (47/100 000), du colon (26/100 000) et les affections hématologiques (23/100 000)).

Pour la même période, le taux d'incidence était de 5.9/100 000 femmes. Ce cancer est le 11<sup>me</sup> en fréquence chez la femme, les 4 plus fréquents restant le cancer du sein (100/100 000), du colon (23.1/100 000), les affections hématologiques (18/100 000) et le cancer du rectum (14.1/100 000).

Les chiffres de l'Isère sont comparables aux chiffres européens et mondiaux <sup>4</sup>.

Si cette augmentation d'incidence perdurait, à l'aube du troisième millénaire, le mélanome deviendrait une des tumeurs les plus fréquentes égalant le cancer du poumon chez l'homme et le cancer du sein chez la femme.

## II - FACTEURS DE RISQUE

Le consensus des épidémiologistes est que les ultra violets (U.V.) auxquels s'exposent de façon immodérée les populations à peau claire sont responsables d'une grande partie de cette augmentation d'incidence du mélanome.

Il est maintenant bien établi que nous ne sommes pas tous égaux devant le risque d'exposition aux U.V. et il semble relativement aisé de repérer dans la population les personnes à risque.

Les facteurs de risques admis sont résumés dans le tableau II.

### Tableau II : Facteurs de risque de développement d'un mélanome.

- Nombre total de nævi communs de taille > 2 mm
  - \* nombreux nævi fessiers
  - \* augmentation du nombre de nævi du bras
  - \* plus de 120 nævi mesurant entre 1 et 5 mm (RR : 19.6)
  - \* plus de 5 nævi mesurant entre 5 et 10 mm (RR : 10)
  - \* un naevus atypique (RR : 2.77).
- Tendance aux taches de rousseur.
- Nombreux nævi atypiques mesurant plus de 5 mm.
- Antécédents de coup de soleil sévère.
- Tendance aux coups de soleil.
- Antécédent de cancer cutané autre que le mélanome malin (RR : 17).

- Activité de plein air entre 10 et 24 ans.
- Antécédents familiaux de mélanome malin.
- Antécédents de naevus dysplasique.
- Teint pâle et peau claire.
- Changement d'aspect d'un grain de beauté.

(RR : *Risque relatif*) d'après DE VITA V. *Cancer principles and practice in oncology, 5<sup>th</sup> ed. Cutaneous Melanoma 1997;1947-97.*

### III - CLASSIFICATION CLINIQUE

La classification de l'American Joint Committee on Cancer (AJCC) datant de 1988 a été légèrement modifiée en 1992 (annexe I), en tenant compte des différents facteurs pronostiques identifiés. Les patients sont ainsi classés en six stades cliniques (annexe II). Cette classification ne prend pas en compte d'importants facteurs pronostiques indépendants que sont le nombre de ganglions envahis, le sexe, la présence d'une ulcération de la tumeur primitive, la race et la localisation anatomique <sup>79</sup>. La récurrence locale n'est pas prise en compte non plus.

Dernièrement, Buzaid et al. <sup>22</sup> ont montré que la taille clinique et histologique des ganglions envahis ne sont pas des facteurs pronostiques de survie et proposent qu'elles ne soient plus prises en compte dans la classification. Par contre, ils suggèrent un rôle plus important du nombre de ganglions envahis.

La classification proposée par Buzaid et al. accorde une particulière importance à cinq facteurs :

- épaisseur de la tumeur,
- présence ou absence d'ulcération tumorale,
- présence ou absence de lésions satellites ou de métastases en transit,
- nombre de ganglions envahis,
- présence ou non de métastases à distance.

Cette nouvelle classification est retransmise en annexe III, la définition des stades cliniques en annexe IV.

Après ces quelques rappels sur le mélanome en général, nous allons nous intéresser au mélanome en phase métastatique. Après avoir étudié les localisations métastatiques, nous rappelons les modalités thérapeutiques actuellement disponibles avec leurs principaux résultats.



## IV - LOCALISATIONS METASTATIQUES

Aucun organe n'est épargné par la possibilité d'un envahissement secondaire.

Des séries d'autopsies réalisées sur un grand nombre de patients décédés de mélanome <sup>13-20</sup> montrent une sous-estimation clinique du nombre d'organes touchés. La détection précise des sites est devenue possible avec l'utilisation en routine de la tomодensitométrie puis de l'imagerie par résonance magnétique.

Le tableau III inventorie les principaux sites métastatiques et établit le contraste entre l'extension clinique et autopsique de la maladie.

**Tableau III : Sites métastatiques du mélanome.**

SITES	DONNEES	DONNEES
	CLINIQUES %	AUTOPSIQUES %
- peau, tissu sous-cutané, ganglions	42 - 59	50 - 75
- poumon	18 - 36	70 - 87
- foie	14 - 20	54 - 77
- cerveau	12 - 20	36 - 54
- os	11 - 17	23 - 59
- tractus digestif	1 - 7	26 - 58
- cœur	21	40 - 45
- pancréas	21	38 - 53
- surrénales	21	36 - 54
- rein	21	35 - 48
- thyroïde	21	25 - 39

La localisation anatomique des métastases est un important facteur pronostique. Le site le plus fréquent des premières métastases est constitué par la peau, le tissu sous-cutané et les ganglions à distance de la tumeur primitive <sup>84</sup>. La médiane de survie de ces patients est d'environ 7 mois.

Le second site par ordre de fréquence concerne le poumon et est associé à une médiane de survie de 11 mois. On trouve ensuite, les localisations hépatiques, cérébrales et osseuses avec une médiane de survie de 2 à 6 mois.

Le nombre de sites métastatiques est aussi un facteur pronostique<sup>13</sup> avec une médiane de survie de 7 mois si un seul site est atteint, 4 mois si 2 sites sont atteints et 2 mois si 3 sites sont atteints.

Tout site et nombre de sites confondus, on estime à l'heure actuelle que la médiane de survie d'un patient porteur de mélanome en phase métastatique est de 7.5 mois et que la survie à 5 ans est inférieure à 10 %<sup>11</sup>. Cette survie n'a pas été améliorée durant les deux dernières décennies<sup>14</sup>.

**MODALITES THERAPEUTIQUES**

Avant de considérer les différentes modalités thérapeutiques du mélanome en phase métastatique, nous devons considérer l'abstention thérapeutique comme une option à part entière <sup>78</sup> parce que le pronostic est compromis à court terme. De ce fait, la décision de traiter ou non le patient doit tenir compte de multiples considérations. Ne pas traiter le patient est une option défendable chez les patients âgés ou en phase terminale qui ne toléreraient pas le traitement, ou chez les patients symptomatiques. On peut opter pour une surveillance des lésions et décider la mise en route d'un traitement en cas de progression des lésions ou si elles deviennent symptomatiques. Chez de tels patients, il faut garder à l'esprit le bénéfice attendu par le traitement, les chances d'améliorer la survie et tenter d'évaluer la qualité de survie, survie que l'on sait malheureusement restreinte.

## **I - CHIRURGIE**

Un bilan comportant une évaluation de l'extension métastatique et de l'aptitude du malade à subir une intervention parfois lourde doit précéder la décision thérapeutique. La chirurgie est envisageable pour des lésions facilement accessibles, limitées en taille et en nombre. Le plus souvent, cela concerne des métastases cérébrales ou parfois pulmonaires et hépatiques. La chirurgie est alors réalisée dans un but curatif. Elle peut être envisagée après une réponse partielle à une thérapie systémique si la métastase reste unique. Des études rétrospectives d'exérèses chirurgicales de métastases pulmonaires <sup>102-70</sup> ou cérébrales <sup>35</sup> isolées ou peu nombreuses, montrent que l'exérèse chirurgicale de ces métastases viscérales semblent apporter à quelques malades un bénéfice en terme de confort et peut être de survie <sup>42-12</sup>.

A côté de ces exérèses à visée curative, il existe des indications palliatives, de confort, notamment pour enlever des métastases cutanées ou sous-cutanées douloureuses mais aussi des métastases gastro-intestinales responsables d'occlusions digestives.

## **II - RADIOTHERAPIE**

Le mélanome n'est pas une tumeur radiosensible, mais ce n'est pas une tumeur radiorésistante. La radiothérapie est utilisée le plus souvent à titre palliatif dans les formes métastatiques, à visée

antalgique, anti-inflammatoire ou décompressive.

Plusieurs types de rayonnements sont employés : les photons du cobalt 60 ou ceux produits par les accélérateurs de particules permettent par leur fort rendement en profondeur de traiter les localisations viscérales <sup>29</sup>. Les électrons sont des particules dont les effets s'atténuent rapidement, en fonction de leur énergie, au sein des tissus traversés <sup>74</sup>. Ils sont indiqués pour les localisations superficielles ou peu profondes. La technique doit permettre de couvrir le volume cible sans surdosage, ni sous-dosage, en ménageant au maximum les tissus sains. Le protocole dépend de la localisation et du site irradié ainsi que de l'espérance de vie qui conditionnent la survenue de manifestations tardives.

En 1986, Overgaard et al. <sup>71</sup> rapportent les résultats d'une analyse rétrospective, non randomisée, de l'irradiation de 204 récidives cutanées, sous-cutanées et ganglionnaires. Ils obtiennent 24 % de rémission complète pour des doses inférieures à 4 Grays (Gy) par fraction et 57 % pour des doses supérieures ou égales à 4 Gy par fraction. Ils confirment l'efficacité de tels schémas à fortes doses par fraction peu après <sup>72</sup>. L'ensemble des travaux ne va cependant pas dans ce sens et l'accord n'est pas unanime sur ces nouvelles méthodes de fractionnement.

En utilisant un fractionnement classique, c'est à dire de 1.8 à 2 Gy par fraction, Lobo et al. <sup>58</sup> obtiennent d'aussi bons résultats (52 % de rémission complète). L'étude de Sause randomisée du RTOG 93.05 <sup>86</sup> conclut de façon similaire. Il obtient environ 60 % de rémission complète dans les deux groupes (32 Gy/4 fractions/21 jours contre 50 Gy/20 fractions/28 jours). Il souligne toutefois les effets secondaires plus fréquents des nouveaux fractionnements.

Les auteurs concluent que le concept de radiorésistance du mélanome doit être remis en question, de même que l'intérêt des fortes doses par fraction.

## **2.1 - Localisation cutanées, sous-cutanées et ganglionnaires**

Ces localisations répondent dans 80 % des cas à de fortes doses par fraction <sup>72-39-91</sup>. Il semble que la dose par fraction doit être élevée à au moins 4 Gy. L'intérêt de doses supérieures à 5 Gy/fraction n'est pas démontré <sup>72</sup>.

## **2.2 - Localisations osseuses**

La réponse objective est difficile à évaluer : on ne tient compte que de la réponse symptomatique car la rémission radiologique est rarement obtenue. Selon les séries (Tableau IV) les taux de réponse varient

de 50 à 80 %.

**Tableau IV : Taux de réponse à l'irradiation des métastases osseuses des mélanomes.**

HILARIS et al. <sup>36</sup>	50 %
COOPER et al. <sup>25</sup>	80 %
STRAUSS et al. <sup>91</sup>	77 %
KATZ <sup>43</sup>	77 %
LOBO et al. <sup>58</sup>	66 %
RATE et al. <sup>76</sup>	85 %
KONEFAL et al <sup>49</sup>	68 %

*d'après MAIRE J. Ph, DELAUNAY MM : place et modalités de la radiothérapie. Dans Mélanome Cutané, ed. MASSON; 1992;154-62.*

Les doses totales s'échelonnent en moyenne de 30 à 40 Gy en 10 fractions. En raison de la faible efficacité d'autres traitements, de la relative rapidité d'action et de sa toxicité acceptable, la radiothérapie est la clef de voûte du traitement des localisations osseuses. La radiothérapie est également le traitement palliatif des compressions médullaires. Elle doit être systématiquement associée à une corticothérapie haute dose. On propose des doses identiques à celles délivrées pour les métastases osseuses.

### **2.3 - Localisations cérébrales**

Elles sont fréquemment traitées par irradiation car elles sont le plus souvent multiples et témoignent d'une évolution péjorative contre-indiquant la chirurgie. Le volume traité est le plus souvent large, incluant les deux hémisphères et le tronc cérébral. Les patients sont le plus souvent traités selon un mode semi-fractionné (30 Gy/10 fractions/2 semaines) par 2 faisceaux latéraux parallèles opposés, sous couvert de corticoïdes afin d'éviter l'apparition ou l'aggravation de signes d'hypertension intracrânienne. L'efficacité de la radiothérapie en terme de réponse objective est difficile à analyser en raison de la corticothérapie mais on note une amélioration fonctionnelle dans 70 % des cas environ <sup>43</sup>. La place de l'irradiation prophylactique chez des patients porteurs de métastases cérébrales asymptomatiques n'est pas définie.

En conclusion, si la chirurgie est indiquée en cas de métastase isolée, l'irradiation a une place dans le traitement palliatif des localisations non chirurgicales. Le choix de la dose dépend du site d'implantation et de l'espérance de vie.

### **III - CHIMIOThERAPIE**

Le mélanome est considéré comme une tumeur chimio-résistante. Les traitements systémiques utilisés en adjuvant ou dans le cadre d'une forme métastatique ont été longtemps insuffisants ou peu efficaces, au point que le mélanome disséminé constitue toujours un défi thérapeutique.

Sur 30 médicaments proposés dans ces indications, le National Cancer Institute (NCI) a relevé que seuls deux d'entre eux utilisés en monothérapie permettaient d'obtenir un taux de réponse supérieur à 10 %.

La dacarbazine (Déticène<sup>®</sup> : DTIC), les nitrosourées mais plus récemment les dérivés du Platine font partie des médicaments dotés d'une activité qui est cependant brève. Plus récemment, dans les années 1985, a été développée en France une nitrosourée de troisième génération : la fotémustine (Muphoran<sup>®</sup> : FTMU). Des études internationales de ce médicament ont mis en évidence une activité significative dans le mélanome, y compris dans les sites cérébraux et viscéraux. Parallèlement, une place dans l'arsenal thérapeutique du mélanome a été dévolue à l'usage de certains modificateurs de la réponse biologique tel l'interféron alfa-2a (IFN- $\alpha$ ) et l'interleukine-2 recombinante (rIL-2) avec des résultats réels mais décevants.

L'intérêt plus récent pour des associations de chimio-immunothérapie semble plus prometteur même si les résultats actuellement disponibles, s'ils sont incontestables en terme de taux de réponse, restent à l'évidence à améliorer en terme de survie.

### 3.1 - MONOCHIMIOThERAPIE

L'activité des différents médicaments dans le mélanome malin est retranscrite dans le tableau V :

**Tableau V : Efficacité des antitumoraux.**

Agents		Nombre de patient évalués	Réponse		
			RC + RP	%	95 % CI (%)
Dacarbazine (DTIC)	1976	1936	382	20	18 - 22
Carmustine (BCNU)	1976	122	22	18	11 - 25
Lomustine (CCNU)	1974	270	35	13	9 - 17
Tauramustine (TCNU)	1988	42	7	17	6 - 31
Fotémustine (FTMU)	1987	153	37	24	17 - 31
Cisplatine (CDDP)	1965	188	43	23	17 - 29
Carboplatine (CBDCA)	1987	43	7	16	5 - 27
Vincristine (VCR)	1968	52	6	12	3 - 20
Vinblastine (VCB)	1965	62	8	13	5 - 21
Vindésine (VDS)	1983	273	39	14	10 - 18
Paclitaxel (Taxol)	1990	65	12	18	9 - 28
Dibromodulcitol	1984	205	28	14	9 - 18
Détorubicine	1987	42	8	19	7 - 31
Piritrexime	1991	31	7	23	8 - 37

*D'après A. BENHAMMOUDA, G. AUCIERC, D. COEFFEC et al. Chimiothérapie et Immunothérapie des mélanomes malins métastatiques. La Presse Médicale 1996;25(35):1690-7*

RC : Réponse Complète, RP : Réponse Partielle, CI : 95 % : intervalle de confiance des réponses objectives.

#### 3.1.1 – dacarbazine

Elle semble montrer une activité dans cette indication. Elle permet d'obtenir une réponse objective (RO) de l'ordre de 20 % (tableau V). Les réponses obtenues sont essentiellement cutanées, sous cutanées, ganglionnaires et pulmonaires. Par contre, les réponses au niveau du foie, de l'os et du système nerveux central sont rares<sup>24-37</sup>.

La durée médiane de réponse est de 5 mois. Le taux de réponses complètes (RC) est d'environ 5 %. Ces réponses complètes sont obtenues au niveau des sites métastatiques ganglionnaires et sous-cutanés et 31 % des patients présentant une réponse complète ont une survie sans rechute à 6 ans. Environ 2 % des patients traités par le DTIC ont une longue survie.



Le DTIC est aujourd'hui bien toléré. En effet, les toxicités majeures étaient des nausées, vomissements qui sont à présent bien contrôlés par les corticoïdes, les antagonistes aux récepteurs 5HT3 de la sérotonine <sup>98</sup>. La neutropénie et la thrombopénie sont modérées et surviennent vers le 10<sup>me</sup> jour de traitement ; la diarrhée et les réactions de photosensibilité sont rares.

### **3.1.2 - fotémustine**

Elle a une activité intéressante dans le mélanome. Elle permet d'obtenir 24,2 % de réponses objectives avec une durée médiane de réponse de 6 mois.

Les résultats obtenus, lorsque la fotémustine est prescrite en première intention, mettent en évidence un taux de réponse objective de 30 %. Grâce à sa liposolubilité, elle franchit la barrière hémato-encéphalique et permet d'obtenir un taux de réponse objective au niveau des métastases cérébrales de 25 % <sup>47-40-41</sup>.

Au niveau des métastases viscérales, le taux de réponse est de 19.2 % et des métastases non viscérales de l'ordre de 31.8 %. Ce médicament est actif sur tous les sites métastatiques et ce, apparemment, indépendamment de la masse tumorale. Le taux de réponse et la survie sont meilleurs si les patients sont en bon état général et s'ils sont traités en première ligne métastatique.

Elle est bien tolérée puisque non alopeciante et non émétisante. La toxicité hématologique (neutropénie et thrombopénie) est modérée, prévisible et réversible. Elle survient le 35<sup>me</sup> jour et est généralement réparée vers le 42<sup>me</sup> jour.

### **3.1.3 - dérivés du platine**

Ils ont une activité modeste dans cette indication. Le cisplatine (Cisplatyl<sup>®</sup> : CDDP) <sup>3-68</sup> a été étudié à différentes doses (tableau VI). Sur plus de 100 patients inclus, le taux de réponse était aux environs de 23 % avec des toxicités non négligeables : digestives, neurologiques et rénales. L'utilisation d'agent protecteur tel le WR 2721 (Ethyol<sup>®</sup>) laissait espérer l'utilisation de fortes doses de cisplatine, avec amélioration du taux de réponse et de la durée de réponse. Ceci n'a pas été démontré.

Tableau VI : Activité du cisplatine.

Dose de CCDP	Nombre de Patients évalués	Nombre de réponses (%)	Réponse complète %
< 100 mg/m <sup>2</sup> (1979)	10	1 (10)	0
100 - 149 mg/m <sup>2</sup> (1988)	125	28 (22)	2
> 150 mg/m <sup>2</sup> (1990)	53	14 (26)	6
<b>TOTAL</b>	<b>188</b>	<b>43 (23)</b>	<b>8</b>

D'après BENHAMMOUDA et al. *Chimiothérapie et immunothérapie des mélanomes malins. La Presse Médicale* 1996;25(35):1690-7.

Bien que des réponses complètes soient observées, la durée médiane de réponse est de 3 mois <sup>50</sup>.

Le carboplatine et l'oxaliplatine ne semblent pas apporter de bénéfice par rapport au cisplatine.

### 3.1.4 - famille des nitrosourées

carmustine (BCNU), lomustine (CCNU), sémustine (Méthyl-CCNU) donnent des réponses similaires à celles du DTIC.

### 3.1.5 - vinca-alcaloïdes

Cette famille (vindésine, vincristine et vinblastine) a une activité limitée dans le mélanome et donne des réponses objectives de 12 à 14 % <sup>101</sup>.

### 3.1.6 - famille des taxanes

Le paclitaxel, extrait de l'écorce de l'arbre de l'If du Pacifique (*Taxus Brevifolia*) a permis d'obtenir 18 % de réponse objective <sup>55</sup>.

Le docétaxel, dérivé semi-synthétique de la famille de l'If d'Europe (*Taxus Beccattra*) a permis d'obtenir un taux de réponse objective de 15 %.

### 3.1.7 - dibromodulcitol

Produit liposoluble, il semble avoir une activité dans cette indication (tableau V).

## SURVIE

Sous dacarbazine, la survie sans rechute est de 5 mois et 31 % des patients atteints de lésions ganglionnaires et/ou cutanées et répondeurs complets sont survivants à plus de 6 ans<sup>37</sup>. Les facteurs pronostiques des longs survivants sous traitement par dacarbazine sont les répondeurs ou stabilisés par rapport aux non répondeurs.

La survie moyenne sans rechute des patients traités par fotémustine est de 6 à 7 mois. Onze % des patients ont une survie à 3 ans. L'analyse statistique multi-factorielle des 153 patients enrôlés dans l'étude initiale de la fotémustine<sup>40</sup> a permis d'observer 13 longs survivants ayant plus de 3 ans de recul (4 avaient des métastases cérébrales, 3 des métastases viscérales, 6 des métastases non viscérales).

Cette étude a permis de tirer les conclusions suivantes : les patients traités par fotémustine ayant une probabilité de longue survie sont :

- les patients répondeurs ou stabilisés à la fotémustine,
- les patients en bon état général,
- les patients n'ayant par reçu de chimiothérapie antérieure à la fotémustine.

En résumé, trois produits donnent des réponses objectives d'environ 20 % quand ils sont utilisés en monothérapie dans le mélanome (tableau VII).

**Tableau VII : Comparaison des taux de réponse des patients sous DTIC-CDDP- FTMU.**

	DTIC	CDDP	FTMU
RO	20	23	24
RC	5	2	10
RP	15	21	14
Survie sans rechute (mois)	5	3	6

Ces réponses ne sont malheureusement pas durables et n'excèdent pas 6 mois.

### 3.2 - POLYCHIMIOThERAPIE

La polychimiothérapie qui est proposée aux patients atteints de mélanome inopérable ou métastatique associe principalement des médicaments comme la dacarbazine, le cisplatine et la fotémustine. Ces associations permettent d'obtenir des résultats intéressants. Les tumeurs avec localisations multiviscérales et cérébrales secondaires sont les meilleures candidates à une polychimiothérapie.

#### 3.2.1 – à base de dacarbazine

Les différentes associations ainsi que leur taux de réponse et leur médiane sont donnés dans le tableau VIII.

**Tableau VIII : Associations à base de dacarbazine.**

Auteurs		Schéma	Nombre de patients évalués	Taux de RO en %	Durée médiane de réponse (mois)
<b>Association de 2 drogues</b>					
<i>Cortanza</i>	1972	+ Nitrosouré	238	17	0,5 - 7
<i>Joensuu</i>	1991				
<i>Fletcher</i>	1988	+ CDDP	30	37	7
<i>Legha</i>	1989	+ VLB	50	40	10
<i>Cocconi</i>	1992	+ Tam	117	29	6
<i>Lee</i>	1993	+ FTMU	60	30	6
<b>Association de 3 drogues</b>					
<i>Carter</i>	1976	+ BCNU + Hydroxyurée	329	23	6 - 7
<i>Cortanzi</i>	1984				
<i>Grundersen</i>	1987	+ VDS + CDDP	119	28	4 - 6
<i>Verschraegen</i>	1988				
<i>Legha</i>	1990	+ CDDP + VLB	50	40	9
<i>Ringborg</i>	1990	+ CDDP + VDS	40	38	4
<i>Mac Clay</i>	1992	+ CDDP + BCNU	20	10	8 - 9
<i>Buzaid</i>	1991	+ CDDP + Tam	74	15	2 - 64
<i>Ferri</i>	1994				
<i>Karakousis</i>	1979	+ CDDP + procarbazine	13	15	3
<i>Cohen</i>	1977	+ BCNU + VCR	40	43	4
<b>Association de 4 drogues</b>					
<i>Seigler</i>	1980	+ BLM + CCNU + VCR	292	32	4 - 7
<i>Ahn</i>	1983				
<i>Jose</i>	1985				
<i>Del Prete</i>	1984	+ CDDP + BCNU + Tam	141	46	3 - 10
<i>Mc Clay</i>	1989				
<i>Richards</i>	1992				
<i>Young</i>	1985	+ CCNU + VDS + BLM	25	45	6
<i>Mac Kelvey</i>	1977	+ CDDP + VCR + procarbazine	13	15	4
<i>Varimi</i>	1987	+ BCNU + VCR + chlorpromazine	121	22	10

CDDP : cisplatine - VLB : vinblastine - Tam : tamoxifène - FTMU : fotémustine - BCNU : carmustine

VDS : vindésine - VCR : vincristine - BLM : bléomycine

*D'après BENHAMMOUDA et al. Chimiothérapie et immunothérapie des mélanomes malins. La Presse Médicale 1996;25(35):1690-7.*

La meilleure association de la dacarbazine est celle avec le cisplatine, le tamoxifène (Nolvadex® : TAM) et les nitrosourées, car elle permet de donner des réponses objectives de 46 % chez 141 patients. L'association dite "protocole de Darmouth" développée par Mc Clay et son équipe associant CDDP + BCNU + DTIC + tamoxifène est l'une des plus utilisées <sup>61</sup>. Néanmoins, la preuve a été récemment apportée de l'inutilité du tamoxifène dans cette indication <sup>83</sup>.

### 3.2.2 – à base de fotémustine

Une première association fotémustine + dacarbazine a été débutée dans un essai de phase II, en mai 88, par Avril et al. <sup>8</sup>. Soixante trois patients évalués présentaient un taux de réponse globale de 33.3 % dont 28.6 % sur les sites cérébraux, 23.1 % sur les sites viscéraux et 43.3 % sur les sites non viscéraux. La médiane de réponse était de 19 semaines (de 8 à 34 semaines). L'essai a été poursuivi et les résultats finaux sur 103 patients évaluable sont publiés en 1992 <sup>7</sup>. Ils obtiennent un taux de réponse globale de 27.2 % (dont 6 % de réponse complète) et confirme l'activité de l'association sur les sites cérébraux (26.3 % de réponse) et non viscéraux (37.5 % de réponse). La durée médiane de réponse s'élève à 21.5 semaines (de 8 à 53 semaines).

Khayat et al. <sup>45</sup> obtiennent 23 % de réponse globale en associant la fotémustine, la dacarbazine et la vindésine. Le schéma a été repris par une équipe parisienne <sup>81</sup>. Elle inclut 41 patients et obtient 32 % de réponse objective et 14 % de réponse complète. Ce qui attire l'attention dans cette étude, ce sont les réponses par site métastatique :

- 36 % de réponse objective ganglionnaire,
- 39 % de réponse objective cutanée et sous-cutanée,
- 29 % de réponse objective pulmonaire,
- 30 % de réponse objective hépatique.

La médiane de survie est de 10 mois.

Il semble que l'adjonction de vindésine apporte un avantage réel.

### 3.2.3 - à base de cisplatine

On obtient 40 % de réponse objective dans l'association fotémustine + CDDP + tamoxifène <sup>87</sup> dans une étude sur 15 patients et 46 % de réponse objective en associant BCNU + DTIC + CDDP + tamoxifène. L'association du cisplatine à la bléomycine + CCNU donne 48 % de réponse objective dans l'étude de Cohen contre 26 % si l'on associe la vinblastine à la place du CCNU <sup>50</sup>.

Pour les métastases cérébrales, l'association de cisplatine à la radiothérapie semble être une voie intéressante à explorer <sup>15</sup>.

### 3.2.4 - Association du tamoxifène

En temps qu'agent bio-modulateur, le tamoxifène a été associé à différents protocoles de polychimiothérapie (fotémustine - cisplatine - dacarbazine) qui ont permis d'obtenir un taux de réponse objective de 40 %. Son association avec la dacarbazine et le cisplatine a donné un taux de réponse d'environ 15 % <sup>23-33</sup>.

Une étude randomisée conduite par S. Legha <sup>54</sup> chez 39 patients traités par CDDP + VDS + DTIC + IFN- $\alpha$  avec ou sans tamoxifène n'a pas montré d'avantage en terme de réponse et de survie sans rechute dans le bras avec tamoxifène. Les résultats d'une étude récente comparant le protocole de Darmouth avec ou sans tamoxifène <sup>55</sup> a donné une réponse négative définitive. Il ne semble donc plus exister de justification à la poursuite de prescription de ce produit dans cette indication. De nouvelles études en cours devraient permettre de trancher définitivement sur la réalité du rôle du tamoxifène <sup>11</sup>.

En conclusion, la polychimiothérapie de référence actuelle est l'association fotémustine + dacarbazine  $\pm$  vindésine  $\pm$  cisplatine. Ce protocole a donné des réponses objectives qui ont été reproduites par différentes études internationales avec une toxicité modérée prévisible et réversible, sans détérioration de la qualité de vie.

## 3.3 - CHIMIOThERAPIE A HAUTE DOSE AVEC OU SANS AUTOGREFFE DE MOELLE OSSEUSE

L'intensification des doses est une stratégie thérapeutique qui a pour but de vaincre les résistances à la chimiothérapie car la monothérapie à dose normale a une activité limitée en terme de réponse et de survie dans le mélanome. L'augmentation des doses est un facteur qui permet d'améliorer le taux de réponse et ce, en particulier, avec les agents alkylants. La plupart des études ayant exploré les hautes

doses en phase I et II a utilisé les autogreffes de moelle osseuse. Les drogues utilisées sont les alkylants (Melphalan et Thiotepa<sup>®</sup>), la dacarbazine et les nitrosourées. Ces études ont en général inclus un nombre limité de patients. Bien que le taux moyen de réponse de 53 % paraisse élevé (tableau IX), les rémissions complètes sont rares ainsi que les taux de survie à long terme.

De hautes doses de Melphalan, BCNU et Thiotepa<sup>®</sup> ont induit des réponses objectives chez 40 % à 60 % des patients. La durée médiane de réponse était brève, identique pour les 3 agents et d'environ 3 à 6 mois. La survie obtenue en utilisant de fortes doses de DTIC ou BCNU en combinaison avec d'autres agents n'est pas meilleure que celle obtenue par ces agents utilisés seuls.

**Tableau IX : Résultats de la chimiothérapie à haute dose avec autogreffe de moelle osseuse .**

Drogues	Nombre de patients évaluables	Réponses			Durée médiane de réponse (mois)
		CR	RP	RO en %	
<i>Melphalan</i>	48	9	19	58 %	3 - 6
<i>BCNU</i>	29	4	7	38 %	6
<i>Thiotepa</i>	51	4	25	57 %	3
<i>DTIC, Melphalan</i>	27	5	11	59 %	4
<i>DTIC, Ifosfamide</i>	0	0	2	20 %	4
<i>BCNU, Melphalan</i>	8	1	5	75 %	4
<i>BCNU, CDDP</i>	7	1	2	43 %	3
<i>BCNU, CTX</i>	6	0	2	33 %	2,5
<i>BCNU, CDDP, CTX</i>	17	1	10	65 %	4,7
<b>TOTAL</b>	<b>203</b>	<b>25</b>	<b>83</b>	<b>53 %</b>	

RC : réponse complète - RP : réponse partielle - RO : réponse objective -

BCNU : carmustine - DTIC : dacarbazine - CDDP : cisplatine - CTX : cyclophosphamide

d'après LEE SM, BETTICHER DC and THATCHER. *Melanoma : chemotherapy. British Medical Bulletin* 1995;51(3):609-30

La toxicité de ces traitements est importante et fatale dans de nombreux cas en utilisant de très hautes doses. Bien que l'utilisation des facteurs de croissance hématopoïétique et que la technique de recueil des cellules souches périphériques réduisent la toxicité notamment hématologique, les réactions extra-médullaires restent potentiellement mortelles. Ceci concerne les complications gastro-intestinales du

Melphalan, cardio-pulmonaires et hépatiques du BCNU ainsi que la maladie veino-occlusive du foie due à la dacarbazine <sup>28</sup>.

Ce traitement ne peut raisonnablement être proposé au patient que dans le cadre d'un essai randomisé et n'a pas encore sa place de façon courante dans le mélanome métastatique. Des essais doivent déterminer si de nouvelles combinaisons sont meilleures que les 3 drogues "phares" : Déticène<sup>®</sup>, BCNU et Thiotépa<sup>®</sup>.

La meilleure indication actuelle de la chimiothérapie haute dose avec greffe autologue de moelle osseuse ou réinjection de cellules souches périphériques semble être un traitement de consolidation chez les patients en rémission complète après une chimiothérapie à dose standard.

## **IV - IMMUNOTHERAPIE**

Que le mélanome soit une tumeur immunogénique a déjà été remarqué et proposé depuis une vingtaine d'années. La tentation d'utiliser le système immunitaire comme arme thérapeutique dans ce type de cancer n'est pas nouvelle. Les premières approches thérapeutiques, brillantes sur le plan intellectuel mais décevantes sur le plan clinique, ont relativement tempéré, vers la fin des années 70, le développement de la recherche clinique fondée sur la manipulation du système immunitaire. Les progrès de l'immunologie fondamentale, l'amélioration des techniques de biologie moléculaire mais surtout l'apport du génie génétique ont permis de mieux caractériser les mécanismes intimes de la régulation du système immunitaire et ont incontestablement ouvert une nouvelle voie thérapeutique en cancérologie.

Il faut considérer l'immunothérapie non spécifique appelée à l'heure actuelle biothérapie et l'immunothérapie spécifique. La biothérapie est une approche thérapeutique qui consiste à utiliser les modificateurs de réponse biologique qui sont le plus souvent des cytokines (Interféron, Interleukine...). L'immunothérapie spécifique ouvre la voie de la vaccination antitumorale et sera évoquée plus loin.

### **4.1 - INTERFERONS**

Ils sont des médiateurs biologiques qui, en se fixant sur des récepteurs membranaires, déclenchent une réponse cellulaire pléiotropique dont découle leur activité antivirale, antiproliférative et



immunomodulatrice <sup>97</sup>. Les interférons ont fait l'objet d'innombrables essais thérapeutiques <sup>52</sup>, le plus souvent contradictoires, qu'il serait obsolète et inutile de détailler ici. Deux sont actuellement employés et ont obtenu leur autorisation de mise sur le marché (A.M.M.) : ce sont l'interféron alpha-2a et l'interféron alpha-2b.

Quels sont les résultats que l'on peut attendre des interférons ?

#### **4.1.1 - en monothérapie**

Les taux de réponse semblent se situer autour de 15 % (6 à 27 %) <sup>51-53</sup>. Les taux de réponse complète oscillent autour de 5 % avec une durée de réponse qui permet d'atteindre 12 mois, soit quelques mois de plus qu'avec une chimiothérapie classique. Les réponses sont essentiellement cutanées, ganglionnaires ou pulmonaires. Les réponses viscérales sont très rares et les réponses cérébrales inexistantes. La pénibilité <sup>34</sup> et le coût de ces traitements justifient qu'ils ne soient présents, en monothérapie, que dans des cas susceptibles de répondre, c'est à dire en cas de faible masse tumorale, de lésions peu évolutives et en l'absence de métastases hépatiques et cérébrales <sup>15</sup>.

#### **4.1.2 - en association à la chimiothérapie**

- *dacarbazine* :

De nombreux essais ont été réalisés en partant de l'hypothèse que cette association pouvait avoir des effets antitumoraux synergiques et/ou additifs. La drogue la plus souvent utilisée est la dacarbazine et 4 études randomisées donnent des résultats contradictoires qui sont rapportées dans le tableau X. Les taux de réponse sont approximativement de 20 %.

La première démonstration de l'efficacité de l'association a été apportée par Falkson et al. en 1991<sup>31</sup> qui obtiennent une différence significative, en faveur de l'association en terme de taux de réponse, de survie sans rechute et de médiane de survie. La restriction apportée à ces résultats encourageants est due au faible effectif des 2 cohortes.

En contradiction avec cette étude, 2 larges essais randomisés multicentriques <sup>94-9</sup> ne montrent pas d'avantage à l'association par rapport au DTIC seul. L'augmentation des doses d'IFN- $\alpha$  (de 3 à 9 millions d'unités) s'est avérée par ailleurs plus toxique et moins efficace (28 % de réponse objective contre 23 %).

La dernière étude de Falkson et al. <sup>32</sup> comparant DTIC + IFN- $\alpha$ 2a  $\pm$  tamoxifène n'a pas permis de confirmer ses premiers résultats.

**Tableau X : Essais randomisés comparant la dacarbazine seule à l'association IFN- $\alpha$  plus DTIC.**

Auteurs	Schéma	Nombre de patients	Réponses objectives (%)	Durée de réponse (mois)
<i>Falkson et al. 1991</i> <sup>31</sup>	-DTIC 200 mg/m <sup>2</sup> +rIFN- $\alpha$	30	53	8.9
	15/10 MIU/m <sup>2</sup> /j x 3/S -DTIC 200 mg/m <sup>2</sup>	31	20	2.5
<i>Thomson et al. 1993</i> <sup>96</sup>	-DTIC 200/800 mg/m <sup>2</sup> + rIFN- $\alpha$	87	21	8.4
	3/9 MIU/m <sup>2</sup> /j -DTIC 800 mg/m <sup>2</sup>	83	17	9.4
<i>Bajetta et al. 1994</i> <sup>9</sup>	-DTIC 800 mg/m <sup>2</sup> + rIFN- $\alpha$	76	28	8.4
	9 MIU/j	84	23	5.5
	-DTIC 800 mg/m <sup>2</sup> + rIFN- $\alpha$	82	20	2.5
	3 MIU x 3/S -DTIC 800 mg/m <sup>2</sup>			
<i>Falkson et al. 1997</i> <sup>32</sup>	-DTIC 200 mg/m <sup>2</sup> + rIFN- $\alpha$	65	21	2.6
	15/10 MIU/m <sup>2</sup> /j x 3/S -DTIC 200 mg/m <sup>2</sup>	67	12	2.6

- CDDP :

Cette combinaison a fait l'objet d'une étude de phase II rapportée par Margolin et al. en 1992<sup>59</sup>. Ils obtiennent 24 % de réponse objective dont 7 % de réponse complète (3 patients) dont la durée de réponse atteint 5,8 à 31 mois. La durée médiane de réponse est de 4.4 mois et la médiane de survie de 7.4 mois.

- combinaison de plusieurs agents chimiothérapeutiques :

Les 3 schémas les plus utilisés sont BOLD (bléomycine, vincristine, lomustine, dacarbazine) ; CVD (cisplatine, vinblastine, dacarbazine) et le protocole de Darmouth (cisplatine, dacarbazine, carmustine, tamoxifène). Les taux de réponse varient de 26 à 68 %<sup>53</sup>.

## 4.2 - INTERLEUKINE-2 RECOMBINANTE

Isolée pour la première fois en 1976 par le groupe R. Gallo<sup>67</sup> clonée en 1993<sup>92</sup>, l'IL-2 a été développée en thérapeutique humaine par l'équipe de Rosenberg qui publie les premiers résultats en 1985<sup>82</sup>. Produite par les lymphocytes CD4 + activés<sup>27-30</sup>, l'IL-2 favorise le développement des lymphocytes T cytotoxiques (Ltc) et la prolifération des cellules T et B, augmente l'activité des cellules Natural Killer (NK)<sup>85</sup>, stimule l'activité des Lymphokines Activated Killers (LAK) : lymphocytes cytotoxiques non T, non B ; augmente l'activité antitumorale des macrophages et induit la prolifération de diverses lymphokines (en particulier l'IFN- $\gamma$ , le Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )).

La rIL-2 a été testée en administration sous-cutanée, en intraveineuse (en bolus ou en perfusion continue), seule ou associée à une immunothérapie passive adoptive liée à l'activation ex-vivo de cellules immunocompétantes réinjectées au patient (LAK ; TIL : Tumor-infiltrating Lymphocytes).

Récemment, Philip<sup>73</sup> rapporte une analyse de la littérature. Les résultats acquis après plus de 10 années d'essais thérapeutiques sont les suivants :

### 4.2.1 - rIL-2 seule :

Les résultats favorables initiaux n'ont pas été confirmés ultérieurement. Les différentes équipes obtiennent entre 9 et 20 % de réponse objective, le plus souvent partielle mais parfois durable. La modalité en bolus donne de meilleurs résultats que la perfusion continue mais avec une toxicité accrue.

### 4.2.2 - rIL-2 + LAK :

Les résultats ont suivi la même évolution que ceux obtenus avec la rIL-2 seule : encourageants au début mais ils ont été suivis d'une diminution progressive du taux de réponse aux environs de 15- 20%. L'intérêt des LAK paraît quasi inexistant aujourd'hui.

### 4.2.3 - rIL-2 + TIL $\pm$ Cyclophosphamide :

Là encore, on retrouve la même évolution dans les résultats obtenus par les différents essais. On remarque toutefois des réponses sur tous les sites métastatiques, y compris viscéraux et l'obtention de rémissions extrêmement durables pour un groupe limité mais indiscutable de patients. Malgré cela, la lourdeur et le coût de la méthodologie, le délai d'attente entre les prélèvements, le bénéfice non réellement prouvé sont des écueils certains de la méthode. Les caractéristiques de ces cellules les

rendent par contre particulièrement attrayantes pour vectoriser au site même de la tumeur des gènes de cytokines par l'intermédiaire de rétrovirus. Le concept de thérapie génique trouve dans cette approche un support de choix et fait actuellement l'objet de nombreuses recherches.

Au total, les taux de réponses espérés sont de 15 à 20 %. En dépit de nombreux essais, avec ou sans LAK et/ou TIL, la dose optimale et le schéma d'administration de la rIL-2 restent un sujet de controverse.

## **V - ASSOCIATION CHIMIO-IMMUNOTHERAPIE**

Il s'agit certainement là d'une des approches thérapeutiques les plus attrayantes et prometteuses. De nombreux arguments suggèrent un bénéfice d'une telle association appelée biochimiothérapie.

### **5.1 - ARGUMENTS THEORIQUES**

Ce type de combinaison permet d'associer deux modes de cytotoxicité radicalement opposés. Cette démarche peut théoriquement conduire à des effets additifs ou synergiques.

### **5.2 - ARGUMENTS CELLULAIRES**

La réduction tumorale par des agents cytotoxiques pourrait démasquer des structures antigéniques membranaires (peptides, oncogènes, complexe HLA, récepteurs de cytokines...) sensibles aux cellules effectrices stimulées par l'IL-2. Inversement, la cytolysse induite par ces médiateurs cytotoxiques et leurs interactions avec de nombreux récepteurs membranaires pourraient favoriser la pénétration intracellulaire des agents antimitotiques et moduler leurs structures cibles<sup>57</sup>.

### **5.3 - ARGUMENTS PRECLINIQUES**

Certains antimitotiques tels le cyclophosphamide, le cisplatine, l'adriamycine possèdent un rôle immunomodulateur. Les travaux de Berg en 1984<sup>16</sup> puis ceux de Mitchell en 1988<sup>66</sup> montrent ce rôle immunomodulateur du cyclophosphamide. A doses moyennes, il diminue de façon sélective les lymphocytes T suppresseurs favorisant une meilleure coopération entre les différentes sous-populations lymphocytaires stimulées par l'IL-2.

#### **5.4 - ARGUMENTS PHARMACODYNAMIQUES ET PHARMACOCINETIQUES**

Les effets engendrés par l'IL-2 (syndrome de fuite capillaire, insuffisance rénale, modifications des fonctions hépatiques...) peuvent entraîner une modulation des paramètres pharmacocinétiques d'un agent cytotoxique : diminution de la concentration plasmatique, diminution de l'AUC IL-2 dépendante, augmentation de la clairance corporelle totale et augmentation du volume de distribution <sup>44</sup> .

Les principaux schémas développés sont rapportés dans le tableau XI .

Tableau XI : Principaux essais de chimio-immunothérapie.

investigateurs	Régime	Nombre de patients	RC %	RP	RO %	Durée médiane de réponse	Survie en (mois)
Blair (1991)	CDDP J1 DTIC J1 IL-2 bolus J12-15/J19-23	28	5 (18)	7	43	-	10 +
Demchak (1991)	CDDP HD, J 33, 54 IL-2 bolus J1 - 5, 19 - 19	27	3 (11)	7	37	4	-
Hamblin (1992)	CDDP J1 DTIC J1 IL-2 CT, J12 - 17, J20 - 25	12	3 (25)	7	83	-	-
Richards (1992)	IFN SC CDDP J1 - 3/J22 - 25 BCNU J1, DTIC J1 - 3 TAM oral 2x/J/6 semaines IL-2 bolus J4 - 8/J17 - 21 IFN SC J4 - 8/J17 - 11	74	11 (15)	29	57	9,1	14
Legha (1996)	CDDP - DTIC VLB/IL-2 IFN	62	13 (25)	23	58	5	12
Khayat (1994)	CDDP J0 IL-2 CT, J3 - 6/J17 - 21 IFN SC 3x/semaine	105	10 (9.5)	39	48.5	7	11

La plupart des équipes obtient des résultats très encourageants avec des taux de réponse d'environ 50 % dont des réponses complètes (entre 10 et 25 %).

Les résultats sont toutefois difficilement comparables du fait des différences de doses et de modalités d'injection et de la rIL-2, de l'IFN- $\alpha$  et la chimiothérapie.

Néanmoins, ils semblent indiquer un progrès en matière de longs survivants et de médiane de survie.

Récemment, Legha et al.<sup>53</sup> ont analysé de façon rétrospective 155 patients traitées par CVD (cisplatine + vinblastine + dacarbazine) + IL-2+ IFN- $\alpha$  et ont comparé leurs résultats avec ceux obtenus sur 285 patients traités par chimiothérapie à base de dacarbazine mais sans immunothérapie. L'analyse montre un avantage de la chimio-immunothérapie. L'association permet plus de réponse complète (17 % contre 6 %) et un plus grand nombre de RC durables (10 % contre 1.4 %). Parmi les patients traités par chimio-immunothérapie, 10 % sont en rémission complète avec une médiane de 30 mois (14 à 55). La rémission complète produite par la chimiothérapie est observée en cas de faible volume tumoral et dans des sites métastatiques intraviscéraux (tissus mous ou poumons). Les RC produites par la chimio-immunothérapie surviennent aussi dans les métastases viscérales et intéressent 6 patients porteurs de localisations osseuses et hépatiques.

En dépit de la toxicité, la biochimiothérapie peut produire un bénéfice en terme de survie chez les patients métastatiques. Ces schémas produisent les plus forts taux de réponses objectives (environ 50%), jamais atteints par chimiothérapie ou immunothérapie seule. Les durées de réponses sont également améliorées. Des rémissions complètes durables, associées à des survies sans rechute de plus de 2 ans, sont maintenant possibles chez environ 10 % des patients. Ces résultats sont très encourageants à la lumière des essais passés. Néanmoins, des études prospectives doivent être réalisées afin de définir le rôle de la biochimiothérapie chez de tels patients.

## **VI - IMMUNOTHERAPIE SPECIFIQUE**

De nombreuses observations suggèrent que le mélanome humain exprime des antigènes susceptibles de provoquer une réaction immunologique bénéfique. A partir de stratégies mises au point d'abord chez la souris pour l'identification d'antigènes tumoraux murins, l'équipe de T. Boon du Ludwig Institut de Bruxelles a découvert et réussi à cloner le premier gène appelé Mage-1 (Melanoma antigen) codant pour un antigène tumoral<sup>99</sup>.

Le peptide qui en résulte et qui est produit au sein de la cellule tumorale s'associe avec les molécules de classe A1 du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) et se voit entraîner jusqu'à la surface cellulaire.

Là, le complexe formé par le peptide Mage-1 et HLA-A1 peut être reconnu par des lymphocytes T cytotoxiques (CD8+) avec comme résultat possible une lyse des cellules tumorales. C'est la première fois que des méthodes de biologie moléculaire permettent d'identifier un antigène exprimé uniquement par des cellules tumorales (à l'exception du testicule et parfois du placenta). Mage-1 est exprimé dans 40 % des mélanomes mais aussi dans d'autres types de tumeurs (poumon, sein, neuro-endocrine...). Le gène Mage-1 fait partie d'une famille de plusieurs gènes, présentant une grande similarité structurale. L'expression de Mage-1 peut être étudiée spécifiquement par transcription inverse et PCR (Polymérase Chain Réaction).

Les protocoles de vaccination cherchent donc à obtenir, après immunisation, une expansion des LTc CD8 + spécifiques dont le rôle apparaît déterminant pour l'acquisition d'une immunité antitumorale. Toutefois, des antigènes solubles sous forme de protéines recombinantes n'entraînent que rarement l'apparition de LTc. En effet, en raison des voies de présentation de l'antigène<sup>30</sup>, les antigènes exogènes sont internalisés par des endosomes et dégradés dans les lysosomes, puis les peptides issus de cette dégradation s'associent à des molécules HLA de classe II et sont présentés aux lymphocytes T CD4. Ce sont les protéines endogènes à la cellule qui sont dégradées en peptides dans le cytosol puis transportées dans le réticulum endoplasmique où elles s'associent aux molécules HLA de classe I. Le complexe sera alors présenté à la membrane cellulaire au LTc CD8. Différents procédés ont été successivement employés pour cibler des protéines exogènes vers une voie de présentation par des molécules HLA de classe I<sup>94</sup>. Ces travaux sont actuellement en cours au Ludwig Institute, au Centre Pluridisciplinaire d'Oncologie à Lausanne et dans d'autres centres du monde.

En résumé, le mélanome métastatique est le plus souvent de très mauvais pronostic du fait de sa relative chimio et radiorésistance. Les rares produits ayant montré une efficacité avec plus de 20 % de réponse sont la dacarbazine, le cisplatine et la fotémustine, leur combinaison permet d'atteindre 30 à 40% de réponse. Si l'immunothérapie par l'interféron- $\alpha$  est un peu décevante, l'interleukine-2 donne de meilleurs résultats ; la meilleure association actuelle reposant sur cisplatine, IFN- $\alpha$ 2 et rIL-2 avec obtention de très longues survies après arrêt du traitement.



**PATIENTS ET METHODES**

# PATIENTS

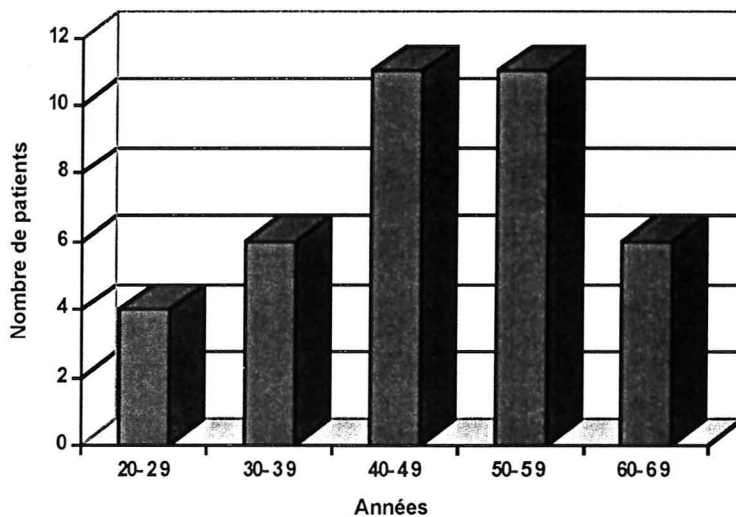
## *HISTOIRE ANTERIEURE*

### I - TUMEUR INITIALE

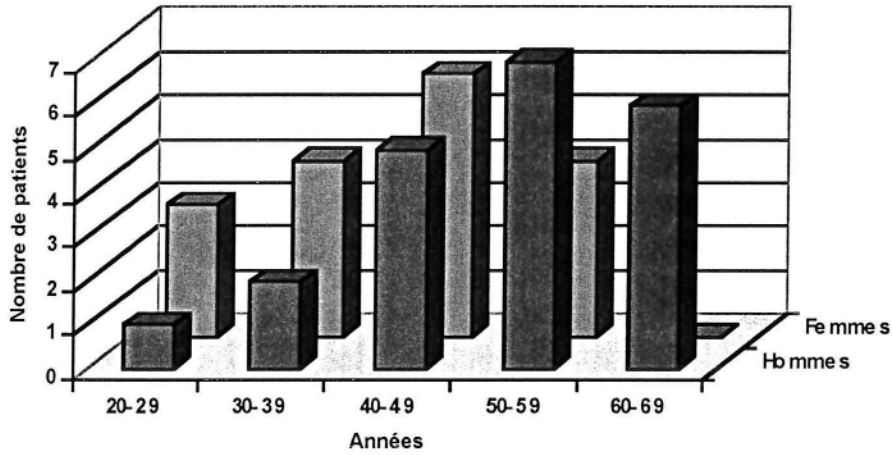
#### 1.1 - CARACTERISTIQUE DES PATIENTS

##### *1.1.1 -âge et sexe*

Notre population comporte 38 patients, répartis en 17 femmes (45 %) et 21 hommes (54 %). La moyenne d'âge est de 48 ans (23 ans- 68 ans). La population féminine, avec une moyenne d'âge de 43 ans (25 ans - 59 ans) est plus jeune que la population masculine (moyenne de 49 ans avec des extrêmes de 23 et 68 ans). La population globale par tranche d'âge retrouve plus de 50 % de la population âgée de 40 à 60 ans (fig.1).

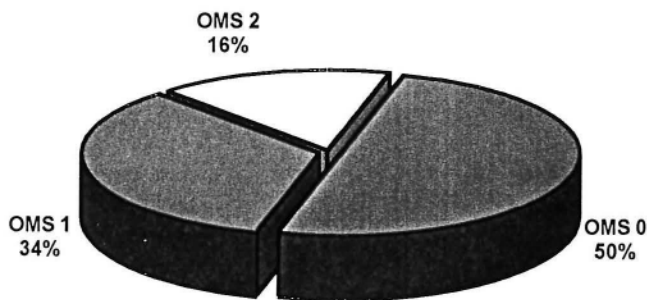


La répartition par sexe retrouve la plus forte représentation de la tranche 40 - 49 ans chez les femmes, de la tranche 50 - 59 ans chez les hommes (fig.2).



1.1.2 - *etat général*

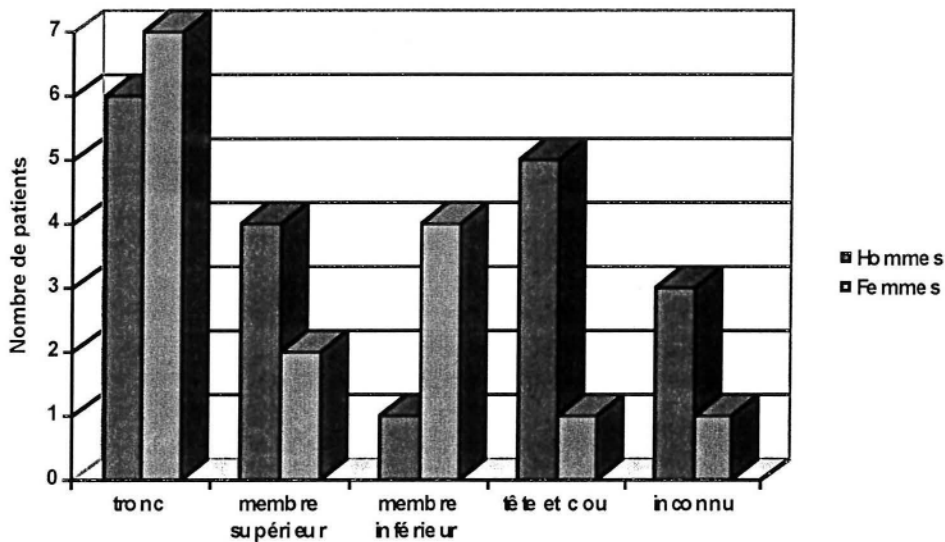
Il est apprécié et coté selon les statuts de performance de l'OMS (annexe V). Près de 50 % des patients sont OMS 0 (47 %), 30 % sont OMS 1 et 15 % sont OMS 2. Aucun patient n'avait un OMS  $\geq$  3 (fig.3).



L'amaigrissement n'est précisé que pour 18 patients : 7 ont un amaigrissement supérieur ou égal à 10 % et 11 ont un amaigrissement inférieur à 10 %.

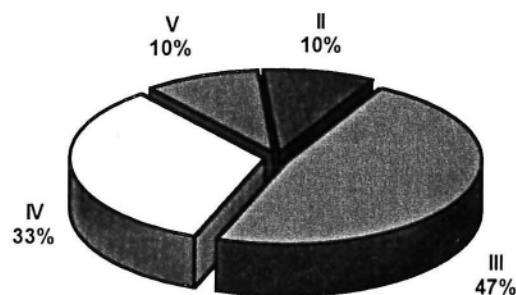
## 1.2 - SITE ANATOMIQUE

Il n'est pas précisé pour 5 patients, inconnu pour 4 patients. Pour les 29 patients dont le site initial est connu, la distribution selon le sexe est précisée sur la figure 4. Les localisations préférentielles des femmes sont le tronc et les membres inférieurs, celles des hommes le tronc et la région de la tête et du cou.



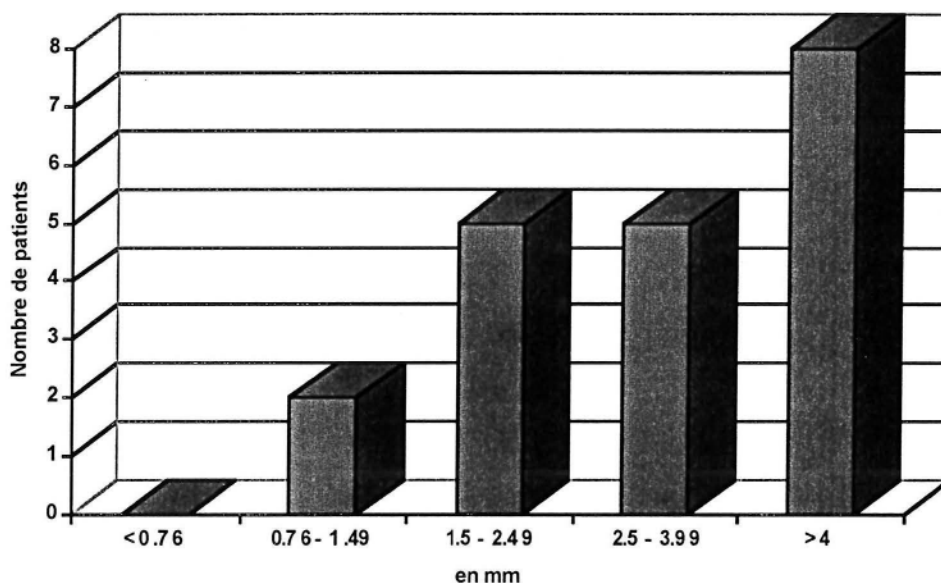
## 1.3 - NIVEAU D'INVASION DE CLARK

Il n'est pas précisé pour 13 patients, inconnu pour 4 patients en raison du caractère indéterminé de la tumeur primitive. On trouve une majorité de niveaux élevés III (10 patients) et IV (7 patients). (Fig. 5).



### 1.4 - INDICE DE BRESLOW

Il est connu pour 20 patients. La plus grande partie est représentée par un indice  $\geq 4$  mm. Aucun patient n'avait de lésions mesurant moins de 0,76 mm (fig.6).



### 1.5 - TRAITEMENT ADJUVANT APRES EXERESE

Deux patients ont reçu de l'interféron- $\alpha$  en sous-cutanée après l'exérèse, pendant au moins 6 mois. Aucun n'a reçu de chimiothérapie.

## II - RECHUTE LOCO-REGIONALE

Seize patients (42 %) ont présenté une rechute loco-régionale ganglionnaire dans le territoire de la tumeur initiale. Ils se répartissent en 9 hommes et 7 femmes. Le délai médian de la rechute ganglionnaire est de 16 mois (1 - 17).

### 2.1 - CHIMIOOTHERAPIE ADJUVANTE

Cinq patients ont reçu une chimiothérapie adjuvante après exérèse ganglionnaire. Les différents protocoles ont été :

- fotémustine + dacarbazine pour 3 patients
- Isoprinosine pour 1 patient
- Eldisine + Cisplatyl + Déticène pour 1 patient

## 2.2 - IMMUNOTHERAPIE ADJUVANTE

Les 5 patients précédents ainsi que 8 autres ont reçu de l'interféron- $\alpha$ , par voie sous-cutanée, à la posologie de 10 millions d'unités 3 fois par semaine, pendant 3 mois au moins. Deux patients n'ont reçu qu'un mois de traitement par interféron- $\alpha$  en raison d'une évolution métastatique sous traitement.

Le délai médian entre le début du traitement par l'interféron- $\alpha$  et l'évolution métastatique est de 7 mois (1 - 45 mois).

Le délai médian séparant le début du traitement par interféron- $\alpha$  du début de l'association cisplatine - interleukine 2 - IFN- $\alpha$  est de 10 mois (1 - 48 mois).

## 2.3 - RADIOTHERAPIE ADJUVANTE

Sur 16 patients ayant présenté une récurrence ganglionnaire, 10 ont bénéficié de radiothérapie après l'exérèse ganglionnaire ou le curage ganglionnaire.

Ils ont été traités selon la localisation, par des photons de 5 ou 25 MV selon un mode bi-fractionné. Ils ont reçu la dose de 50 Gy en 44 fractions de 1.15 à 2 Gy durant 4.5 semaines. Les deux séances étaient distantes de 6 heures environ. Le volume d'irradiation comprenait le ganglion atteint ainsi que le premier relais ganglionnaire sus-jacent.

En cas de fort volume tumoral ou en présence de rupture capsulaire constatée à l'analyse anatomopathologique, certains patients se sont vus délivrer, sur un volume restreint, un complément de dose de 10 Gy selon un mode mono-fractionné en 5 fractions de 2 Gy. L'énergie utilisée a été fonction du site anatomique et a compris des électrons ou des photons de faibles énergie.

### *Association chimio-immunothérapie CDDP-IL-2-IFN- $\alpha$ .*

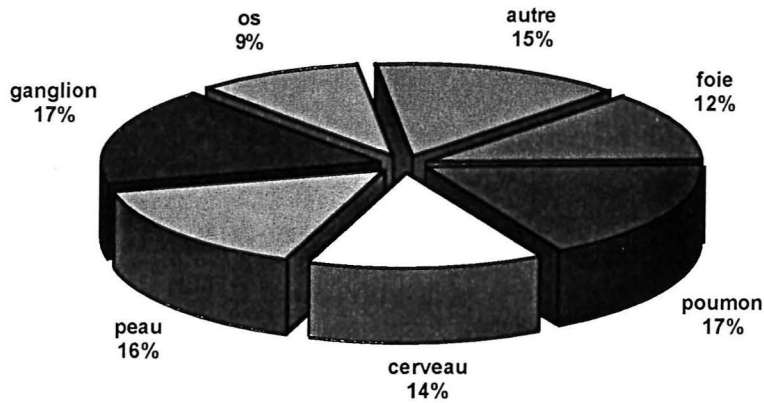
## I - EVOLUTION METASTATIQUE

### 1.1 - DELAI D'APPARITION DEPUIS LE DIAGNOSTIC

Quatre patients sont métastatiques au diagnostic. Pour les 34 autres, le délai médian entre le diagnostic initial et l'évolution métastatique est de 26 mois (5 - 319).

## 1.2 - SITES ANATOMIQUES

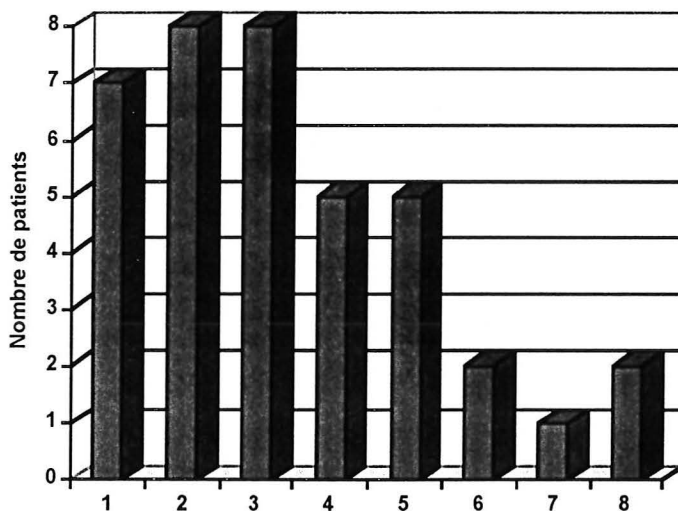
La répartition des principaux sites métastatiques est donnée par la figure 7.



Dix-sept patients présentent des localisations supplémentaires : pleurales (3), rétropéritonéales (4), péritonéales (3), spléniques (3), surrénales (3). D'autres localisations ont été observées de façon isolée : ovaire, moelle osseuse, voies biliaires, grêle, estomac, poumons, sphère ORL.

## 1.3 - NOMBRE DE SITES

Il est représenté sur la figure 8. La majeure partie de notre population (60 %) présente plus de 3 sites. Le nombre maximal de sites est de 8 (2 patients).



## 1.4 - TRAITEMENT DE PREMIERE INTENTION

### 1.4.1 - Chimiothérapie

Six patients ont reçu une première ligne de chimiothérapie en phase métastatique :

- 1 patient a reçu de la fotémustine seule
- 5 ont reçu l'association fotémustine + dacarbazine (dont 2 avec vindésine).

Un patient a reçu 2 lignes de chimiothérapie : il a été traité par dacarbazine + cisplatine puis par vincristine + bélustine.

### 1.4.2 - Immunothérapie

Sept patients ont été traités par immunothérapie :

- 4 ont reçu de l'IFN- $\alpha$  en première ligne
- 2 ont reçu de l'IFN- $\alpha$  en seconde ligne après une chimiothérapie
- 1 a reçu de la rIL-2 en troisième ligne après 2 lignes de chimiothérapie.

### 1.4.3 - Chirurgie

Un patient a été opéré d'une métastase cérébrale unique avant l'instauration de notre traitement.

Le traitement est celui proposé par le Professeur Khayat, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière à Paris, en janvier 1992. La spécificité grenobloise est d'avoir inclus des patients porteurs de métastases cérébrales.

Trente huit patients ont été traités entre avril 1992 et mars 1997. Cinq patients ont été traités dans le service du Pr. Khayat et trente trois patients dans le service d'Oncologie Médicale du Professeur Schaerer au Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble. Les indications thérapeutiques des patients grenoblois ont toutes été posées dans le cadre du comité d'Oncologie Générale de l'Unité de Concertation (Pr. SCHAERER).

Notre association a été administrée :

- En première ligne métastatique chez 31 patients
- En seconde ligne métastatique chez 4 patients
- En troisième ligne chez 2 patients
- En quatrième ligne chez 1 patient.



## **II - BILAN PRETHERAPEUTIQUE**

### **2.1 - CLINIQUE**

Le premier examen clinique du patient comporte obligatoirement un examen général en précisant le poids, la taille, la surface corporelle. On précise le statut de performance, la tension artérielle, la fréquence cardiaque, la température. Les cibles tumorales accessibles cliniquement sont mesurées et détaillées, photographiées si besoin.

### **2.2 - RADIOLOGIQUE**

Le bilan d'extension doit comporter obligatoirement, une tomodensitométrie thoraco-abdominale complétée parfois d'une échographie abdominale ou pelvienne, une radiographie pulmonaire de face et de profil, une tomodensitométrie cérébrale, une scintigraphie osseuse.

Le bilan préthérapeutique comporte un électrocardiogramme (ECG) ainsi qu'une mesure isotopique ou échographique de la fraction d'éjection ventriculaire gauche.

### **2.3 - BIOLOGIQUE**

Après s'être assuré de l'absence de contre-indications biologiques grâce aux prélèvements réalisés durant le bilan d'extension, on réalise à J0 une numération formule sanguine (NFS) plus compte plaquettaire, un bilan hépatique avec TGO, TGP,  $\gamma$ GT, PA et LDH, un bilan thyroïdien avec T3-T4-TSH, un ionogramme avec créatininémie et bilirubinémie.

La surveillance immunologique débute à J0 avec une numération des antigènes lymphocytaires (CD3, CD4, CD8, CD19, CD25, CD56) et un dosage sérique des cytokines (TNF-a, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6).

## **III - DEROULEMENT DU TRAITEMENT**

Chaque patient a bénéficié de la mise en place d'une chambre implantable avant le traitement

### **3.1 - TRAITEMENT D'INDUCTION**

- Le cisplatine est administré au J0 à la posologie de 100 mg/m<sup>2</sup>, après préhydratation de 4 heures et

suivi de 12 heures d'hydratation. Au total,  $2,5 \text{ l/m}^2$  de sérum salé isotonique additionné de potassium sont administrés durant les 22 heures d'hydratation.

- L'IFN- $\alpha$  est administré par voie sous-cutanée, à la posologie de  $9 \times 10^6$  UI par injection, 3 fois par semaine à partir de J3 soit un total de 12 injections.

- La rIL-2 est administrée de J3 à J6 et de J17 à J21, en perfusion continue, à la posologie de  $18.10^6$  UI/m<sup>2</sup>/24 h soit au total 9 jours de perfusion continue.

**J0.....J3.....J6.....J17.....J21.....J28**

**\*\*\*    \*\*\*    \*\*\*            \*\*\*            \*\*\***

**Cisplatine**

**Interleukine-2**

**Interferon- $\alpha$**

A J28, en l'absence de progression clinique de la tumeur ou de toxicité excessive de grade  $\geq$  III, les patients reçoivent un 2<sup>me</sup> cycle d'induction, identique au premier. Entre deux cycles d'induction, il est prévu une semaine de repos en poursuivant l'IFN- $\alpha$ . Un troisième cycle est réalisé chez les patients en réponse partielle après les 2 premiers cycles.

### **3.2 - TRAITEMENT D'ENTRETIEN**

Le traitement d'entretien commence au J66 ou au J94 et consiste en l'administration de :

\* CDDP : à la posologie de  $100 \text{ mg/m}^2$  en intraveineux à J1.

\* IFN-  $\alpha$  : à la posologie de  $9.10^6$  UI/j, en injection sous-cutanée, 3 fois par semaine, soit 12 injections au total.

\* rIL-2 : à la posologie de  $5.10^6$  UI/m<sup>2</sup>/j en injection sous-cutanée de J15 à J19 et de J22 à J26 soit 10 injections au total.

J0.....J15.....J19.....J22.....J26

\*\*\*      \*\*\*                  \*\*\*                  \*\*\*

Cisplatine

Interleukine-2

Interferon- $\alpha$

## IV - SURVEILLANCE DU TRAITEMENT

### 4.1 - CLINIQUE

Durant toute la durée de perfusion de la rIL-2, un examen clinique est réalisé quotidiennement. Les paramètres hémodynamiques (tension artérielle, fréquence cardiaque et température) sont notés toutes les 4 heures. La diurèse est relevée toutes les 4 heures ainsi que la température.

Un bilan entrée-sortie est réalisé chaque jour.

### 4.2 - BIOLOGIQUE

De façon mensuelle sont réalisés :

- numération formule sanguine plus plaquettes
- bilan hépatique
- bilan de coagulation
- bilan thyroïdien

Durant l'administration de la rIL-2 sont réalisés quotidiennement NFS+ plaquettes, ionogramme sanguin et urinaire.

Les numérations de populations lymphocytaires et le dosage de cytokines sont réalisés à J0 et J17 de chaque cycle.

Des prélèvements parviennent au Centre de Transfusion Sanguine pour étude de la capacité fonctionnelle des lymphocytes les J0 et J17, avec la collaboration du Dr . Jacob M.C. et du Dr.Giroud C..

### 4.3 - RADIOLOGIQUE

Une radiographie pulmonaire et un ECG sont réalisés selon un rythme mensuel.

### 4.4 - GESTION DES EFFETS SECONDAIRES

Les épisodes d'hypotension artérielle sont corrigés par l'administration précoce de macromolécules et en cas d'échec par l'instauration d'amines vasopressives.

La fièvre et le syndrome pseudo-grippal sont réduits par le paracétamol.

Des antiémétiques antisérotinergiques et des antidiarrhéiques sont utilisés à la demande en fonction des troubles gastro-intestinaux.

Les états d'anxiété liés au traitement sont traités, avec accord du patient, par de la midazolone (Hypnovel®) en perfusion continue à la posologie de 1 mg/h de 20 h à 8 h.

La rIL-2 est stoppée de façon transitoire en cas d'hypotension < 70 mm Hg de pression systolique non corrigée par les amines vasopressives et en cas de créatininémie > 250  $\mu\text{mol l}^{-1}$ . La reprise a lieu après normalisation de ces paramètres.

L'arrêt de la rIL-2 est définitif en cas d'insuffisance rénale de grade IV persistante, d'insuffisance respiratoire aiguë, de troubles du rythme ventriculaire, d'insuffisance coronaire aiguë et de troubles sévères de la vigilance.

La rIL-2 est également stoppée définitivement en cas de toxicité hématologique de grade IV.

La dose d'IFN- $\alpha$  est ajustée en fonction de l'hémogramme. Une thrombopénie < 50  $\text{G/l}^{-1}$  et une neutropénie < 1  $\text{G/l}^{-1}$  font suspendre les injections jusqu'à récupération d'une hématopoïèse suffisante (plaquettes  $\geq 100 \text{ G. l}^{-1}$ , PNN  $\geq 1 \text{ G.l}^{-1}$ ).

En fin de traitement, le patient est surveillé pendant 12 heures en veillant à la reprise de la diurèse, la normalisation de la fréquence cardiaque et de la tension artérielle, l'obtention de l'apyrexie.

## V - TRAITEMENT DE RATRAPAGE

### 5.1 - CHIMIOThERAPIE

Douze patients ont reçu l'association fotémustine + dacarbazine après échec de notre premier traitement.

Le traitement d'attaque a consisté en :

\* fotémustine : 100 mg/m<sup>2</sup>, IV, à J1 et J8.

\* dacarbazine : 250 mg/m<sup>2</sup>, IV, de J15 à J18.

Après une interruption de 5 semaines, débute le traitement d'entretien comportant :

\* fotémustine : 100 mg/m<sup>2</sup>, IV, à J1.

\* dacarbazine : 250 mg/m<sup>2</sup>, IV, J2 à J5.

Il est répété toutes les 3 à 4 semaines, en fonction de la tolérance hématologique.

## **5.2 - IMMUNOTHERAPIE**

Trois des précédents patients ont reçu par la suite une immunothérapie : 2 ont reçu de la rIL-2 seule, 1 a reçu l'association rIL-2 + IFN- $\alpha$ .

## **5.3 - HORMONOTHERAPIE**

Une patiente a reçu du tamoxifène en troisième ligne après notre traitement.

## **5.4 - RADIOTHERAPIE**

Cinq patients porteurs de métastases cérébrales symptomatiques ont reçu une irradiation panencéphalique à la dose de 30 Gy en 10 fractions pendant 2 semaines dans le service de Oncologie-Radiothérapie du Professeur Vrousos, à Grenoble.

## **5.5 - CHIRURGIE**

Une patiente a été opérée d'une métastasectomie hépatique après 3 cycles d'induction et une autre d'une métastasectomie pulmonaire après 2 cycles d'induction.

50

# METHODES

La base de données a été réalisée à l'aide du logiciel Excel 7.0 pour Windows.

## I - EVALUATION DE LA REPONSE ET DE LA TOXICITE

Bien que les résultats cliniques soient évalués avant chaque cycle, la mesure radiologique (échographie ou tomodensitométrie) est réalisée à J66, c'est à dire après 2 cycles d'induction. L'examen de référence est ensuite répété tous les 2 mois au moins.

L'évaluation de la réponse et de la toxicité est exprimée selon les critères de la World Health Organisation (WHO) (Annexe VI). Les 4 types de réponses sont définies par :

- **Rémission complète (RC)** : disparition de toutes les localisations de la maladie pendant au moins 4 semaines.
- **Réponse partielle (RP)** : réduction de plus de 50 % du produit des 2 plus larges diamètres de chaque métastase.
- **Stabilisation (STAB)** : diminution de moins de 50 % du produit des 2 plus larges diamètres de chaque métastase ou augmentation de moins de 25 % sans nouvelle lésion.
- **Progression (ECHEC)** : augmentation de 25 % et plus des métastases ou apparition de nouvelles lésions.

La durée de réponse est mesurée pour les patients en RC de la date de constatation de la RC jusqu'à la date de progression : elle est appelée durée de rémission.

La durée de réponse pour les patients en RP ou en STAB est calculée du premier jour du traitement jusqu'à la date de progression.

Nous avons également analysé l'intensité de dose (DI) de chimiothérapie délivrée au cours du premier cycle. Elle est exprimée en mg/m<sup>2</sup> /semaine et tient compte de la dose de chaque cycle et du délai intercycle. Elle est calculée pour chaque produit et pour l'ensemble des produits. Pour chaque produit, nous avons calculé la dose intensité relative (DIR). Exprimée en pourcentage, elle comprend un rapport DI du médicament/DI théorique du médicament prévue dans le protocole <sup>89</sup>.

## **II - EVALUATION DE LA SURVIE.**

La durée de survie est calculée du premier jour du traitement jusqu'à la date de décès ou de l'analyse statistique fixée au 25 juillet 1997 pour les 2 patients encore en vie.

Les courbes de survie ont été établies selon la méthode de Kaplan-Meier et sont comparées entre elles par le test de Log Rank.

## **III - TESTS STATISTIQUES.**

L'ensemble des calculs a été réalisé grâce au logiciel SPSS pour Window 5.

Les tests d'indépendance de la réponse en fonction des différents paramètres ont été réalisés par le test du  $X^2$  de Pearson.

Pour connaître l'évolution dans le temps des paramètres biologiques au sein d'une population, nous avons utilisé une analyse de variance non paramétrique basée sur le test de Friedman.

Pour la comparaison à J<sub>1</sub> des taux de l'II-6 et de TNF- $\alpha$  chez les deux populations, nous avons utilisé le test non paramétrique de Mann-Whitney.

**RESULTATS**



Cette partie aborde dans un premier temps les résultats que nous obtenons en terme de réponse puis de survie. Nous relaterons ensuite la toxicité observée durant cette étude.

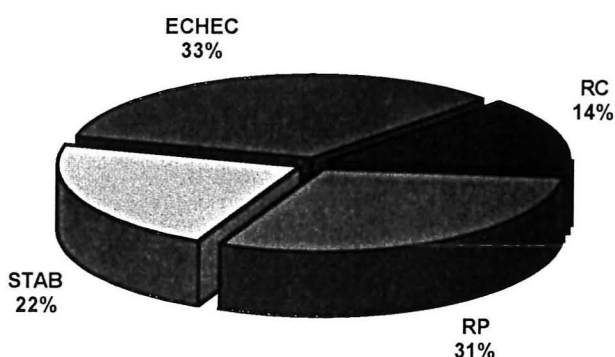
La deuxième partie analysera les résultats biologiques et nous évoquerons les premiers résultats d'une étude pilote visant à tester les capacités fonctionnelles des lymphocytes.

## I - REPONSES

Sur les 38 patients traités, 36 sont évaluables en terme de réponse. En effet, deux patients sont décédés durant le premier mois de traitement. Ils seront toutefois pris en compte en terme d'évaluation de la survie.

### 1.1 - GLOBALES

Toute population confondue (figure 9), nous constatons un taux de réponse objective de 44 % (16 patients) se partageant en 14 % de rémission complète (5 cas) et 31 % de réponse partielle (11 cas). 8 patients présentent une stabilisation ou une réponse mineure (22 %), 12 patients (33 %) sont en échec.



La durée médiane de rémission des 5 patients en RC est de 32 semaines (7 mois).

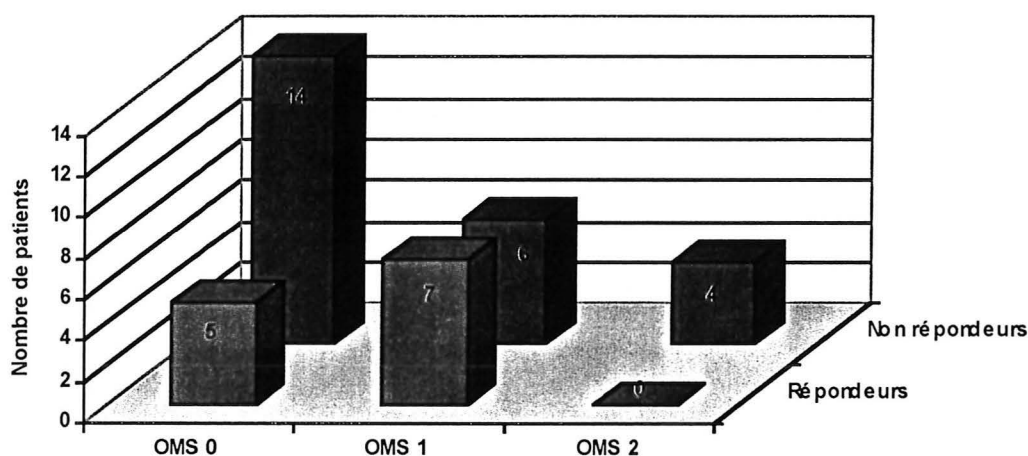
La durée médiane de réponse des patients répondeurs (RC, RP > 50 %) est de 23.5 semaines soit 5.2 mois (9-139 semaines).

Tableau XII : Résultats du traitement.

	Nombre de patients	Durée de réponse en semaines
<i>RC</i>	5	9 - 23 - 32 - 50 - 139
<i>RP &gt; 50 %</i>	11	11 - 17 - 17 - 17 - 18 - 23 - 24 - 26 - 26 - 42 - 54
<i>STAB</i>	8	1 - 3 - 5 - 10 - 11 - 15 - 24 - 28
<i>ECHEC</i>	12	-

Dans les chapitres qui vont suivre, nous considérons comme « répondeurs », les patients en RC, RP > 50 %, RP < 50 % ou STAB. Cela concerne 24 patients soit 66 % de la population globale. Par opposition, sont considérés comme « non répondeurs » les patients pour lesquels le traitement est un échec (12 patients soit 33 %). Nous allons analyser la réponse en fonction de différents paramètres afin de mettre en évidence d'éventuels facteurs pronostiques.

## 1.2 - SELON L'ETAT GENERAL



On remarque que 74 % des patients OMS 0 sont en RO (12 patients ) ou stabilisés (1 patient ) contre 61 % des patients OMS 1 ou 2 (3 RO et 4 STAB). On ne note aucun échec chez les 4 patients OMS 2 mais 1 RC, 1 RP > 50 %, 2 STAB. (Figure 10).

Malgré la toxicité certaine de ce traitement, le statut OMS 0, 1 ou 2 n'est pas un facteur pronostique de réponse (p : 0.08).

### 1.3 - SELON LE DELAI IFN ET L'EVOLUTION METASTATIQUE

Quinze patients ont reçu de l'IFN- $\alpha$  ( $10 \times 10^6$  UI, 3 fois par semaine) après une récurrence loco-régionale. Neuf ont présenté une évolution métastatique moins de 1 an après le début de l'IFN- $\alpha$ , parmi lesquels 4 n'ont pas répondu au traitement, 5 ont répondu (tous en RO).

Six ont présenté une évolution métastatique plus de 1 an après le début de l'IFN- $\alpha$ . Trois ont obtenu un RP > 50 %, 3 une STAB.

Les patients dont l'intervalle libre est supérieur à 1 an répondent statistiquement mieux que ceux dont l'intervalle libre est inférieur à 1 an (p : 0.05). Toutefois, cette conclusion est peu valide en raison de la faiblesse des effectifs.

### 1.4 -SELON L' INTENSITE DE DOSE RELATIVE DE TRAITEMENT REÇU

Pour l'ensemble du traitement, la dose intensité relative reçue est de 95,42 %. Les différences entre les 2 groupes sont données dans le tableau XIII.

**Tableau XIII : Dose Intensité Relative du 1<sup>er</sup> cycle d'induction.**

	Population globale	Répondeurs + stabilisés (24)	Non répondeurs (12)	p
<i>CDDP</i>	0.99 (0.86 - 1.00)	0.98 (0.86 - 1.00)	0.99 (0.94 - 1.00)	0.73
<i>rIL-2</i>	0.90 (0.55 - 1.00)	0.93 (0.55 - 1.00)	0.94 (0.65 - 1.00)	0.68
<i>IFN-<math>\alpha</math></i>	0.85 (0.25 - 1.00)	0.95 (0.50 - 1.00)	0.77 (0.25 - 1.00)	0.004

En analysant chaque drogue, on remarque que le CDDP et la rIL-2 ont des D.I.R élevées puisque supérieures à 90 %. Ces D.I.R ne sont pas statistiquement différentes dans les 2 groupes de répondeurs.

Par contre, la D.I.R d'IFN- $\alpha$  est de 85 % sur l'ensemble de la population. Elle est significativement inférieure (77 %) chez les non répondeurs ( $p : 0.004$ ).

Nous concluons que la réponse au traitement est étroitement corrélée à la dose intensité d'IFN- $\alpha$  administrée.

### 1.5.- SELON L'EXISTENCE OU NON D'UN TRAITEMENT D'ENTRETIEN.

Parmi la population qui présente une réponse objective, nous avons voulu savoir si le traitement d'entretien apporte un bénéfice en terme de durée de réponse. Les résultats de la réponse et de la durée de réponse sont rapportés dans le tableau XIV.

**Tableau XIV : Durée de réponse et traitement d'entretien.**

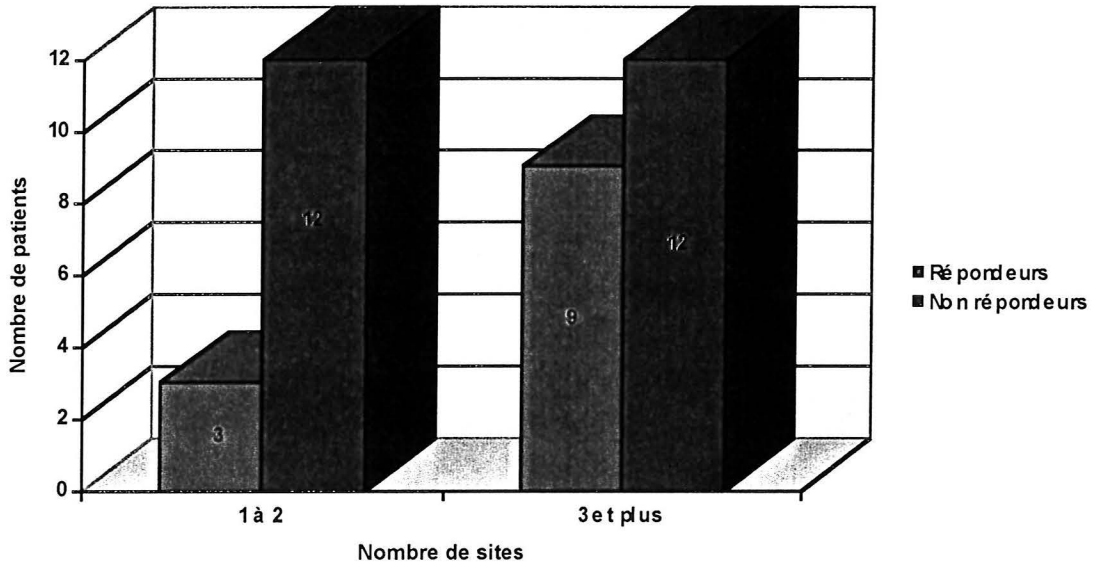
	Réponse	Nombre de patients	Durée de réponse en semaines
Traitement d'attaque + traitement d'entretien	RC	3	9 - 23 - 50
	RP	6	11 - 23 - 26 - 26 - 55
Traitement d'attaque uniquement	RC	3	32 - 139
	RP	2	17 - 17 - 18

Ces données ne nous permettent pas de mettre en évidence un avantage au traitement d'entretien en terme de réponse.

### 1.6 - SELON LE NOMBRE DE SITES METASTATIQUES

D'une façon arbitraire, nous allons comparer deux cohortes de patients : ceux qui ont 1 ou 2 sites métastatiques (15 patients) et ceux qui en ont 3 ou plus (21 patients). On remarque (figure 11) que 80% des patients porteurs de 1 ou 2 sites sont répondeurs contre 57 % des patients porteurs de 3 sites ou plus. Toutefois, cette différence n'est pas significative ( $p : 0.15$ ).

Le nombre de sites métastatiques n'est pas un facteur prédictif de réponse.



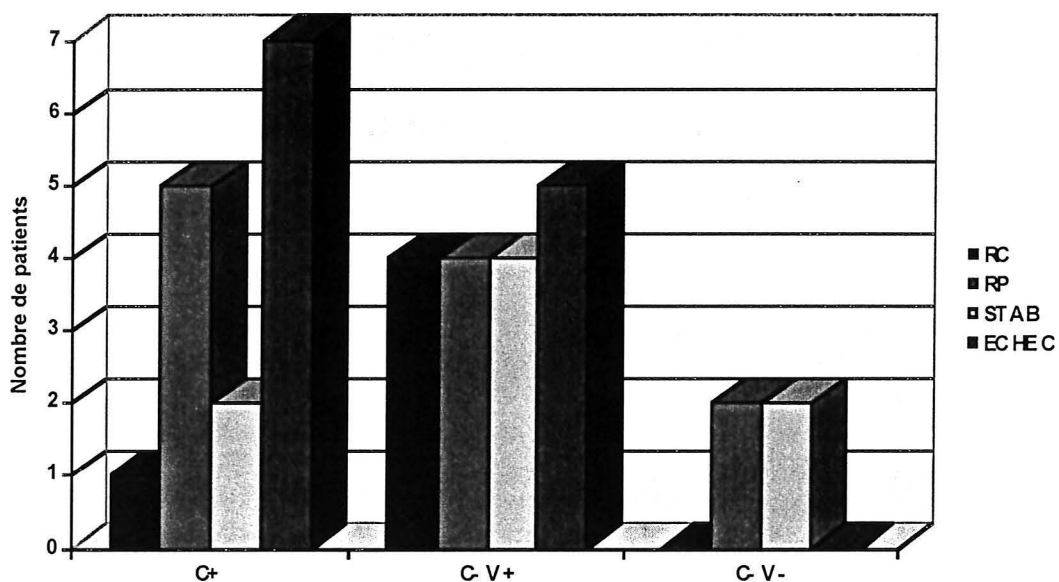
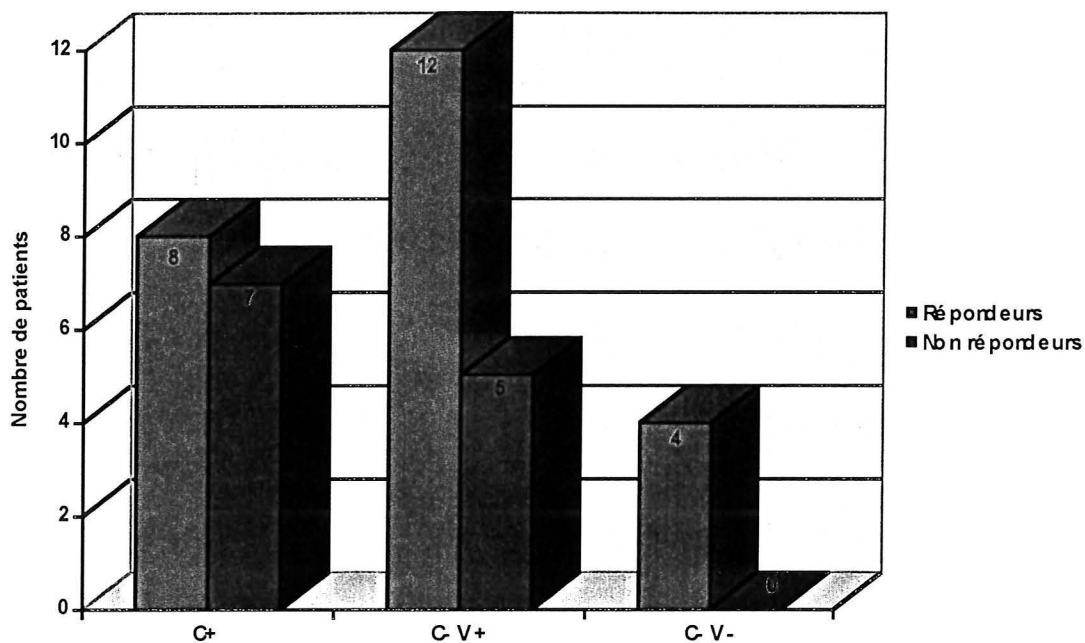
## 1.7 - SELON LES LOCALISATIONS METASTATIQUES

### 1.7.1 - tout site confondu

Nous avons individualisé 3 groupes de patients :

- 15 patients porteurs de métastases cérébrales : C+
- 17 patients non porteurs de métastases cérébrales mais porteurs de métastases viscérales (foie, poumon...) : C- V+
- 4 patients non porteurs de métastases cérébrales et non porteurs de métastases viscérales : ils sont porteurs de métastases exclusivement non viscérales : peau, ganglions, os : C-V-.

Les résultats en terme de réponse sont représentés dans les figures 12 et 12bis.



- La population C+ obtient 8 réponses objectives (53 %) dont 1 RC, 5 RP > 50 %, 2 STAB. Sept patients présentent un échec (47 %).

- La population C-V+ obtient 12 réponses objectives (70 %) dont 4 RC, 4 RP > 50 %, 4 STAB. Cinq patients présentent un échec (30 %).

- La population C-V- n'est composée que de 4 patients. Tous présentent une réponse objective : 2 RP > 50 %, 2 STAB.

Aucune différence en terme de réponse n'est mise en évidence entre ces différents groupes.

Nous avons ensuite isolé 2 localisations métastatiques : le cerveau et le foie.

### ***1.7.2 - Site cérébral :***

Quinze patients sont porteurs de localisations cérébrales. Comme cela est représenté dans la figure 12, 8 présentent une réponse et 7 un échec. Nous rappelons qu'une patiente a bénéficié de l'exérèse d'une métastase unique un mois avant le traitement. L'évaluation a été portée sur des adénopathies cervicales. Elle a présenté une RC de 50 semaines (12 mois).

Concernant les 16 patients non porteurs de métastases cérébrales, 11 sont répondeurs et 5 présentent un échec.

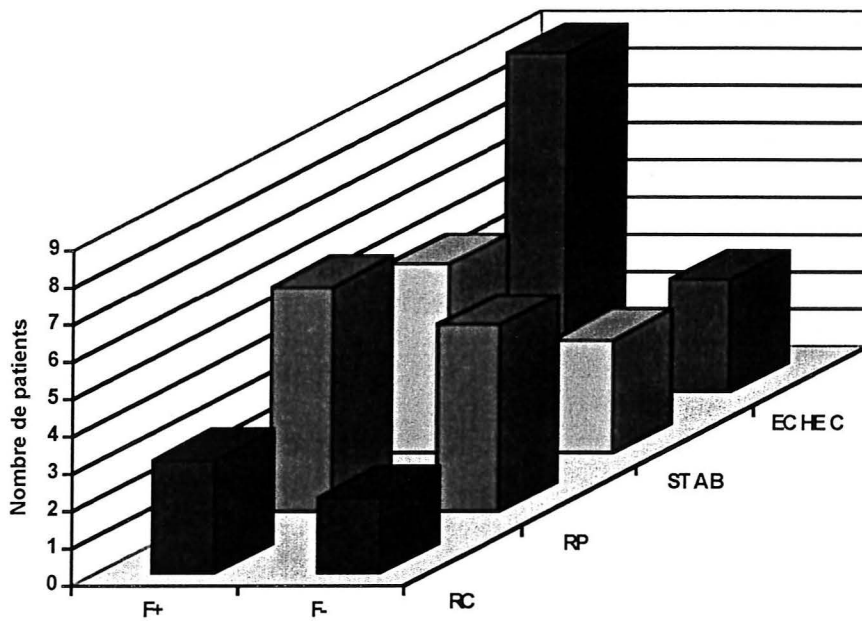
Toutefois, la durée médiane de réponse des patients C+ est de 25 semaines soit 5,5 mois (11 à 50 semaines), alors que celle des patients C- est de 17 semaines soit 3.7 mois (1 à 139 semaines) ; celle de l'ensemble de la population est, nous le rappelons, de 23 semaines. Ces deux populations ne présentent pas de différence en terme de réponse, ni en terme de durée de réponse ( $p : 0.15$ ).

La présence de métastases cérébrales n'est pas un facteur pronostique péjoratif.

### ***1.7.3 - Site hépatique***

Nous séparons deux populations : 13 patients porteurs de métastases hépatiques (F+) et 23 qui en sont indemnes (F-).

Les réponses sont données dans la figure 13. On ne note aucune différence de réponse entre les 2 groupes ( $p : 0.32$ ).



La présence de métastases hépatiques n'est pas un facteur pronostique péjoratif.

### 1.8 - AU TRAITEMENT PAR FOTEMUSTINE ± DACARBAZINE AVANT OU APRES CHIMIO-IMMUNOTHERAPIE.

Avant notre traitement, nous rappelons que 6 patients avaient reçu une chimiothérapie à base de fotémustine. Ils étaient tous porteurs de métastases cérébrales.

Celui qui avait reçu de la fotémustine seule n'a pas répondu à notre association. Parmi les 5 qui avaient reçu l'association fotémustine + dacarbazine, 3 n'ont pas répondu à notre traitement, un a présenté une RP > 50 % durant 18 semaines, un a été stabilisé pour une durée de 24 semaines.

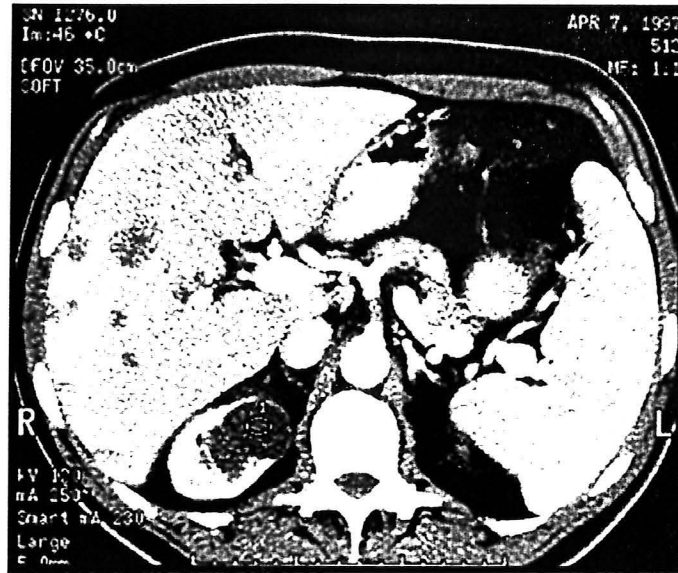
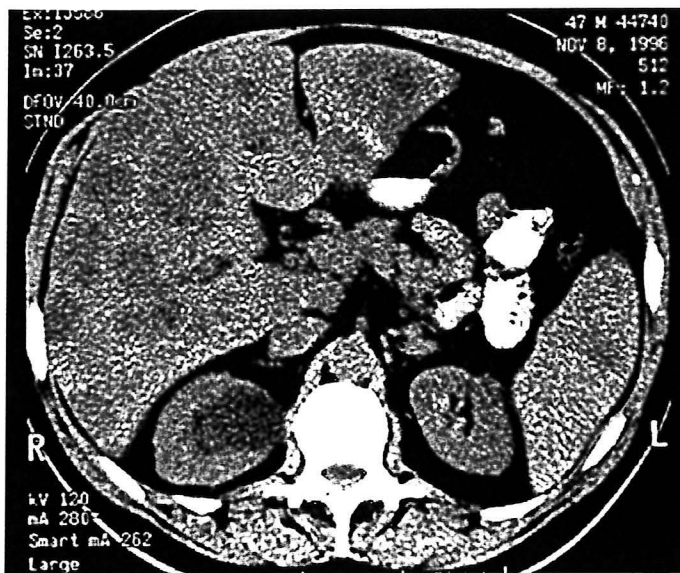
Après réévolution ou échec de l'association CDDP-IL-2-IFN- $\alpha$ , 12 patients ont reçu l'association fotémustine + dacarbazine. Leurs réponses sont représentées dans le tableau XV.



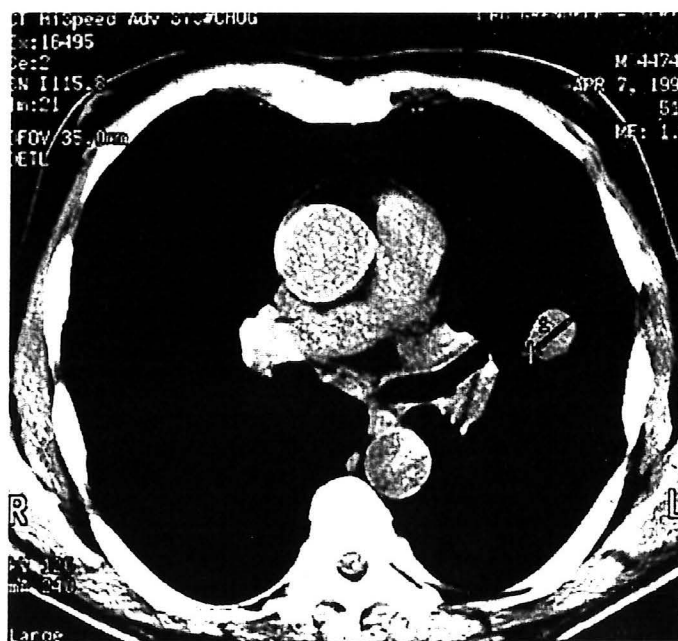
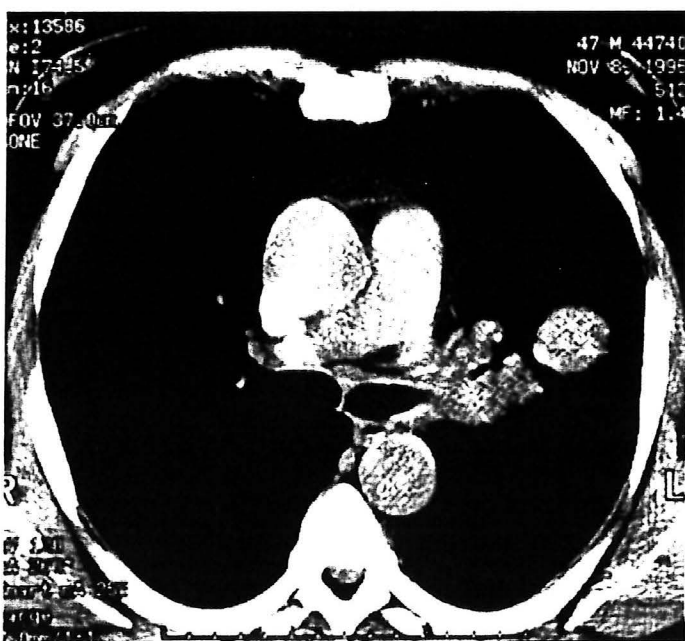
**Tableau XV : Résultats de l'association FTMU + DTIC en fonction du type de réponse obtenue avec notre traitement.**

Résultats du traitement CDDP+IL2+IFN	Type de réponse à FTMU + DTIC		
	<i>RO</i>	<i>STAB</i>	<i>ECHEC</i>
<i>RO</i>	2	2	2
<i>STAB</i>		1	3
<i>ECHEC</i>			2
<i>Total</i>	2	3	7

On remarque que les RO à l'association FTMU + DTIC ne sont observées que chez les patients qui ont préalablement répondu à notre traitement. La durée médiane de réponse est cependant brève : 4 semaines. Trois de ces patients répondeurs à l'association FTMU + DTIC ont ensuite reçu à nouveau de l'IL-2 en sous-cutanée. Dans les 3 cas, le résultat a été un échec.

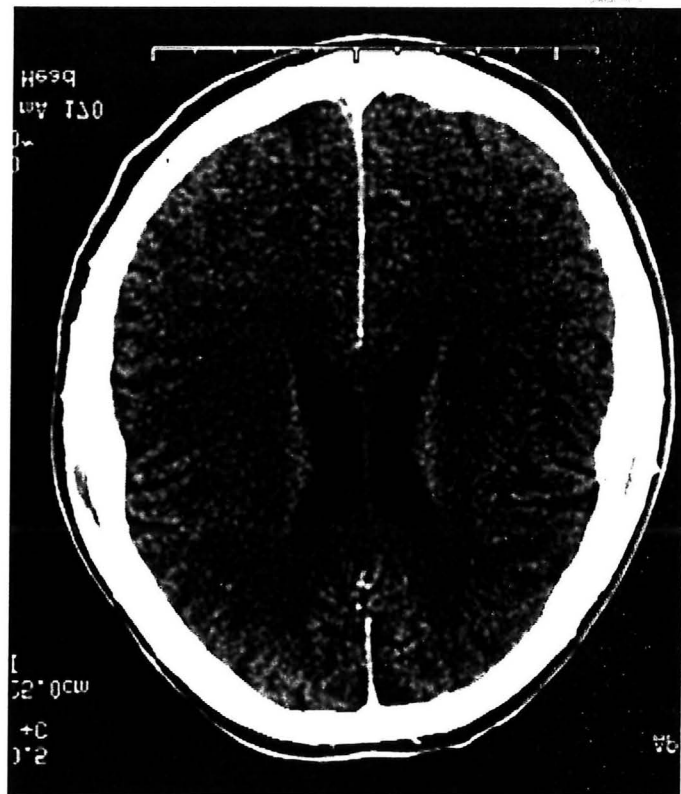


Patient présentant une rémission partielle supérieure à 50% de multiples localisations hépatiques après 1 cycle de traitement.



Patient présentant une rémission partielle inférieure à 50% d'une métastase pulmonaire gauche après 2 cycles de traitement.

Deux exemples de rémission complète  
d'une métastase cérébrale  
après 2 cycles de chimioimmunothérapie.

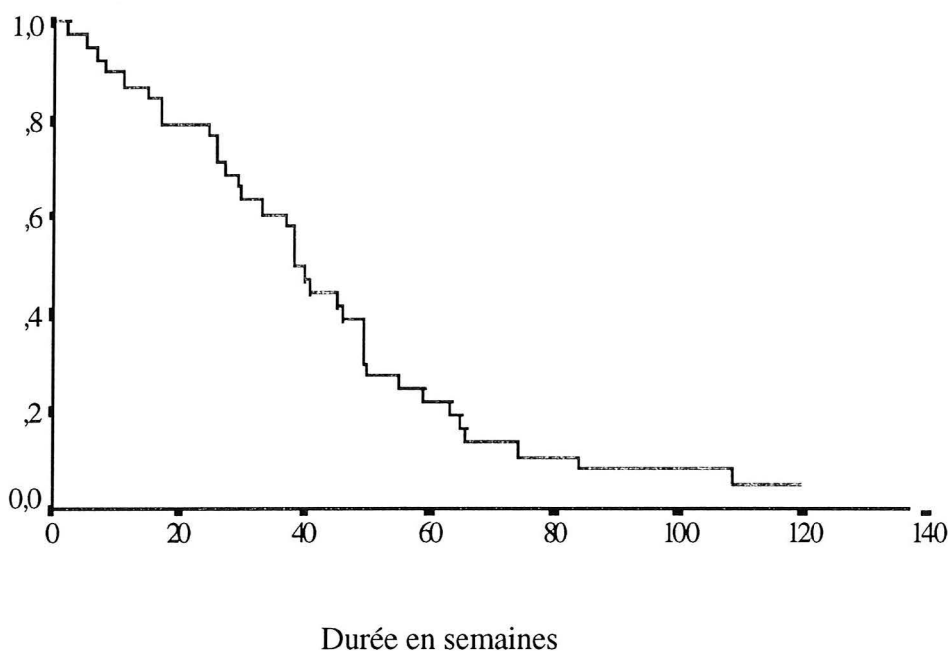


## II - SURVIE

Eléments indispensables à notre étude, les courbes de survie nous montreront les différences des médianes de survie de groupes de populations préalablement définis.

### 2.1 - globale

La courbe de survie cumulée de l'effectif global des 38 patients est représentée sur la figure 14. La médiane de survie est de 37 semaines (8 mois). A un an, le taux de survie est de 23 %.



Deux patients sont actuellement en vie : un présente une survie de 35 semaines (7,7 mois), il est porteur de 8 sites métastatiques avec notamment des localisations cérébrales et spléniques. Un autre patient présente une très longue survie de 247 semaines soit 57 mois. Il est porteur de 6 sites métastatiques dont le cerveau et la plèvre.

Trois patients ont présenté des durées de survie particulièrement longues : le patient sus-cité (57 mois) ainsi que deux femmes dont les durées de survie ont été de 108 et 193 semaines (24 et 43 mois). Les caractéristiques cliniques de ces patients sont représentées dans le tableau XVI.

**Tableau XVI : Description des trois patients longs survivants.**

	<b>Patient 1</b>	<b>Patient 2</b>	<b>Patient 3</b>
<b>Sexe</b>	homme	femme	Femme
<b>Age au diagnostic</b>	45	50	37
<b>Localisation initiale</b>	tête et cou	membre supérieur	abdomen
<b>Indice de Breslow</b>	2.80 mm	1.50 mm	2.10 mm
<b>Niveau de Clark</b>	IV	IV	III
<b>Récidive loco-régionale</b>	Non	Oui	Non
<b>Délai apparition des métastases</b>	49 mois	106 mois	70 mois
<b>Nombre de sites</b>	5	3	1
<b>Métastases cérébrale</b>	oui	non	non
<b>Age à notre traitement</b>	49	59	44
<b>Type de réponse</b>	STAB	RC	STAB
<b>Durée de réponse</b>	28 semaines	106 semaines	38 semaines
<b>Durée de survie</b>	57 mois	43 mois	24 mois

## 2.2 - selon le type de réponse

Nous avons individualisé 3 groupes de patients :

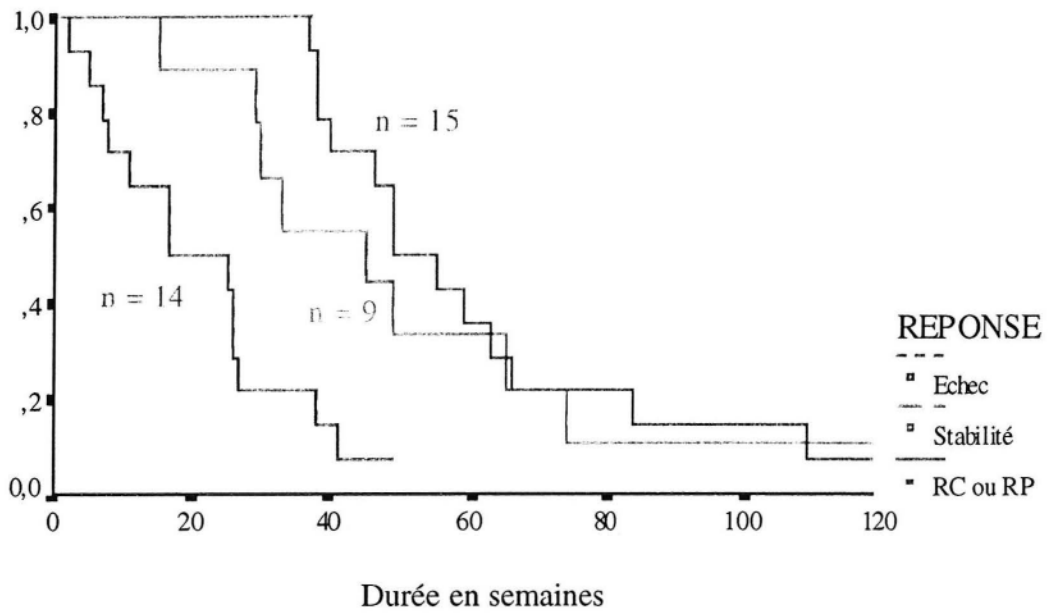
- Les patients répondeurs objectifs (RO) comprenant les patients en RC et les patients en RP > 50 %.

Ils sont au nombre de 15. Un patient présentant une RP est en vie à 35 semaines. Leur médiane de survie est de 48 semaines.

- Les patients stabilisés ou ayant présenté une réponse < 50 %. Ils sont au nombre de 9 et comprennent un patient en vie à 247 semaines. Leur médiane de survie est de 44 semaines.

- Les patients progressifs, au nombre de 14. Leur médiane de survie est de 16 semaines.

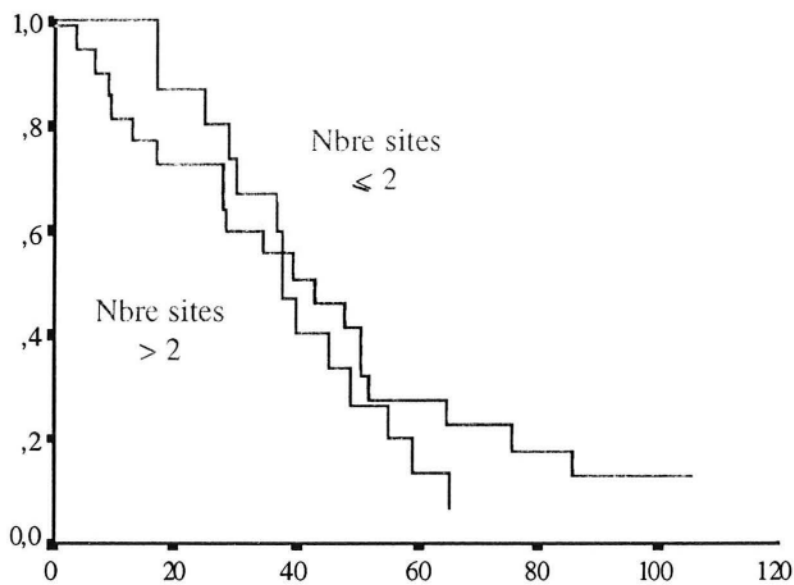
Leurs courbes de survie sont représentées sur la figure 15.



Il existe une différence fortement significative en terme de survie dans les trois groupes de patients ( $p < 0.001$ ). Il faut noter tout particulièrement l'absence de différence entre réponse objective et stabilisation en terme de survie.

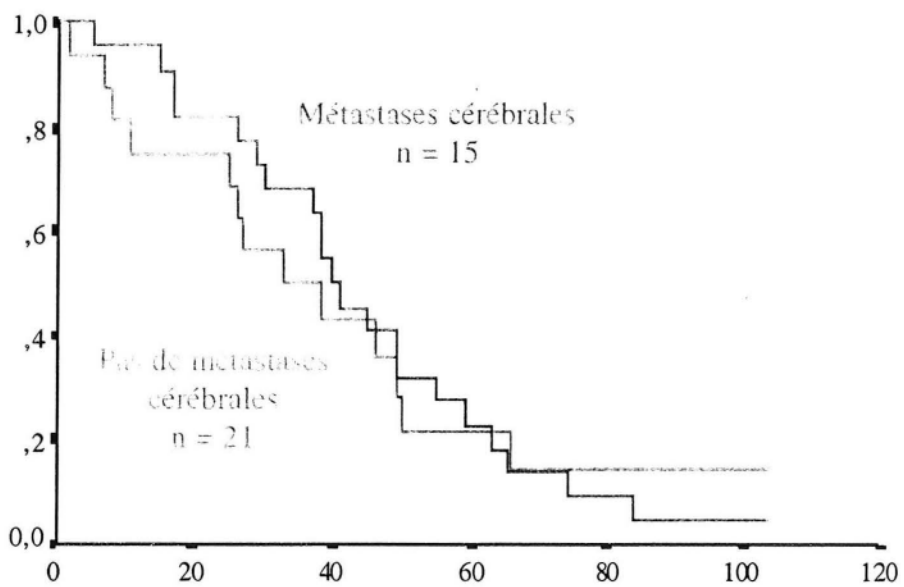
### 2.3 - selon le nombre de sites métastatiques

Il n'y a pas de différence statistiquement significative en fonction du nombre de sites métastatiques ( $p : 0.3$ ). Ceci est représenté sur la figure 16.



#### 2.4 - selon la présence ou non de métastases cérébrales :

Il n'existe pas de différence significative ( $p : 0.95$ ) entre la courbe de survie des patients atteints de métastases cérébrales et celle des patients non atteints de métastases cérébrales (figure 17). Les médianes de survie de ces 2 populations sont respectivement de 35 et 40 semaines (7 et 8 mois).

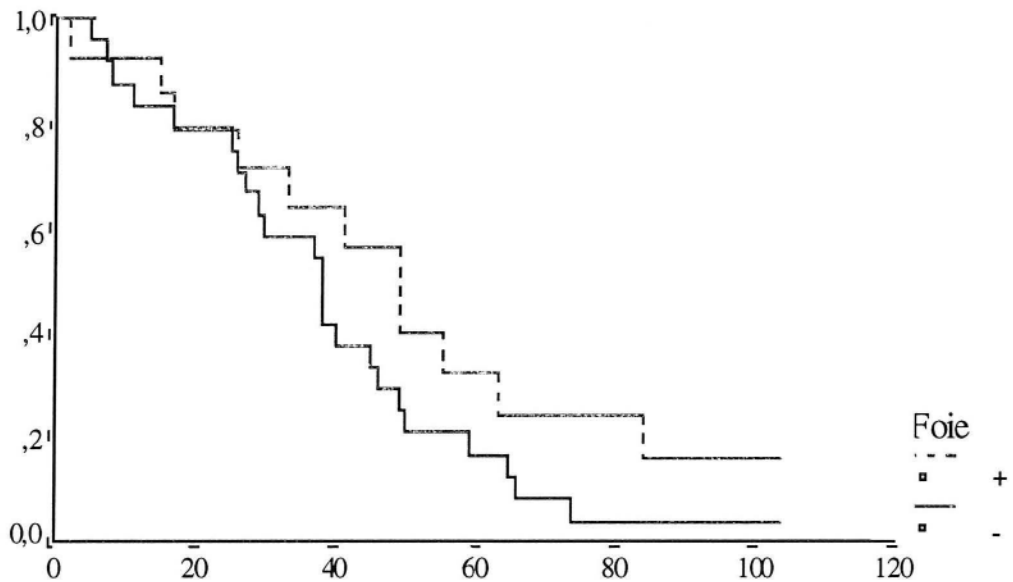


### 2.5 - selon la présence ou non de métastases hépatiques

La courbe de survie des patients porteurs ou non de métastases hépatiques est donnée par la figure 18.

Il n'existe pas de différence statistiquement significative entre les 2 courbes ( $p : 0.09$ ).

La médiane de survie des patients porteurs de localisation hépatiques est de 48 semaines (10 mois) contre 37 semaines (8 mois) pour ceux qui n'en portent pas.

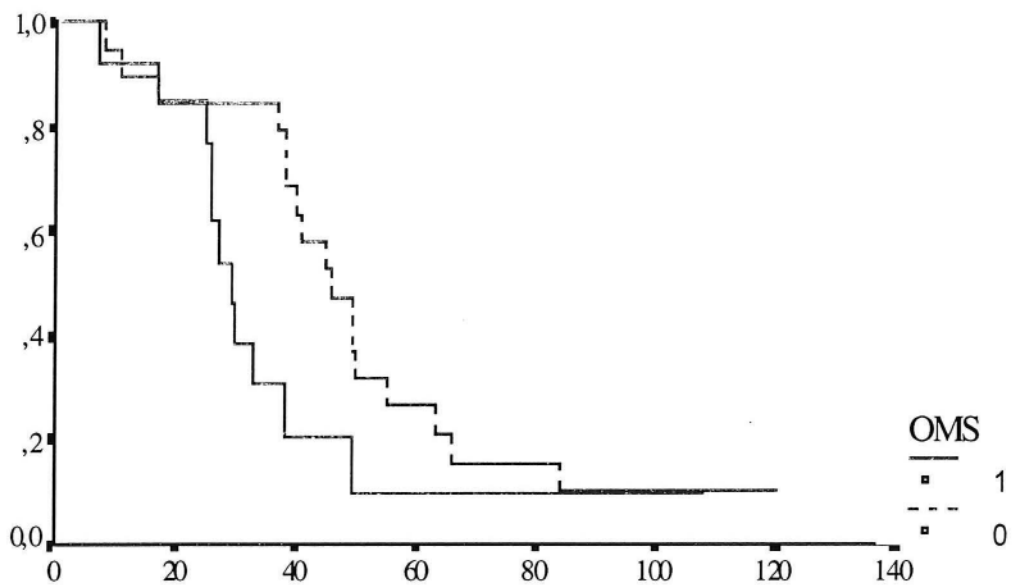




## 2.6 - selon l'état général

Seuls 4 patients ont un statut de performance OMS classé à 2 et nous ne réalisons pas de courbe pour eux.

On note une survie significativement supérieure ( $p : 0.03$ ) pour les patients OMS 0. Leur médiane de survie étant de 45 semaines soit 10 mois. Celle des patients OMS 1 est de 28 semaines soit 6 mois (fig.19).



### III - TOXICITE

#### 3.1 - GLOBALE

Les trente-huit patients ont été évalués pour la toxicité. Les effets secondaires sont retranscrits dans le tableau XVII.

Tableau XVII : Toxicité globale.

	Nombre de patients (%)				
	0	1	2	3	4
<i>Asthénie</i>	-	7 (18 %)	20 (53 %)	11 (29 %)	-
<i>Hypotension artérielle</i>	5 (13 %)	5 (13 %)	6 (16 %)	11 (29 %)	11 (29 %)
<i>Créatininémie</i>	13 (24 %)	9 (24 %)	13 (34 %)	3 (8 %)	-
<i>Bilirubinémie</i>	32 (84 %)	5 (13 %)	1 (3 %)	-	-
<i>Phosphatases alcalines</i>	23 (60 %)	5 (13 %)	9 (24 %)	1 (3 %)	-
<i>Transaminases</i>	17 (44 %)	6 (16 %)	9 (24 %)	5 (13 %)	1 (3 %)
<i>Nausées Vomissements</i>	18 (47 %)	1 (3 %)	6 (16 %)	22 (58 %)	1 (3 %)
<i>Diarrhée</i>	10 (26 %)	2 (5 %)	8 (21 %)	18 (47 %)	-
<i>Hyperthermie</i>	3 (8 %)	2 (5 %)	6 (16 %)	15 (39 %)	12 (32 %)
<i>Cutanée</i>	12 (32 %)	3 (8 %)	16 (42 %)	7 (18 %)	-
<i>Anémie</i>	4 (11 %)	4 (11 %)	11 (29 %)	16 (42 %)	3 (8 %)
<i>Leucopénie</i>	12 (32 %)	5 (13 %)	3 (8 %)	12 (32 %)	6 (16 %)
<i>Thrombopénie</i>	15 (39 %)	5 (13 %)	3 (8 %)	8 (21 %)	7 (18 %)

Reprenons quelques uns de ces chiffres.

Ce traitement est très asthéniant, on note 52 % d'asthénie de grade II Notons que de nombreux patients se sont vus administrer de l'Hypnovel<sup>®</sup> de 20 heures à 8 heures, responsable en partie de cette altération de la vigilance. Cette prescription a été faite en accord avec le patient et a été demandée par le patient lui-même pour la suite du traitement. Une seule patiente a refusé l'administration de ce produit après avoir mal vécu une première administration. Une patiente a présenté une crise d'angoisse majeure en cours de perfusion de rIL-2, ayant nécessité la suspension du traitement pendant 24 heures et la prescription d'anxiolytiques.

Durant le traitement d'entretien, une patiente non porteuse de métastases cérébrales, a présenté un état de mal épileptique. Cet état de mal a été rattaché à l-IL-2, a cessé sous antiépileptiques et a conduit à l'arrêt définitif du traitement malgré l'obtention d'une réponse partielle supérieure à 50 %.

Concernant le syndrome d'extravasation capillaire secondaire à la rIL-2, nous n'avons pas observé d'épanchement pleural, d'ascite, d'hypertension intracrânienne imputables au traitement. Nous avons observé deux cas de choc cardiogénique fatals.

Peu de patients (5) ont gardé une stabilité des constantes hémodynamiques. Vingt neuf % ont présenté une hypotension artérielle de grade III, c'est à dire une diminution de la pression systolique de 30 à 40 mm Hg. Tous ce sont vus administrer des macromolécules, parfois des amines vasoactives. Vingt neuf % ont présenté une hypotension de grade IV et ont reçu des amines vasopressives. Dans tous les cas, on a obtenu un retour à la normale des constantes.

Quarante deux % d'insuffisance rénale de grades II et III ont donné lieu à des interruptions passagères du traitement. Elles ont été réversées dans tous les cas.

La tolérance hépatique a été tout à fait acceptable. Un seul patient a présenté une hyperbilirubinémie de grade III, à 4 fois la normale avec une traduction clinique ictérique cutanéomuqueuse.

Trente cinq patients ont présenté des épisodes d'hyperthermie dont 15 de grade III (> 40° C) et 12 de grade IV c'est à dire avec hypotension artérielle contemporaine. L'administration de 2 g de paracétamol intraveineux (Prodafalgan®) a permis à chaque fois de retrouver une température < 38° C dans les deux heures.

La toxicité cutanée a été observée dans 68 % des cas. Le plus souvent (42 %) il s'agissait d'une érythrodermie généralisée, peu prurigineuse mais fortement desquamante.

La toxicité hématologique a parfois été sévère. La lignée blanche a été marquée d'une toxicité de grades III et IV dans 48 % des cas. Aucun des 6 patients ayant présenté une agranulocytose

(PNN < 500/mm<sup>3</sup>) n'a présenté de complications infectieuses. La récupération hématologique a été rapide (< 7 jours) dans tous les cas. Quarante deux % des patients ont présenté une anémie de grade III (Hb entre 65 et 79 g.l<sup>-1</sup>), 5 de ces 16 patients ont été transfusés par au moins 2 concentrés globulaires. Trois patients ont présenté une anémie de grade IV (Hb < 65 g.l<sup>-1</sup>) et ont été transfusés.

On a observé 7 thrombopénies de grade IV (< 25/mm<sup>3</sup>), sans signes hémorragiques cutanés ou muqueux. La réalisation d'un examen du fond d'œil a été systématique. Aucune hémorragie n'a été observée. Nous n'avons donc procédé à aucune transfusion plaquettaire.

Huit patients ont également présenté une thrombopénie de grade III. Sur les 15 patients ayant présenté une toxicité plaquettaire de grade ≥ III, 4 étaient porteurs de métastases osseuses. L'atteinte des 3 lignées a été concomitante et de grade ≥ II chez 13 patients. Dans tous les cas, l'insuffisance médullaire a été réversible.

La tolérance digestive a été mauvaise avec 61 % de vomissements de grades III et IV, 47 % de diarrhée de grade III.

Concernant la biologie thyroïdienne, 3 patients initialement euthyroïdiens ont développé une hyperthyroïdie de type périphérique avec élévation de l'hormonémie T<sub>3</sub>-T<sub>4</sub> et TSH quasiment indétectable ; ils ne présentaient pas de signes cliniques évoquant une hyperthyroïdie et n'ont pas reçu de traitement. Deux de ces patients ont présenté un échec à notre traitement, un une réponse partielle > 50 %.

Aucun de nos patients n'a développé de vitiligo.

### 3.1 - CHEZ LES PATIENTS PORTEURS DE METASTASES CEREBRALES

Cette population comporte 15 patients .

**Tableau XVIII : Toxicité des patients porteurs de métastases cérébrales.**

	Nombre de patients (%) WHO Grade				
	0	1	2	3	4
<i>Hypotension artérielle</i>	1 (7 %)	3 (20 %)	3 (20 %)	7 (47 %)	1 (7 %)
<i>Créatininémie</i>	4 (27 %)	5 (33 %)	5 (33 %)	1 (7 %)	-
<i>Bilirubinémie</i>	12 (80 %)	2 (13 %)	1 (7 %)	-	-
<i>Phosphatases alcalines</i>	5 (33 %)	4 (27 %)	6 (40 %)	-	-
<i>Transaminases</i>	3 (20 %)	6 (40 %)	4 (27 %)	1 (7 %)	1 (7 %)
<i>Nausées Vomissements</i>	3 (20 %)	1 (7 %)	5 (33 %)	6 (40 %)	-
<i>Diarrhée</i>	4 (27 %)	1 (7 %)	4 (27 %)	6 (40 %)	-
<i>Hyperthermie</i>	-	-	4 (27 %)	9 (60 %)	2 (13 %)
<i>Cutanée</i>	3 (20 %)	2 (13 %)	9 (60 %)	1 (7 %)	-
<i>Anémie</i>	1 (7 %)	3 (20 %)	3 (20 %)	7 (47 %)	1 (7 %)
<i>Leucopénie</i>	3 (20 %)	4 (27 %)	2 (13 %)	4 (27 %)	2 (13 %)
<i>Thrombopénie</i>	7 (47 %)	2 (13 %)	-	4 (27 %)	2 (13 %)

Les faits notables concernent les hypotensions artérielles. On les observe de grade IV dans 7 % des cas (29 % dans la population globale). Le même phénomène s'observe avec les réactions hyperthermiques : on note une plus faible proportion d'hyperthermie de grade IV (13 % contre 32 %) au profit des hyperthermies de grade III (60 % contre 39 %).

Les autres toxicités sont comparables à celles de la population globale. On ne note aucun excès de toxicité de grade IV.

La tolérance au traitement n'est pas diminuée par la présence de métastases cérébrales.

## IV - ANALYSE BIOLOGIQUE

Nous l'avons vu, la rIL-2 induit et augmente le potentiel cytotoxique des lymphocytes et des monocytes, induit la production de cytokines tels l'interféron gamma (IFN- $\gamma$ ) et est le principal facteur requis pour la potentialisation d'une activité NK et l'induction d'une activité LAK. Les lymphocytes expriment sur leur surface un certain nombre de molécules différentes. Certaines apparaissent au cours d'étapes particulières de la différenciation cellulaire ou de l'activation pour des périodes courtes, tandis que d'autres sont caractéristiques de certaines lignées cellulaires. Ces molécules, qui peuvent être utilisées pour distinguer les différentes populations cellulaires, sont appelées "marqueurs" et un grand nombre d'entre elles est identifié à l'aide d'anticorps monoclonaux. Une nomenclature de ces molécules de surface a été introduite et les marqueurs sont numérotés CD<sub>1</sub>, CD<sub>2</sub> (80). Le mot CD (en anglais cluster differentiation) provient de l'analyse informatique des anticorps monoclonaux contre les antigènes leucocytaires humains. Dans de nombreux cas, les fonctions de ces molécules sont connues. Le but de notre étude est d'analyser l'expression des principaux antigènes lymphocytaires afin de suivre les modifications des sous-populations lymphocytaires durant le traitement. Compte tenu de l'absence de différence significative de survie entre les patients ayant obtenu un RO et ceux ayant obtenu une stabilisation, nous avons associé ces deux groupes sous le terme de « répondeurs ». Ce groupe compte 15 patients. Nous leur opposons les « non répondeurs » qui représentent les 8 patients en progression. Corrélés à la réponse clinique, nous tenterons de mettre en évidence des différences de répartition des sous-populations lymphocytaires antigéniques, permettant de prévoir au plus tôt l'évolution de la maladie. Les dosages de TNF- $\alpha$  IL-1 $\beta$  - IL-1 $\alpha$  et IL-6 sont réalisés de façon concomitante dans le but de mettre en évidence un facteur prédictif de réponse.

Afin de faciliter la lecture des figures, nous avons retranscrit les données sous forme de nuage de points en faisant apparaître une courbe de valeurs moyennes. Sur les conseils du Dr Jacob M.C., l'intégralité des données chiffrées, en valeur absolue, est retranscrite dans ce travail en annexes VII et VIII.



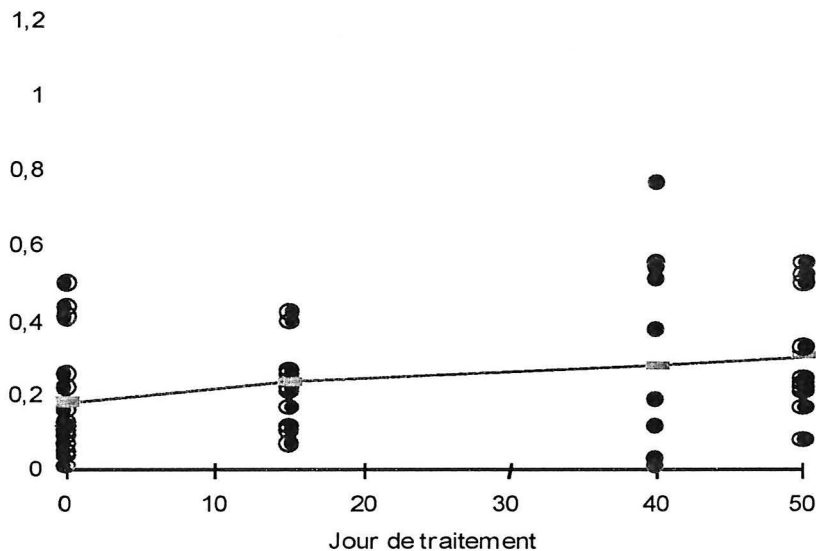
#### 4.1.2 - Antigènes CD4 et CD25

Le CD4 est exprimé sur les lymphocytes T4 helpers. Les cellules T CD4<sup>+</sup> reconnaissent les antigènes en association avec les molécules de classe II du CMH. Le CD25 est exprimé sur les lymphocytes T activés et les lymphocytes B activés, c'est un épitope de la chaîne  $\alpha$  du récepteur de l'IL-2.

Ainsi l'expression conjointe de CD4 et CD25 permet de reconnaître les LT4 activés.

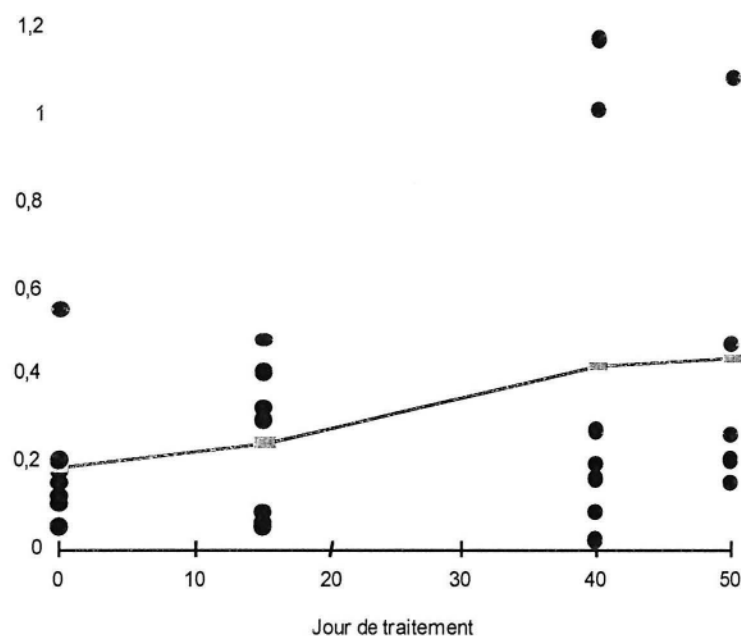
On n'observe pas de variation de l'expression moyenne du CD4, ni du CD25 durant le traitement. Considérant l'expression conjointe dans deux antigènes, on ne note pas de variation significative en cours de traitement et pas de différence entre les 2 populations (fig. 22-23). Nous portons les mêmes réserves quant à la valeur de la moyenne, de grandes variations inter-patients étant observées dans les 2 groupes.

Expression conjointe CD4/CD25 en G/I chez les patients répondeurs





Expression conjointe CD4/CD25 en G/I chez les patients non répondeurs



#### 4.1.3 - Antigènes CD3, CD8 et CD56

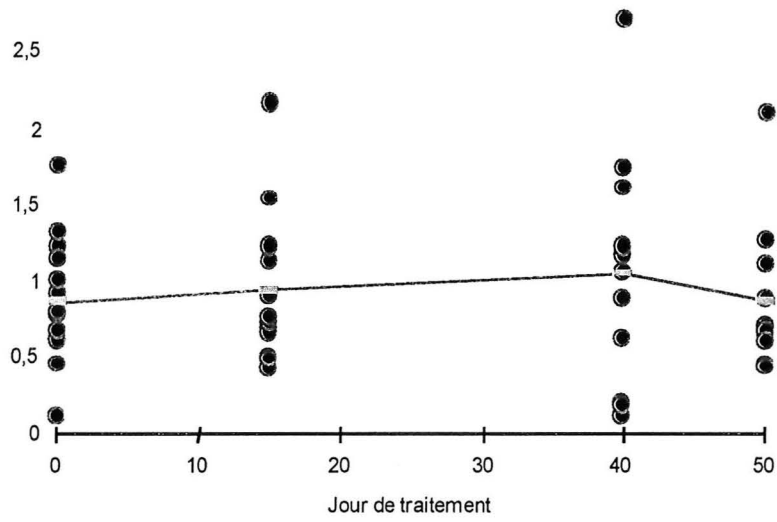
Le vrai marqueur des cellules T est le récepteur pour l'antigène : TCR (T cell receptor). Il existe deux types de TCR : le TCR1 et le TCR2. Ces deux récepteurs sont associés à plusieurs polypeptides qui forment ainsi le complexe CD3. La molécule CD3 est impliquée dans la transduction du signal lorsque les LT sont activés par l'antigène, fixé sur le TCR.

Les lymphocytes TCR2+ sont subdivisés en deux sous-populations : LTH (helpers) CD4+ et les LT cytotoxiques ou supprimeur CD8+. L'antigène CD56 s'exprime sur les cellules à fonction Natural Killer.

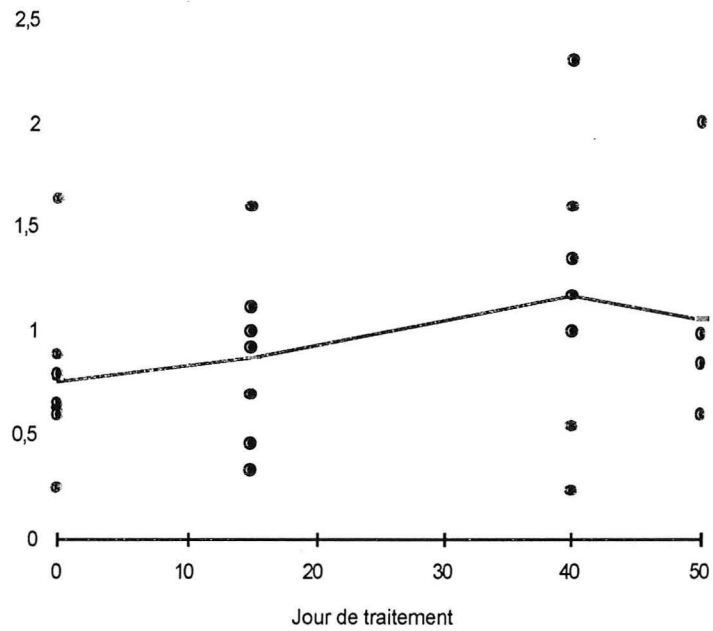
L'expression conjointe des antigènes CD3 et CD8 isole les LTc. L'expression conjointe des antigènes CD8 et CD56 reconnaît une partie des cellules NK. Les cellules NK sont identifiées en effet par la positivité de CD56 et la négativité de CD3. Une certaine partie d'entre elles exprime ainsi le CD8.

L'évolution de la population CD3 est représenté par les figures 24 et 25. Elle reste stable en moyenne au cours du traitement chez les « répondeurs » et augmente jusqu'à J40 chez les « non répondeurs ». Il n'existe pas de différence significative entre nos deux populations. Une fois encore, on observe une grande hétérogénéité dans les 2 sens de variation des résultats.

Expression du CD3 en G/l chez les patients répondeurs

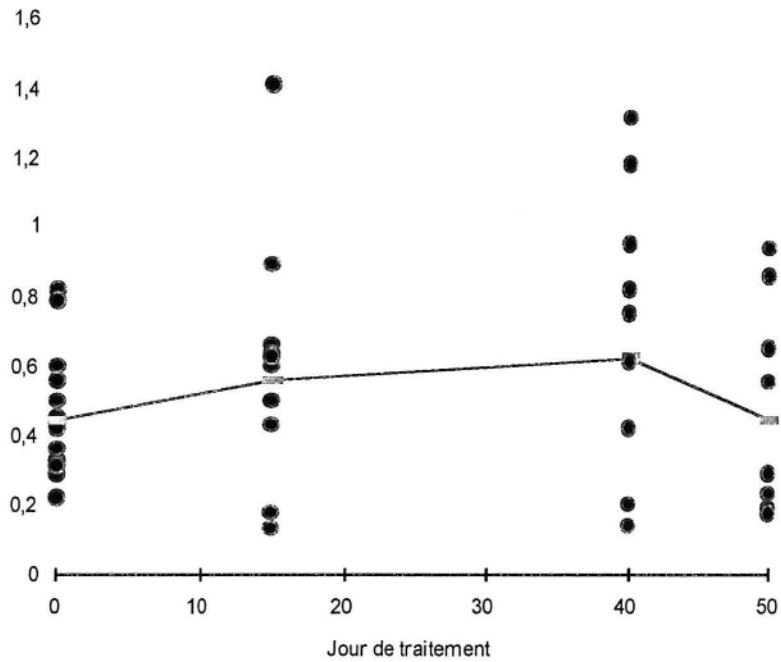


Expression du CD3 en G/l chez les patients non répondeurs

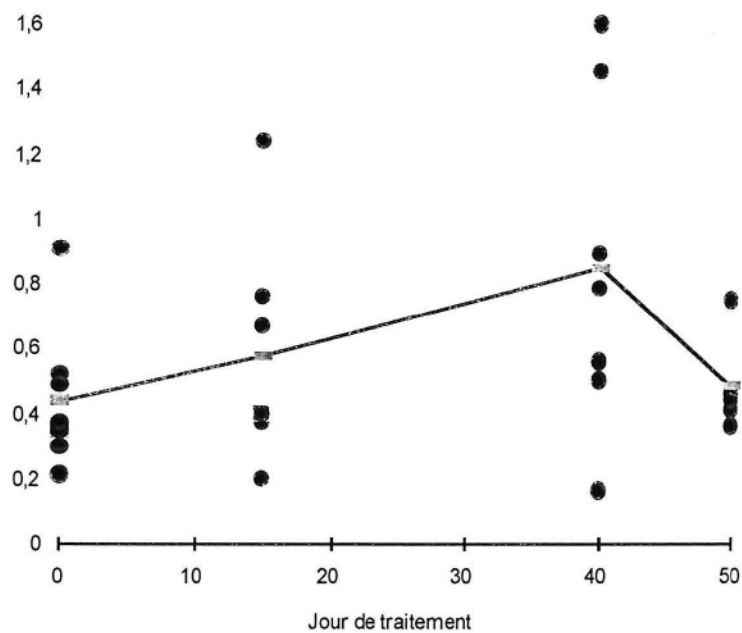


Les mêmes constatations sont faites en comparant l'évolution de l'expression de l'antigène CD8 chez les « répondeurs » et les « non répondeurs » (fig. 26 - 27).

Expresion du CD8 en G/l chez les patients répondeurs

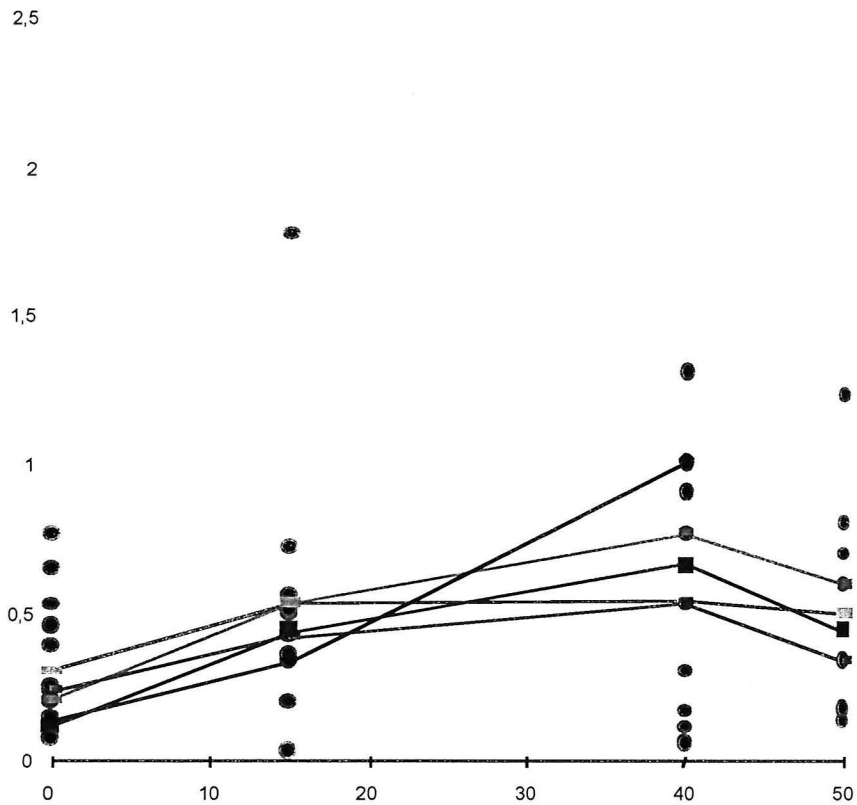


Expresion du CD8 en G/l chez les patients non répondeurs

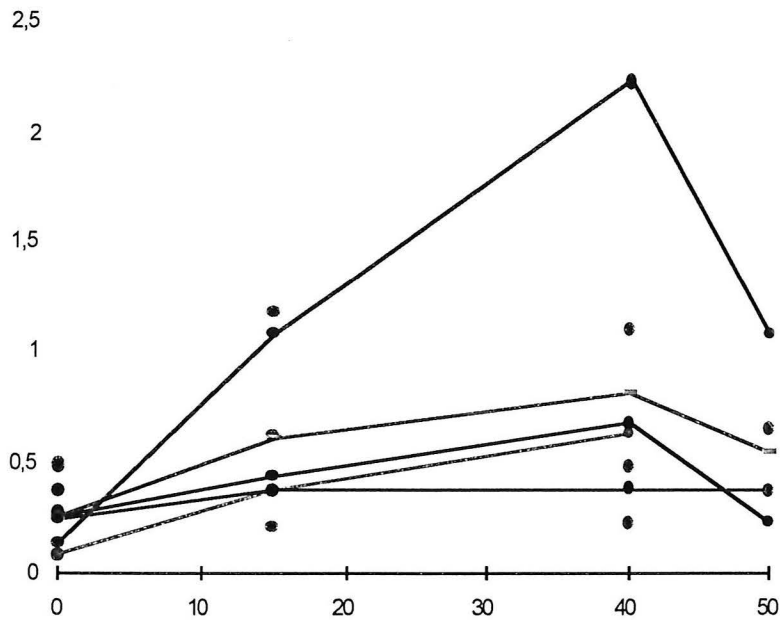


Quant à l'expression membranaire du CD56, (fig. 28 - 29), on retrouve une grande hétérogénéité des valeurs dans les 2 groupes. On ne peut pas non plus utiliser ce caractère pour prédire de l'évolution.

Expression du CD56 en G/l chez les patients répondeurs

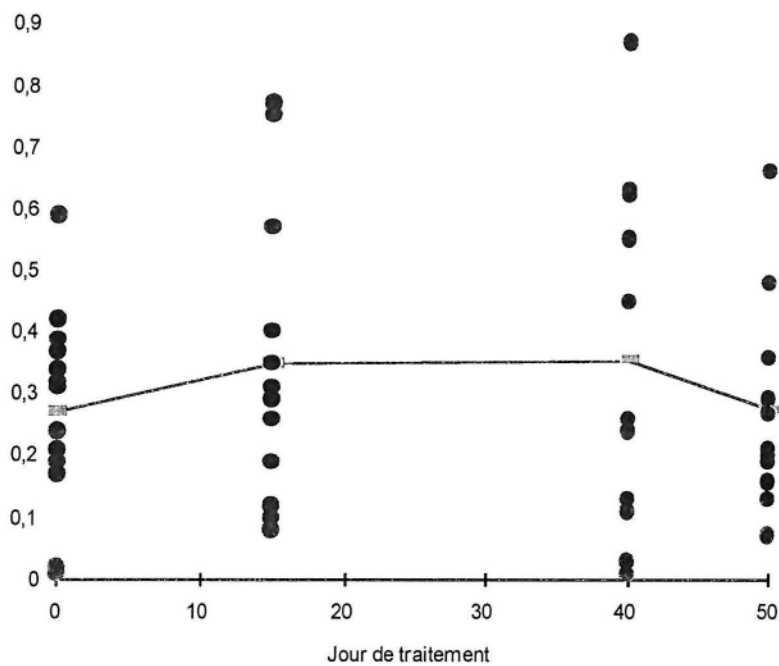


Expression du CD56 en G/l chez les patients non répondeurs

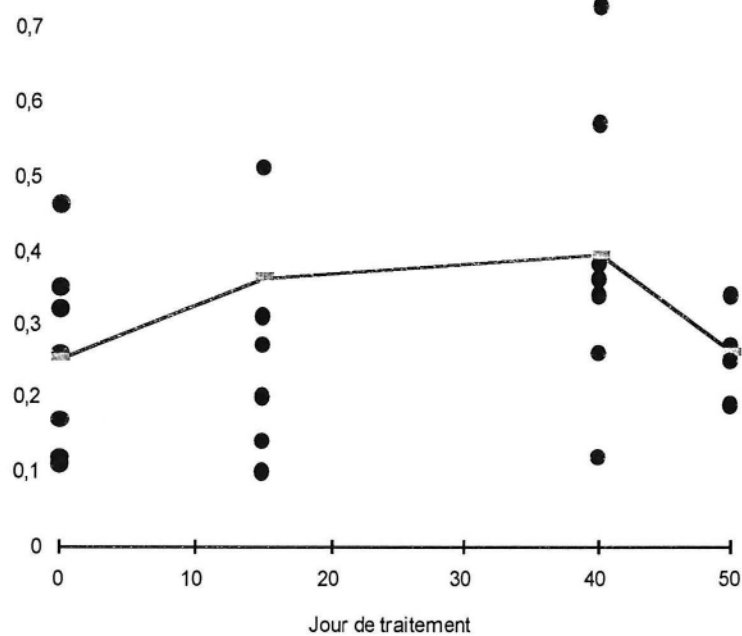


L'expression moyenne conjointe des antigènes CD3 et CD8 (fig. 30 - 31) reste également stable et sans différence statistique pour les deux populations.

Expression conjointe CD3/CD8 chez les patients non répondeurs

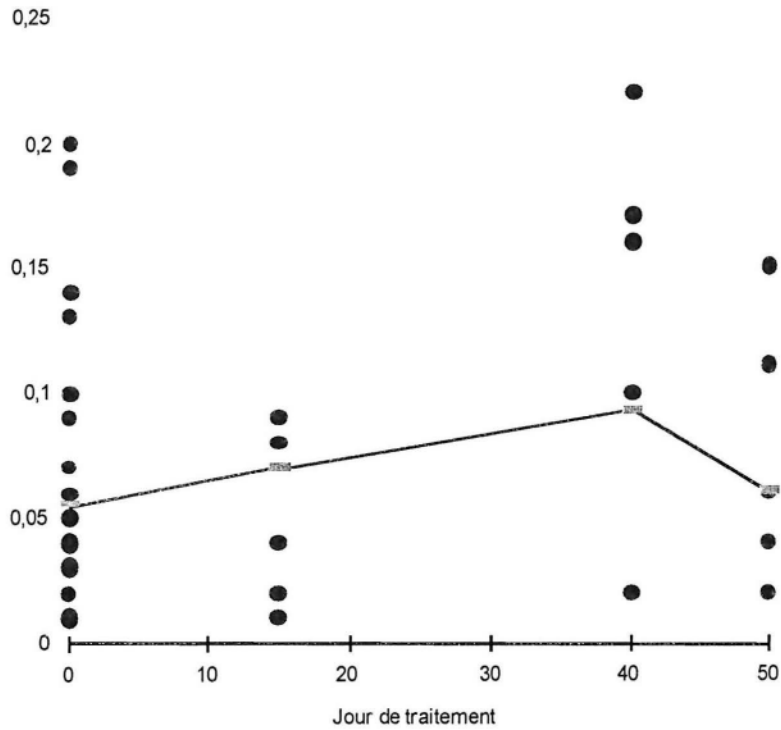


Expression conjointe CD3/CD8 en G/I chez les patients non répondeurs

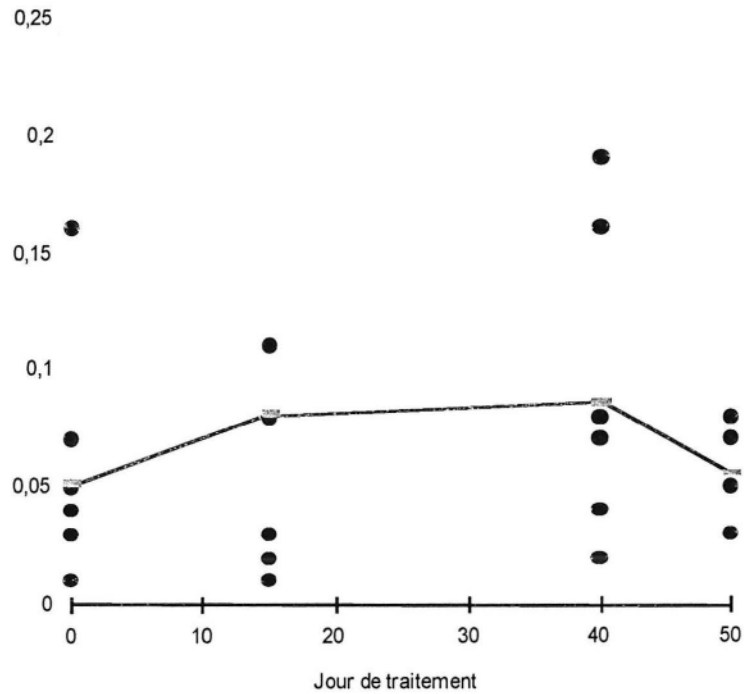


Il en est de même pour l'expression conjointe des antigènes CD3 et CD56 (fig. 32 - 33).

Expression conjointe CD3/CD56 en G/l chez les patients répondeurs

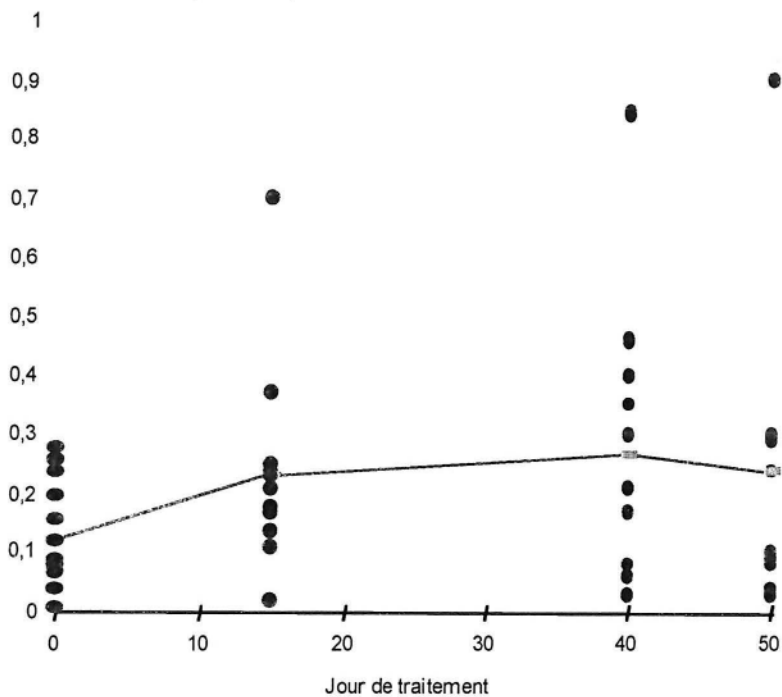


Expression conjointe CD3/CD56 en G/l chez les patients non répondeurs

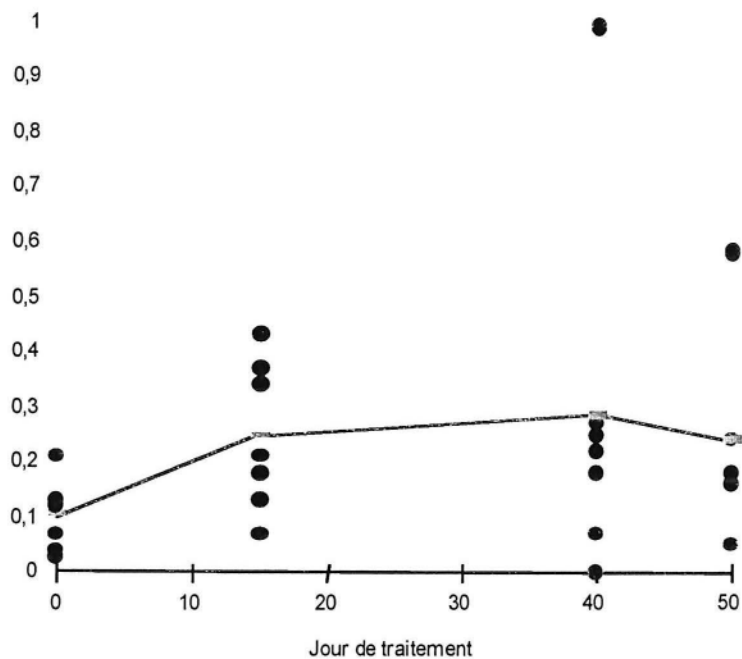


En étudiant l'expression conjointe des antigènes CD8 et CD56, permettant de reconnaître les cellules NK, on remarque une fois encore une grande hétérogénéité des variations au sein des 2 groupes au cours du traitement et on ne met pas en évidence de différence significative entre les répondeurs et les non répondeurs (fig. 34 et 35).

Expression conjointe CD8/CD56 en G/I chez les patients répondeurs



Expression conjointe CD8/CD56 en G/I chez les patients non répondeurs



Au total, nos résultats ne permettent pas de mettre en évidence des variations de populations des Natural Killers, ni des lymphocytes cytotoxiques lymphocytaires. Les prélèvements réalisés ne montrent pas de variations des sous-populations lymphocytaires chez les répondeurs comme chez les non répondeurs.

Toutefois, il nous faut rester prudents quant aux conclusions que nous tirons de ces résultats. Les prélèvements ont été réalisés chez une partie seulement de nos patients, ce qui représente un faible effectif. Chez un même patient, certaines données se sont révélées inexploitable et nous avons observé une grande hétérogénéité des chiffres au sein d'un même groupe. Ces biais rendent nos conclusions critiquables.

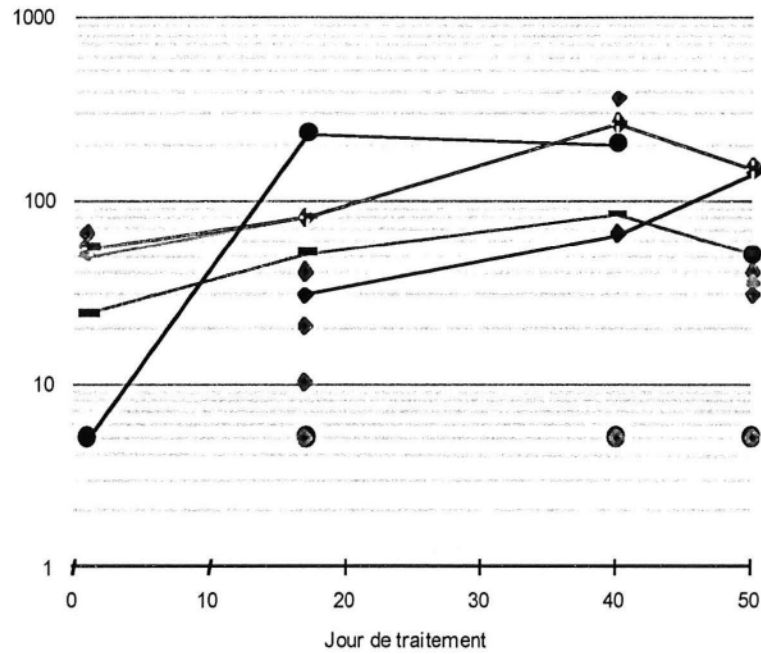
## 4.2 - DOSAGE DES CYTOKINES

### 4.2.1 - *Tumor Necrosis Factor- $\alpha$* (TNF- $\alpha$ )

Les sources principales de TNF- $\alpha$  sont les monocytes, les macrophages activés ainsi que les lymphocytes cytotoxiques (81). Outre les effets pathogènes connus du TNF- $\alpha$ , celui-ci apparaît comme le principal responsable de l'activité antitumorale des monocytes humains et peut jouer un rôle dans l'activité des lymphocytes cytotoxiques. La nécrose des tumeurs observées *in vivo* dépend probablement davantage des lésions des vaisseaux vascularisant la tumeur que d'un effet direct sur les cellules tumorales. Chez les répondeurs (Fig. 36), le taux à J0 est élevé chez 3 patients, normal chez les autres. Les valeurs normales des taux sériques de TNF- $\alpha$  sont  $< 10 \text{ ng.l}^{-1}$ . On assiste à une augmentation régulière du taux dont la moyenne est multipliée par 2 à J17 et par un facteur 3.5 à J40. Toutefois, l'hétérogénéité des résultats ne permet pas de conclure de façon significative.

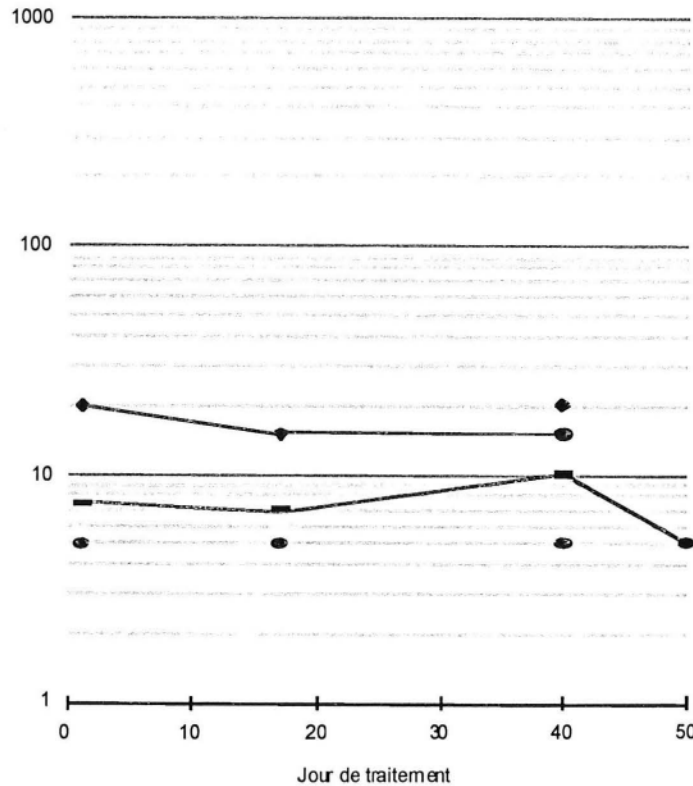


Taux sérique de TNF en ng/l chez les patients répondeurs



Chez les non répondeurs (fig. 37), 1 seul patient présente un taux de base modérément élevé à 20 ng.l<sup>-1</sup>. Tous les autres ont un taux normal. En cours de traitement, on observe une stabilité du taux de TNF- $\alpha$  qui reste négatif.

Taux de TNF en ng/l chez les patients non répondeurs



En comparant la valeur du taux de TNF- $\alpha$  à J0, J17, J40 et J50 (tableau XIX), on ne met de différence significative en évidence entre nos 2 populations concernant le taux de base de TNF- $\alpha$  ( $p : 0.2$ ) et l'évolution en cours de traitement.

**Tableau XIX : Moyenne des taux sériques de TNF- $\alpha$  en ng.l<sup>-1</sup> en cours de traitement.**

	J0	J17	J40	J50
Répondeurs	24	51	83	51
Non répondeurs	8	7	10	5

Notre étude ne nous permet pas de faire du taux de base de TNF- $\alpha$  un facteur prédictif de réponse. La variation du taux de TNF- $\alpha$  n'est pas corrélé à la réponse clinique.

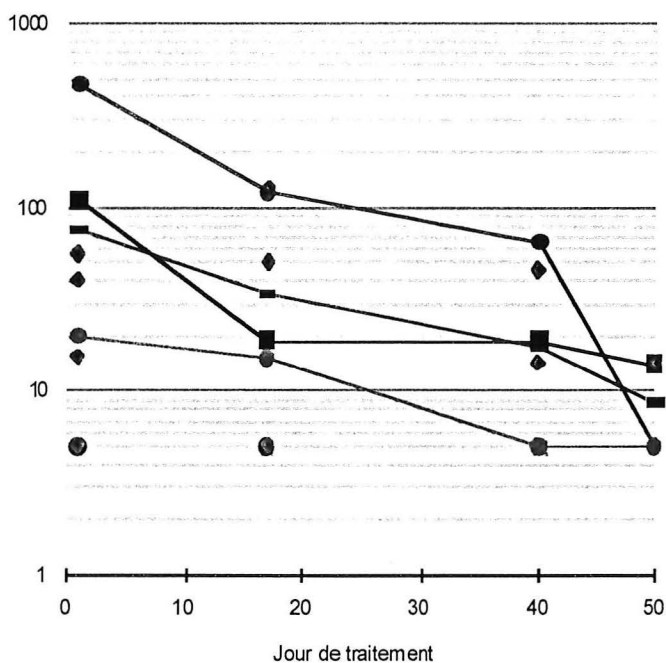
#### 4.2.2 - Interleukine-6 (IL-6)

Elle est produite entre autre par les monocytes, les lymphocytes T et B activés. En présence d'IL-2, l'IL-6 induit la différenciation cytotoxique des LT et la maturation des LB. Elle est donc un important immuno-régulateur.

La valeur normale de l'IL-6 sérique est comprise entre 1 et 20 ng.l<sup>-1</sup>

L'évolution du taux d'IL-6 est représentée chez les répondeurs par la figure 38.

Taux sérique de IL-6 en ng/l chez les patients répondeurs



Le taux de base d'IL-6, à J0 est supérieur à la normale pour 5 patients (40-470). Parmi eux, 4 présentent une baisse du taux à J17, baisse qui se poursuit à J40 pour 3 d'entre eux. Ces 3 patients sont représentés en pointillés et de 3 couleurs différentes.

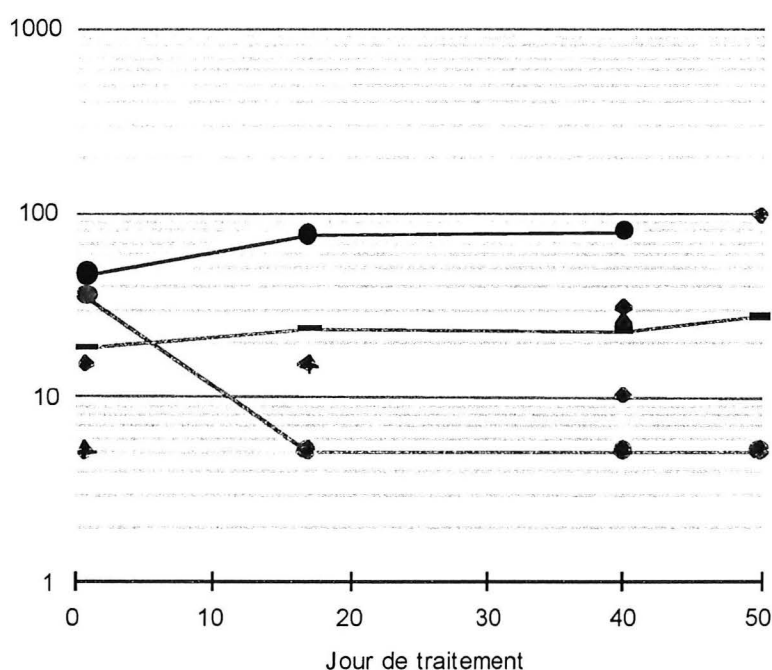
En faisant la moyenne du taux d'IL-6 aux différents jours de traitement (tableau XX), on observe une décroissance régulière du taux d'IL-6 au cours du traitement et ce de façon significative ( $p : 0.01$ ).

**Tableau XX : Moyenne des taux sériques d'IL-6 en  $\text{ng.l}^{-1}$  en cours de traitement.**

	J0	J17	J40	J50
<b>Répondeurs</b>	75	34	17	9
<b>Non répondeurs</b>	19	23	23	28

En analysant les taux d'IL-6 chez les non répondeurs (fig. 39), on observe que 2 patients sur les 8 présentent un taux de base élevé (35 et 46  $\text{ng.l}^{-1}$ ) ; les 6 autres ont des valeurs normales.

Taux sérique d'IL6 en  $\text{ng/l}$  chez les patients non répondeurs



Au cours du traitement, parmi les 2 patients qui avaient un taux élevés à J0, un augmente ce taux à J17, l'autre diminue. Ces 2 patients sont représentés en pointillé sur la figure 39. De façon globale, on observe une stabilité du taux d'IL-6 chez les non répondeurs.

En comparant les taux de base d'IL-6 dans nos deux populations, on n'observe pas de différence ( $p : 0.18$ ).

Nous concluons que le taux d'IL-6 à J0 n'est pas un facteur prédictif de réponse mais que la baisse du taux d'IL-6 en cours de traitement est significativement corrélée à la réponse clinique.

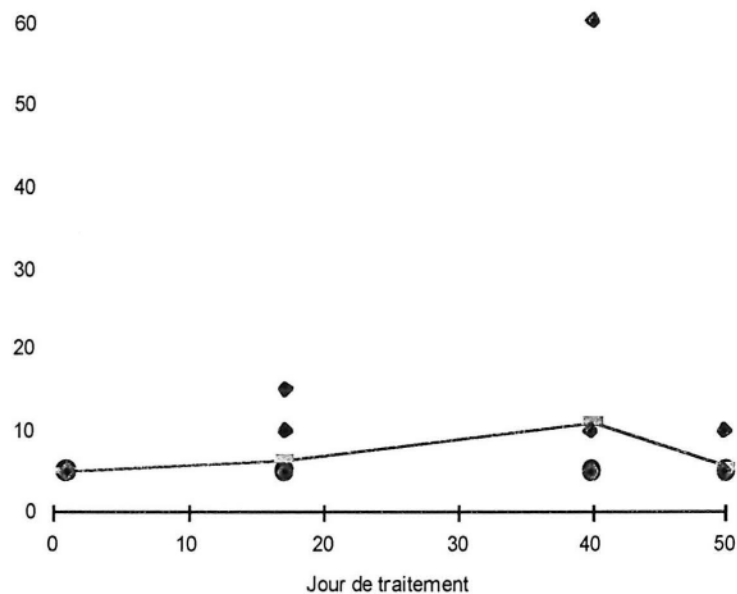
#### 4.2.3 - Interleukine-1

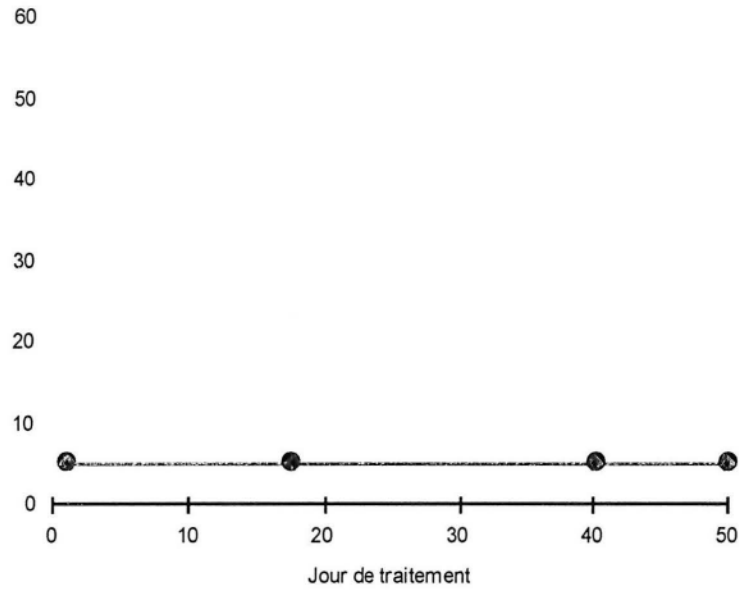
Il existe deux molécules d'IL-1 : l'IL-1 $\alpha$  et l'IL-1 $\beta$  qui ont les mêmes fonctions et se lient aux mêmes récepteurs avec des affinités similaires. Elles sont produites par de nombreux types cellulaires et agissent sur les cellules T et B en augmentant leur réponse à d'autres lymphokines. L'IL-1 augmente la production de lymphokines par les LTH et augmente leur expression du récepteur à l'IL-2. Elle active également les cellules NK, les macrophages directement ou indirectement par des lymphokines comme l'IFN- $\alpha$ .

Les valeurs normales du taux de ces deux cytokines sont comprises entre 50 et 300

ng.l<sup>-1</sup>. Les figures 40 et 41 représentent l'évolution des taux sériques d'IL-1 $\alpha$  dans les 2 populations.

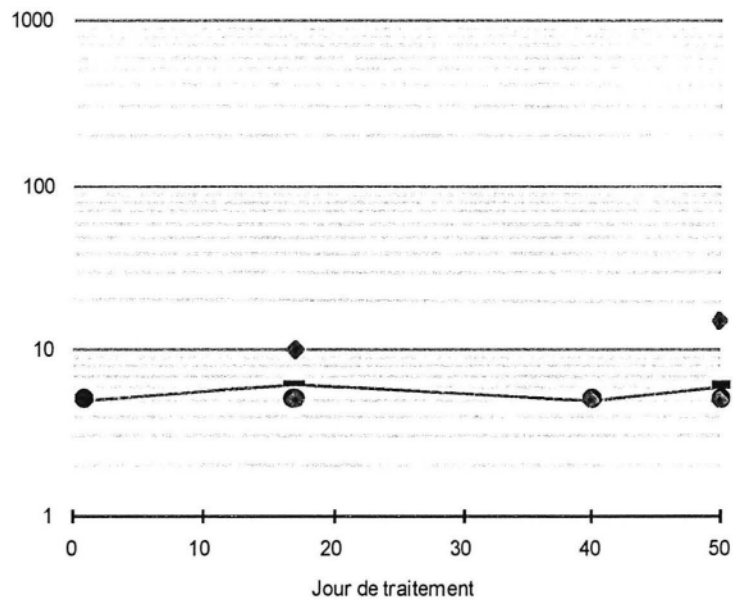
Taux sérique d'IL 1 $\alpha$  en ng/l chez les patients répondeurs



Taux sérique d'IL 1 $\alpha$  chez les patients non répondeurs

Tous les dosages restent au dessous du seuil de normalité.

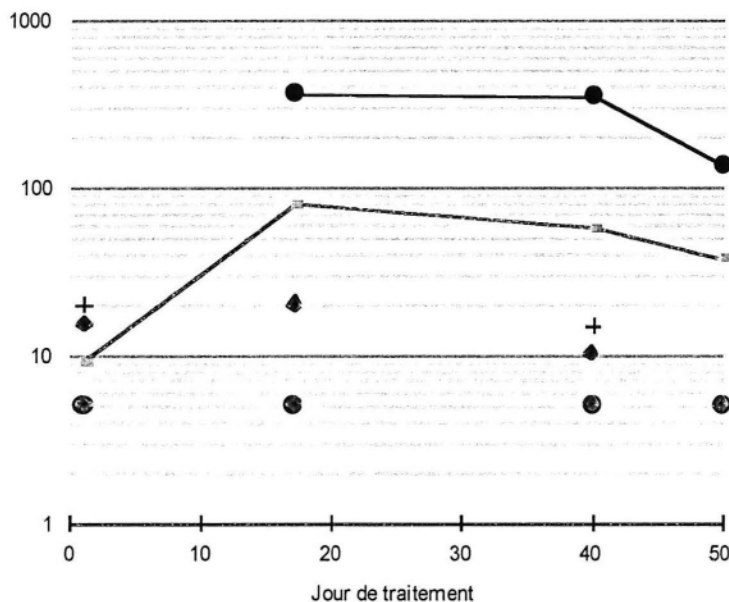
Le taux d'IL-1 $\beta$  reste négatif chez les répondeurs (fig. 42).

Taux sérique d'IL 1 $\beta$  chez les patients répondeurs

On note une seule patiente qui présente des valeurs supra-normales ( $> 300$ ) chez les non répondeurs. Elle est représentée en pointillés sur la figure 43.

Cette patiente, fait faussement augmenter la moyenne en cours de traitement. Tous les autres patients présentent un dosage négatif en cours de traitement.

Taux sérique d'IL-1 $\beta$  en ng/l chez les patients non répondeurs



Au total, les taux d'IL-1 ( $\alpha$  ou  $\beta$ ) sont et restent négatifs dans les deux groupes. On ne peut utiliser ce paramètre pour prédire l'évolution.

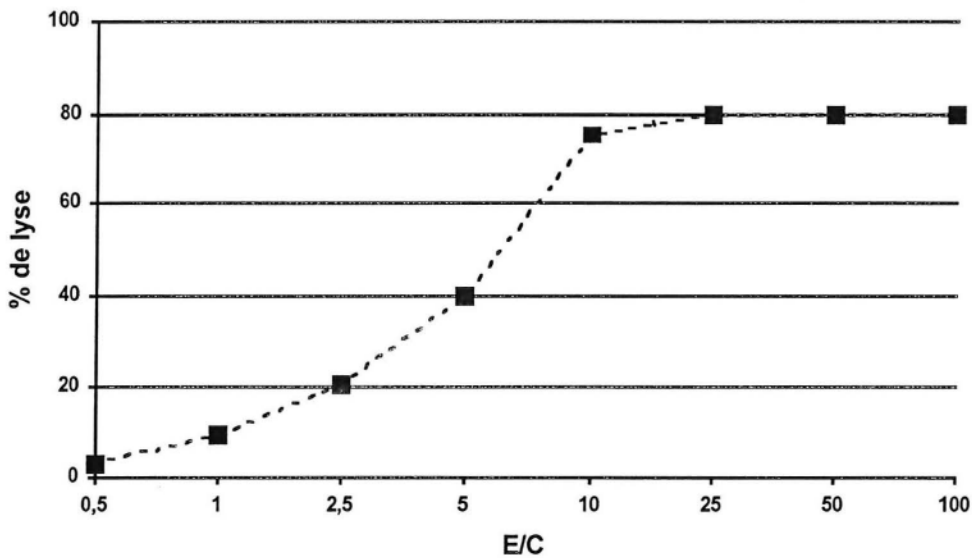
#### 4.3. - CAPACITES FONCTIONNELLES DES LYMPHOCYTES

Comme nous l'avons précédemment rappelé; l'IL-2 est le principal facteur de croissance des cellules T cytotoxiques, augmente la toxicité des cellules Natural Killers et est le principal facteur requis pour l'induction et la croissance des cellules NK.

Depuis peu, nous réalisons une étude de la cytotoxicité par analyse du relargage de chrome 51 (Cr 51). Nous utilisons des cellules mononucléées fraîches car la congélation altère la capacité cytotoxique des cellules. L'essai est donc une étude des capacités fonctionnelles des lymphocytes en utilisant 3 types de cellules cibles. Les cellules K562 sont issues d'une lignée de cellules de leucémie myéloïde chronique. Ces cellules n'exprimant pas les antigènes HLA de classe I sont sensibles aux cellules NK et LAK. Les cellules Daudi ou Raji sont issues d'une lignée de cellules d'un lymphome de Burkitt. Insensibles aux cellules NK, elles sont par contre sensibles aux cellules LAK.

La technique précise est relatée en annexe VII mais le principe est le suivant. Après incorporation de Cr 51 dans les cellules cibles et incubation de 4 heures, on les met en présence des lymphocytes du patient (cellules effectrices). Seules les cellules lysées vont relarguer le Cr 51 incorporé. Il existe toutefois un faible relargage spontané (RS), le relargage maximum (RM) étant obtenu par destruction des cellules à la saponine.

Nous mesurons la radioactivité dégagée en mettant en contact différents rapport E/C (0.5-1-2.5-5-10-25-50-100), le type de résultats est relaté dans le graphique 44.



Dans notre étude, nous allons analyser le pourcentage de lyse obtenue avec un rapport E/C à 25 c'est-à-dire en mettant en présence 25 cellules effectrices pour une cellule K562 ou une cellule Daudi. Le pourcentage spécifique de lyse est donc :

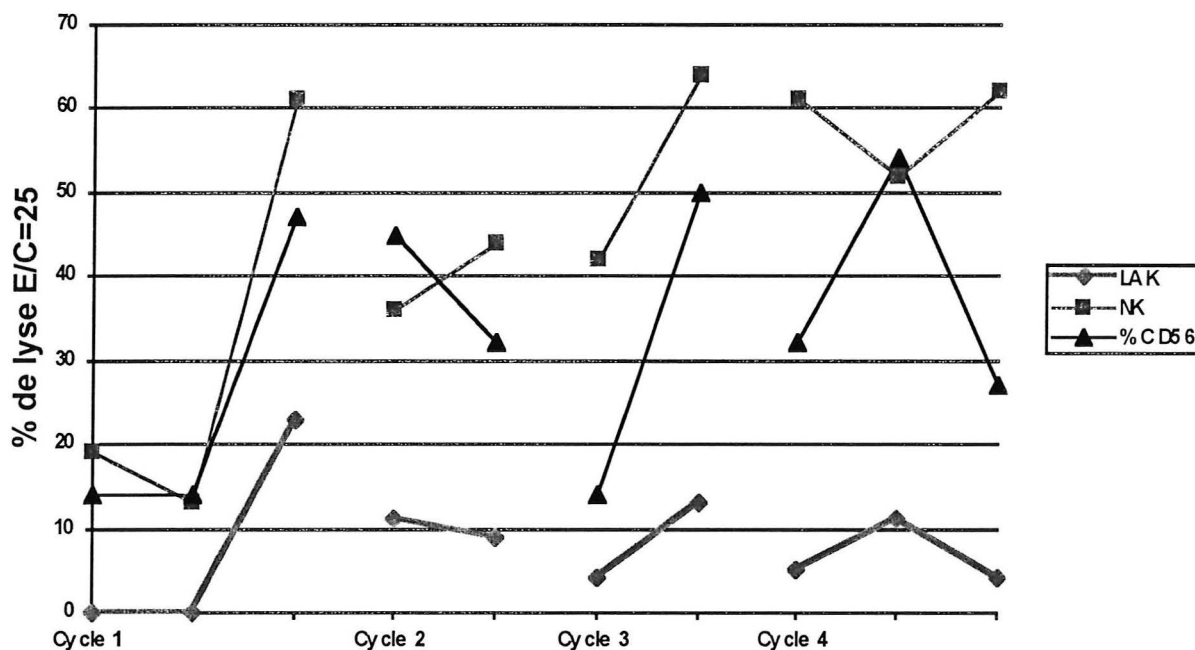
$$\text{Pourcentage de lyse} = \frac{\text{moyenne} - \text{RS}}{\text{RM} - \text{RS}}$$

On parle d'activité NK ou LAK quand le pourcentage de lyse est  $\geq 20\%$ .

Cette étude, que nous ne réalisons que depuis quelques mois, a été appliquée à 8 patients seulement et nous allons relater les résultats obtenus chez une patiente qui a été suivie de façon régulière, sur 4 cycles. Cette patiente était âgée de 51 ans, présentait des métastases exclusivement non viscérales puisque

cutanées et ganglionnaires. Elle avait reçu de l'IFN- $\alpha$  en phase adjuvante après une récurrence ganglionnaire. Notre traitement lui a été donné en première ligne métastatique. Elle a reçu 4 cycles d'attaque et a présenté une réponse partielle < 50 % pour une durée de 17 semaines.

Dans la figure 45, nous observons la variation du pourcentage de lyse, reflet de l'activité NK et LAK, au cours du traitement. En parallèle, nous avons représenté la variation du pourcentage d'expression du CD56 aux mêmes dates. En effet, ce deuxième paramètre est essentiel pour interpréter les données. L'augmentation de l'activité cytotoxique NK couplée à l'augmentation du pourcentage de cellules CD56+ signifie que l'on a augmenté le nombre de cellules effectrices. Par contre, une augmentation de l'activité NK couplée à une stabilité du pourcentage des cellules CD56+ signifie que chaque cellule effectrice a acquis du pouvoir cytotoxique.



On remarque dans un premier temps que l'activité NK de base, avant tout traitement, n'est pas nulle puisque de 20%, contrairement à l'activité LAK.

Concernant l'activité NK, on note globalement une augmentation au cours d'un même cycle et d'un cycle sur l'autre. L'évolution concomitante du pourcentage d'expression lymphocytaire de l'antigène CD56 est de 2 sortes : parallèle à l'activité NK au cours des premier et troisième cycles, d'évolution inverse lors des deuxième et quatrième cycles. Quant au développement d'une activité LAK, sauf exception, elle reste nulle. Bien entendu, nous ne tirons aucune conclusion hâtive car ces constatations sont dues à l'examen d'une seule patiente.



## DISCUSSION

*« On a souvent honoré de sage ceux qui n'ont eu d'autre mérite  
que de contredire leurs contemporains »  
Jean Le Rond d'Alembert 1717-1783*

L'utilisation de cisplatine (100 mg/m<sup>2</sup>) à J0, suivi d'une perfusion continue d'interleukine-2 (18.10<sup>6</sup> UI/jour) de J3 à J6 puis de J17 à J21 et de l'injection sous-cutanée d'interféron- $\alpha$  (9.10<sup>6</sup> UI) 3 fois par semaine, chez trente-huit patients, a permis d'obtenir 44 % de réponse objective dont 14 % de réponse complète. La médiane de survie a été de 37 semaines soit un peu plus de 8 mois.

Nous l'avons vu, les taux de réponse avec une monochimiothérapie sont d'environ 15 à 20 % et la combinaison de polychimiothérapie associant la dacarbazine et le cisplatine permettent d'obtenir 20 à 45 % de réponse. Cependant, les réponses induites sont le plus souvent partielles et de courte durée, le plus souvent inférieure à 5 mois.<sup>56-62</sup>. Des réponses complètes (RC) surviennent chez 5 à 10 % des patients traités par polychimiothérapie. Quelques travaux rapportent la possibilité de RC durables chez une petite partie (20 à 30 %) des patients mis en RC par chimiothérapie<sup>1-17</sup>. La probabilité de rémission à long terme concerne donc une faible partie des patients (1 à 2 %). De plus, ces rares cas sont très largement observés sur les sites cutanés ou ganglionnaires, occasionnellement pulmonaires. Les patients porteurs de métastases hépatiques, osseuses ou cérébrales n'obtiennent - sauf exception - jamais de rémission complète durable avec les chimiothérapies actuellement disponibles. Ces résultats décevants et les données connues sur la réponse immunitaire antitumorale dans les mélanomes<sup>74</sup> ont donc conduit à utiliser les cytokines dans le traitement du mélanome.

De nombreux essais ont étudié l'activité de l'IFN- $\alpha$  ou de l'IL-2. L'IFN- $\alpha$  induit 15 % de réponse<sup>51-53</sup> et l'IL-2 à différentes doses et différents modes d'administration, produit entre 10 et 30 % de réponse<sup>73</sup>. La combinaison des deux cytokines permet d'obtenir entre 15 et 30 % de réponse, dont 5 % de RC. Contrairement à la chimiothérapie, 50 % des RC sont de longue durée avec une médiane de rémission de 7 mois<sup>53</sup>. De plus, des RC durables sont observées dans des sites viscéraux comme le poumon. Par conséquent, en raison de leur capacité à produire des RC durables, ces deux agents biologiques ont été associés à la chimiothérapie dans de multiples schémas.

Nous l'avons vu précédemment, durant ces 5 dernières années, de nombreuses études ont rapporté leur expérience de la biothérapie. Bien que les schémas utilisent le plus souvent plusieurs drogues, Khayat et al.<sup>49</sup> ont développé un traitement contenant une seule drogue de chimiothérapie, le cisplatine, qu'ils ont associé à l'IFN- $\alpha$  et l'IL-2. Ils ont rapporté les résultats obtenus avec 39 patients et ont obtenu 54 % de réponse objective et 5 patients ont présenté une rémission complète soit 13 %. Ils obtiennent des résultats bien meilleurs qu'avec les autres modalités thérapeutiques et nous avons suivi le même

protocole de traitement. Une première évaluation avait été faite sur 30 patients grenoblois en 1995 <sup>69</sup> Nous avons observé 39 % de réponse objective (RO) dont 14 % de RC. Notre série comporte 36 patients évaluable, le taux de réponse objective est de 44 % dont 14 % de réponse complète. La médiane de survie est de 8 mois. Comparons à présent nos résultats avec ceux de O.Rixe et al. <sup>80</sup> qui représente le suivi de l'étude de D. Khayat publiée en 1992 <sup>17</sup> L'étude a porté sur 91 patients : 67 ont reçu l'association CDDP + IFN- $\alpha$  + IL-2 et 24 se sont vus adjoindre du tamoxifène (40 mg/jour de J-4 à J5). En raison d'une majoration de la toxicité avec notamment des épisodes infectieux, le tamoxifène a été définitivement stoppé. Celui-ci obtient 53 % de taux de réponse objective, soit légèrement supérieur au nôtre. Par contre, nous obtenons un taux de RC sensiblement identique avec 14 % contre 11 % pour O. Rixe. Nos résultats diffèrent surtout sur la durée médiane de réponse : 7 mois dans notre étude contre 24 mois dans celle de O. Rixe mais les médianes de survie sont très proches ( 8 mois dans notre étude contre 6 mois pour O. Rixe).

Cette différence en terme de durée de rémission vient du type de malades inclus dans notre étude - volume tumoral, sites métastatiques. En effet, 60 % des patients de notre étude comportent plus de deux sites métastatiques contre 42 % dans l'étude de O. Rixe. Quatre de nos patients ne présentent que des métastases non viscérales, alors que cela concerne 46 % des patients de O. Rixe. Nous mettons en évidence le fait qu'un intervalle libre supérieur à un an entre le début de l'IFN- $\alpha$  et l'évolution métastatique est un facteur prédictif favorable de réponse ( $p : 0.05$ ). En effet, tous les patients dans ce cas répondent à notre traitement alors que près de la moitié ne répond pas dans le cas contraire. Nous démontrons que la Dose Intensité Relative d'IFN- $\alpha$  administrée est étroitement corrélée à une réponse clinique quand elle est supérieure à 85 % ( $p : 0.004$ ).

Concernant les patients porteurs de métastases cérébrales, nous retrouvons 54 % de réponse globale dont 40 % de réponse objective (1 RC et 5 RP>50 %). Ces résultats sont supérieurs à ceux de O. Rixe et al. qui obtiennent 28 % de réponse objective dont 1 rémission complète (le nombre de patients porteurs de métastases cérébrales n'est pas précisé). Nous confirmons le fait que la présence de métastases cérébrales n'est pas un facteur prédictif péjoratif. Les taux de réponse objective de 40 % et les durées de réponse de 5.5 mois ne sont pas statistiquement différents des patients non porteurs de métastases cérébrales qui présentent 47 % de réponse objective avec une durée médiane de 3.7 mois. La présence de métastases cérébrales n'est pas non plus un facteur pronostic péjoratif supplémentaire

car la survie de ce groupe de patients (7 mois) n'est pas significativement différente de celle des patients non porteurs de métastases cérébrales (8 mois; p:0.15).

Les résultats que nous obtenons sont en accord avec les conclusions de la littérature, à savoir que la triple association CDDP + IL-2 + IFN- $\alpha$  est une des rares qui permette d'obtenir 50 % de RO avec une fraction significative de RC (10 %) durable pouvant atteindre 5 ans.<sup>52</sup> De plus cette association apparaît efficace chez des patients porteurs de métastases viscérales et leur laisse entrevoir une possibilité de réponse de 50 %. Traités par chimiothérapie seule, en mono ou polychimiothérapie, les taux de réponse sur les sites cérébraux se situent aux alentours de 25 %<sup>7-40-41-47</sup>. Nous l'avons vu, l'efficacité de la radiothérapie est difficile à évaluer car la plupart des patients reçoit d'emblée une corticothérapie qui les améliore fonctionnellement. Globalement, les résultats sont sombres avec des taux de réponse de l'ordre de 30 % et surtout des médianes de survie de 2 à 5 mois. Quel que soit la dose unitaire et le type de fractionnement utilisé, la survie médiane reste identique<sup>76</sup> Cependant, quelques patients sont vivants 2 à 3 ans après l'irradiation. Dans la série de Choi et al.<sup>23bis</sup>, 5 patients sur 194 sont vivants à 2 ans et 2 le sont à 3 ans. Dans notre étude, cinq patients porteurs de métastases cérébrales ont reçu une irradiation sur un volume panencéphalique à la dose de 30 Gy en 10 fractions sur 2 semaines. Nous notons un patient dont la survie après l'irradiation est supérieure à 1 an (22 mois). Ce patient a par ailleurs présenté une longue survie de 57 mois.



Concernant la toxicité observée, elle est celle retrouvée dans les publications rapportant des expériences de biothérapie. On observe 50 % de toxicité hématologique de grades III et IV concernant les leucocytes et les érythrocytes. Le pourcentage est un peu plus faible sur les thrombocytes (39%). Ces chiffres sont un peu supérieurs à ceux de Rixe qui obtient respectivement 29 %, 40 % et 34 % de toxicité de grades III et IV.

Avec 58 % d'hypotension artérielle de grades III et IV, nous sommes encore une fois supérieurs à Rixe (42 %). Nous déplorons un décès par choc cardiogénique chez une jeune femme de 29 ans. Cette patiente a été traitée en 1994, et nous n'avons pas encore une grande habitude de l'utilisation de l'I-2 et de la gestion optimale de ses effets secondaires. Depuis, une meilleure prise en charge de ces patients, avec notamment l'utilisation courante de macromolécules et d'amines vasopressives, a permis

d'éviter toute complication létale. Aucune complication infectieuse n'a été observée dans notre étude alors que Rixe en observe 13 % dans le bras biochimiothérapie et 36 % dans le bras contenant du tamoxifène.

Les dysfonctionnements thyroïdiens initialement décrits étaient de type hypothyroïdie. Atkins et al. <sup>5</sup> ont contrôlé la biologie thyroïdienne de 34 patients traités par IL-2 + LAK. Ils mettent en évidence 21 cas d'hypothyroïdie centrale et semblent faire de cet événement un facteur prédictif de réponse. Atzpodien et al. <sup>6</sup> ont fait la même étude avec 31 patients recevant de l'IL-2 et de l'IFN- $\alpha$  par voie sous-cutanée après échec de traitement usuels. Ils étudient 14 cancers du rein, 7 mélanomes, 8 cancers colo-rectaux, un lymphome B et une maladie de Hodgkin. Au cours du premier cycle de traitement il dénombre 4 hypothyroïdies et 15 hyperthyroïdies, toutes transitoires et normalisées en 4 semaines à l'arrêt du traitement. Ils n'ont pas mis en évidence de relation entre ces dysfonctionnements thyroïdiens et la réponse clinique. Nous observons quant à nous 3 cas d'hyperthyroïdie d'origine périphérique. Deux d'entre elles ont présenté un échec à notre association et la troisième une RP>50%.

.Notre étude n'a pas comporté d'étude de la qualité de vie mais celle-ci serait pourtant indispensable. L'étude pourrait être comparable à celle réalisée par Kirkwood <sup>48</sup> sur 143 patients atteint de mélanome à haut risque métastatique et recevant une immunothérapie adjuvante par IFN-2b. En dépit du gain apparent de ce traitement en terme de survie sans rechute et survie globale, le projet de l'analyse Q-TWiST (Quality-adjusted Time Without Symptoms and Toxicity) est d'analyser l'impact du traitement à la fois sur la quantité et la qualité de vie donnée par ce traitement. Le temps passé en TWiST est comparé au temps passé en période toxique iatrogène et au temps passé en période symptomatique du fait de la maladie. Par conséquent, un traitement qui augmenterait le TWiST sans toxicité majeure serait à même d'être proposé à nos patients. Kirkwood conclut positivement son étude en renforçant le Q-TWiST de son traitement adjuvant. L'asthénie majeure est de mise pratiquement à chaque période d'IL-2, c'est à dire 9 jours par mois et persiste le plus souvent au-delà. Des troubles psychologiques tels somnolence voire léthargie, confusion, lenteur d'idéation sont souvent observés <sup>88</sup> L'anxiété et la dépression sont fréquentes et semblent se majorer au fil du traitement. Ces troubles psychologiques n'ont pas été évalués durant notre étude.

Nous pensons que si notre traitement apporte un incontestable avantage en terme de réponse, le bénéfice obtenu en terme de qualité de vie est plus que discutable. Toutefois, aucune étude de la qualité

de vie en cours de traitement n'a été réalisée chez des patients en phase métastatique. Nous ne pouvons qu'encourager de telles études et il nous paraît indispensable d'intégrer une évaluation de la qualité de vie à toute étude prospective sur le mélanome en phase métastatique.



En 1992, Blay et al. <sup>19</sup> rapportent une étude des variations des taux sériques de trois cytokines possédant des propriétés antitumorales : le TNF- $\alpha$ , l'IL-1 et l'IL-6 chez 49 patients présentant un adénocarcinome du rein métastatique et traité par biothérapie selon deux modalités : l'utilisation d'IL-2 en perfusion continue associée ou non à la réinjection de LAK et l'association d'IFN- $\alpha$  pendant 5 jours suivis de IL-2 administrée en bolus pendant 5 jours.. Les prélèvements ont été réalisés avant le début de l'IFN et après les 5 premiers jours d'IFN (J0) chez les patients traités par IL-2/IFN. Chez les patients traités par IL-2 seule, le sérum a été prélevé avant le début des injections. Chez l'ensemble des patients, les sérums ont été collectés à la fin des 5 jours d'IL-2 (J5) ainsi que 48 heures après la fin du premier cycle. Leurs résultats montrent que l'administration d'IL-2 ou d'IL-2 + IFN entraîne une augmentation significative du taux sérique de TNF- $\alpha$  chez 95 % des patients. Les taux restent significativement supérieurs aux taux de base 48 heures après l'arrêt de l'IL-2. Concernant les taux d'IL-1, à J5, ils sont identiques aux préthérapeutiques. En revanche, à J8, ils observent une augmentation significative des concentrations d'IL-1 par rapport aux taux de base ( $p : 0.01$ ) chez les 2 groupes de patients. Quarante quatre pour cent présentent une augmentation du taux sérique d'IL-6 en cours de traitement mais pas de façon significative.. Aucun des patients n'ayant présenté d'infection documentée aux dates des prélèvements, cette augmentation des taux sériques de ces cytokines n'a pu être attribuée à un mécanisme septique, comme cela a été initialement décrit <sup>100</sup> Ils montrent de plus la valeur prédictive de réponse des taux de TNF- $\alpha$  à J8 et IL-1 à J8. Tartour et al. <sup>95</sup> étudient le taux sérique d'IL-6 chez 30 patients atteints de mélanome métastatique avant traitement par IL-2 et concluent qu'un taux élevé ( $> 20$  pg/ml) permet de sélectionner un sous-groupe de patients réfractaires à l'IL-2. Deehan et al. <sup>26</sup> analysent le taux d'IL-6 préthérapeutique et suit son évolution en cours de traitement chez 20 patients porteurs d'un cancer colo-rectal localement avancé ou métastatique et traités par IL-2. Ils démontrent que les répondeurs ont un taux sérique préthérapeutique d'IL-6 significativement inférieur ( $p < 0.001$ ) aux non répondeurs. Durant le traitement, les répondeurs

produisent de forts taux d'IL-6 alors que les non répondeurs n'en produisent pas. Ils ne mettent pas en évidence de différence concernant les taux de TNF- $\alpha$ .

Une partie de ces données est confirmée par Tartour et al.<sup>93</sup> qui étudient, entre autres paramètres, les taux d'IL-6 chez 81 patients porteurs de mélanomes métastatiques et traités par différents régimes d'IL-2. Ils concluent qu'en analyse univariée, qu'un taux préthérapeutique élevé ( $> 20$  pg/ml) d'IL-6 est significativement corrélé à un échec du traitement.

Toutes ces études tendent à prouver que les non répondeurs ont un taux de base d'IL-6 élevé, ne voient pas ce taux augmenter en cours de traitement. Par contre, l'augmentation des taux de TNF- $\alpha$  et d'IL-1 serait un facteur prédictif de réponse.

Ces analyses biologiques pourraient donc permettre la sélection de patients répondeurs au traitement.

Dans notre étude, ce que nous obtenons va, pour une partie, à l'encontre de ces résultats. Nous observons bien une augmentation du taux sérique de TNF- $\alpha$  chez la population des répondeurs et une stabilité chez les non répondeurs mais nous ne concluons pas de façon formelle. Notre étude porte sur un nombre restreint de patients et nous observons une grande hétérogénéité dans les résultats, d'un groupe de patients à l'autre mais aussi à l'intérieur même d'un groupe, voire au cours de l'évolution chez un même patient. Cela explique en partie la non significativité de nos résultats. L'analyse des taux sériques d'IL-1 ne montre pas de différences entre les deux groupes dont la quasi totalité des dosages restent inférieurs à la normale.

Par contre, nous observons que parmi les 7 patients présentant un taux sérique d'IL-6 élevé avant tout traitement, 5 (parmi lesquels 2 sont porteurs de métastases cérébrales) répondent au traitement et 2 sont en échec, tous deux porteurs de métastases cérébrales.. Les patients répondeurs présentent par contre une décroissance régulière du taux sérique d'IL-6, de façon significative ( $p : 0.01$ ). Nous ne pouvons expliquer ces résultats en contradiction avec ceux de la littérature. Les travaux publiés concernent d'autres pathologies que le mélanome et les patients ont reçu une grande diversité de traitements. Tous comportaient de l'IL-2 mais avec des modalités d'administration différentes. De l'IFN a été administré à la plupart des patients. Aucun schéma ne comportait de drogue de chimiothérapie. Toutefois, notre étude porte sur un faible nombre de patients et, comme cela est relaté en annexe VIII, certaines données sont manquantes et il existe une hétérogénéité dans nos résultats. Cette étude mérite toutefois d'être poursuivie de façon plus rigoureuse, sur un plus grand nombre de patients afin de permettre une sélection des patients susceptibles de répondre à l'association chimio-immunothérapie.



De nombreux travaux se sont intéressés aux modifications immunologiques induites par l'IL-2<sup>60-90</sup> En étudiant l'expression des principaux antigènes lymphocytaires au cours du traitement, nous ne retrouvons aucune des conclusions de la littérature. L'évolution des sous-populations lymphocytaires ne nous apparaît pas différente chez nos deux groupes de patients et on ne note pas de profil particulier au sein de chaque groupe. Encore une fois, nous ne pouvons que rester prudents quant à la validité de nos conclusions.

Quant à l'étude des capacités fonctionnelles des lymphocytes, elle porte sur un nombre trop restreint de patients. Nous observons bien une augmentation de l'activité NK chez une patiente analysée pendant plusieurs semaines. Elle a reçu 4 cycles d'induction et a présenté une réponse partielle inférieure à 50 % pendant 17 semaines. Les prélèvements ont été réalisés pendant toute la durée de son traitement. Nous ne pouvons pas savoir si cette augmentation d'activité NK est due à une augmentation du nombre de cellules CD56 ou si elle reflète une acquisition de pouvoir cytotoxique par chaque cellule effectrice. L'activité LAK chez cette patiente reste, sauf exception, nulle. Pour tenter d'apporter une réponse, il faudrait purifier les cellules CD56+ afin d'obtenir une suspension composée à 100 % de cellules CD56+. Une autre possibilité serait de faire incuber des cellules du patient en présence d'IL-2, pendant 3 jours, puis de comparer l'activité NK ou LAK avec celle obtenue *in vivo*.

Compte tenu du peu d'informativité des résultats obtenus en analysant les sous-populations lymphocytaires, des coûts humains et financiers de ces travaux, nous proposons de ne poursuivre que l'étude testant les capacités fonctionnelles des lymphocytes, en étudiant parallèlement la variation d'expression de l'antigène membranaire CD56. Bien que l'on ne connaisse pas la sensibilité des cellules malignes à ces cellules effectrices, ni l'accessibilité de ces dernières à la tumeur, l'étude des relations IL-2 / capacités fonctionnelles des lymphocytes mérite d'être poursuivie. Couplée à des méthodes de purification des cellules CD56, cette étude permettra de savoir si, comme cela est attendu, l'IL-2 induit réellement une activité cytotoxique et de quel type, NK ou LAK.





A l'heure actuelle, la triple association cisplatine + IL-2 + IFN- $\alpha$  est, d'après la littérature, la meilleure à proposer aux patients. A la lumière de notre étude, il est difficile d'établir un profil type de patients susceptibles d'en bénéficier. D'après nos résultats, la possibilité de réponse n'est pas liée à l'état général, ni au nombre de sites métastatiques. Elle est par contre positivement corrélée par un délai de moins d'un an entre le traitement adjuvant et l'évolution métastatique ( $p : 0.05$ ) et par une DIR d'IFN- $\alpha$  supérieure à 85 % ( $p : 0.004$ ). Fait important, la présence de métastases cérébrales n'est pas un facteur de non réponse et n'augmente pas la toxicité du traitement. Concernant la survie, le nombre de sites métastatiques et la présence de métastases cérébrales ne sont pas des facteurs pronostiques. Les patients porteurs de métastases cérébrales ne devraient plus, donc il est de coutume, être exclus des essais thérapeutiques. Nous mettons par contre en évidence que l'état général coté selon l'échelle de l'OMS est un facteur pronostique ( $p : 0.03$ ).

L'utilisation de la biologie, et notamment les études visant à tester les capacités fonctionnelles des lymphocytes, restent encore à être validées.



Déjà de nouvelles études se profilent. Une étude multicentrique, de phase II, réalise une nouvelle approche thérapeutique. Son originalité tient au fait qu'une sélection des patients est faite par une chimiothérapie. Cette présélection utilisera la dacarbazine, chimiothérapie de référence dans le mélanome. Celle-ci permettra d'individualiser, d'une part, les patients qui présente une maladie chimiosensible et, d'autre part, les patients qui progressent rapidement sous chimiothérapie. En effet, chez ces patients, l'expérience montre que la probabilité d'un contrôle secondaire par chimio-immunothérapie est très faible, voire nulle. Ainsi, en utilisant cette approche, un groupe homogène de patients sera traité par la triple association cisplatine + IL-2 + IFN- $\alpha$ , les cytokines étant administrées par voie sous-cutanée. L'utilisation intraveineuse de l'IL-2 nécessite une hospitalisation et est à l'origine d'effets secondaires importants. Il a été démontré que son administration par voie sous-cutanée donne des résultats comparables dans le cancer du rein <sup>21</sup>. Cette modalité permet un traitement

en hôpital de jour et en ambulatoire, en raison d'une toxicité excédant rarement le grade II. On améliorerait par là même la tolérance au traitement et la qualité de vie de ces patients.

Relatons enfin une étude publiée tout récemment par Bernengo et al. <sup>18</sup> Ils ont traité 36 patients porteurs de mélanome disséminé par de plus faibles doses de cisplatine (75 mg/m<sup>2</sup>), interleukine-2 (9x10<sup>6</sup> IU, 2 fois par jour, de J3 à J6 et de J17 à J21, par voie sous-cutanée), interféron- $\alpha$  (3x10<sup>6</sup> IU, 3 fois par semaine à partir de J3) et tamoxifène (10 mg, 2 fois par jour). Le même schéma est répété à J29 et J57. Ils obtiennent des résultats comparables à ceux de D. Khayat avec un taux de réponse de 47.2 % dont 14 % de réponse complète (5 patients) et 33 % de réponse partielle > 50% (12 patients). Trente six pour cent des patients présentent une stabilisation (13 patients). La durée médiane de réponse est de 6.4 mois (2 à 29+). La médiane de survie est de 10 mois (3 à 36+). Les réponses sont observées dans tous les sites métastatiques. Notons tout de même que les patients porteurs de métastases cérébrales étaient exclus de l'essai. Les toxicités de grades III et IV sont toutes inférieures à 20 %.

Ces deux derniers essais, visant à améliorer la tolérance et la qualité de vie, méritent raisonnablement d'être proposés à des patients porteurs de mélanome en phase métastatique.



Nous obtenons 44 % de réponse objective dont 14 % de réponse complète. La durée médiane de rémission des patients mis en rémission complète est de 32 semaines soit 7 mois, celle des patients ayant présenté une réponse objective est de 23 semaines soit un peu plus de 5 mois. Trois patients ont obtenu des durées de réponse objective supérieures à un an. Ces résultats encourageants demandent à être améliorés dans le nombre de patients répondeurs et dans la durée des réponses obtenues.

Il nous semble indispensable d'adjoindre à toute étude prospective sur le mélanome en phase métastatique une étude de la qualité de vie, selon les modalités décrites par Kirkwood (91).

Il nous paraît également important de poursuivre les études visant à déterminer les éléments biologiques laissant espérer une efficacité de la chimio-immunothérapie. Notamment, il serait intéressant de connaître la valeur prédictive de réponse du taux de base d'IL-6 et de TNF- $\alpha$ .

Ces trois éléments font partie des objectifs à atteindre chez les patients porteurs de mélanome en phase métastatique.

## CONCLUSION

*« Il ne faut pas beaucoup d'esprit pour enseigner ce que l'on sait,  
il en faut infiniment pour enseigner ce que l'on ignore. »*

*Charles de Secondat, baron de Montesquieu 1689-1755*

THESE SOUTENUE PAR : CHINAL-PROVENCAL Jocelyne

TITRE : EVALUATION DE L'ASSOCIATION CISPLATINE - INTERLEUKINE-2 - INTERFERON- $\alpha$  DANS LE TRAITEMENT DU MELANOME METASTATIQUE.

### CONCLUSIONS :

Nous avons étudié rétrospectivement trente huit patients (dix sept femmes et vingt et un hommes) atteints de mélanome en phase métastatique, et traités par l'association cisplatine + interleukine-2 + interféron  $\alpha$ .

L'âge moyen en début de traitement est de 48 ans (43 pour les femmes et 49 pour les hommes).

Les principaux sites métastatiques en début de traitement sont pulmonaires (17 %), ganglionnaires (17 %), cutanés (16 %), cérébraux (14 %), hépatiques (12 %) et osseux (9 %). Trente neuf pour cent (15/38) des patients sont porteurs de métastases cérébrales.

Pour chaque cycle d'induction, le cisplatine est administré à J0 à la posologie de 100 mg/m<sup>2</sup> par voie intraveineuse. L'interleukine-2 est administrée en perfusion continue à la posologie de 18x10<sup>6</sup> UI/m<sup>2</sup> de J3 à J6 et de J17 à J21. L'interféron- $\alpha$  est administré par voie sous-cutanée à la posologie de 9x10<sup>6</sup> UI par injection, trois fois par semaine pendant toute la durée du cycle. Un nouveau cycle est repris à J28.

Trente six patients sont évaluables en terme de réponse clinique. Notre traitement a permis d'obtenir 44 % (16/36) de réponse objective avec 14 % (5/36) de réponse complète et 30 % (11/36) de réponse

partielle supérieure à 50 %. Huit patients (22 %) présentent une stabilisation ou une réponse partielle inférieure à 50 % et 12 patients sont en échec (33%). La durée médiane de rémission est de 32 semaines (7 mois). La durée médiane de réponse de tous les répondeurs est de 21 semaines (4.6 mois). La durée médiane de survie des 38 patients est de 37 semaines (8 mois). La médiane de survie des patients en réponse objective est de 48 semaines (10 mois), celle des patients en stabilisation est de 44 semaines (9 mois), celle des patients en échec est de 16 semaines (3 mois).

Nous mettons en évidence deux facteurs prédictifs de réponse :

- un intervalle libre supérieur à un an entre le début de l'administration d'interféron- $\alpha$  de façon adjuvante et l'évolution métastatique (p : 0.05).
- une «Dose Intensité Relative » d'interféron- $\alpha$  entrant dans l'association CDDP + IL-2 + IFN- $\alpha$  supérieure à 85 % (p : 0.004).

Parmi l'ensemble des facteurs pronostics étudiés (état général évalué suivant l'OMS, nombre de sites métastatiques, localisation anatomique des métastases), nous mettons en évidence un seul facteur de bon pronostic : l'état général (p : 0.03).

Dans la population porteuse de métastases cérébrales, nous retrouvons 40 % de réponse objective avec une réponse complète et cinq réponses partielles supérieures à 50 %. La durée médiane de survie de ces patients est de 7 mois. Nous concluons que la présence de métastases cérébrales n'est pas un facteur prédictif péjoratif tant du point de vue pronostic que du point de vue des chances de réponse à la combinaison chimio-immunothérapie.

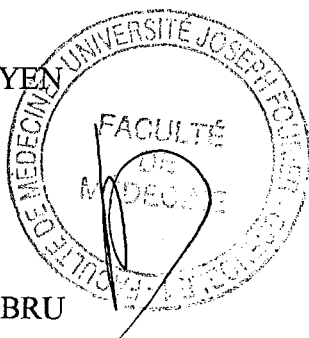
Les toxicités de grades III et IV observées sont hématologiques dans environ 50 % des cas, digestives dans 60 % des cas, hyperthermiques dans 71 % des cas, tensionnelles dans 58 % des cas.. Aucune toxicité spécifique en cas de métastases cérébrales n'est observée, rendant cette combinaison utilisable même en cas de métastases cérébrales chez des patients sélectionnés (bon état général, absence d'oédème cérébral).

Contrairement à ce qui est décrit dans la littérature, nous mettons en évidence la valeur prédictive positive sur les chances de réponse au traitement de la baisse du taux sérique d'IL-6 en cours de traitement. Ces résultats, ainsi que les autres données biologiques (expression lymphocytaire des antigènes membranaires, taux sériques de TNF- $\alpha$  et d'IL-1, étude fonctionnelle de la cytotoxicité des lymphocytes) devront être validés et confirmés.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le

LE DOYEN



J.L. DEBRU

LE PRESIDENT DE THESE

PROFESSEUR Schaefer

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**



- 1-Ahmamm DL, Creagan ET, Hahn RG, et al.** Complete responses and long-term survivals after systemic chemotherapy for patients with advanced malignant melanoma. *Cancer* 1989 : 63 : 224 - 7.
- 2-Ahmamm DL.** Nitrosoureas in the management of disseminated malignant melanoma. *Cancer Treat Rep* 1976 : 60 : 747 - 51.
- 3-AI-sarraf M, Fletcher W, Oishi N, et al.** Cisplatin hydration with and without mornnitol diuresis in refractory disseminated malignant melanoma : A Southwest Oncology Group Study. *Cancer Treat Rep* 1982 : 66 : 31.
- 4-Armstrong BK, English DR.** Epidemiologic Studies. In : Balch CM., Houghton AN., Milton GW., Sober A. eds Cutaneous melanoma 2nd ed. Philadelphia : Lippincott JB. 1992 : 12-22.
- 5-Atkins M, Meier J, Parkinson D, et al.** Hypothyroidism after treatment with interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells. *New Eng J Med* 1998 : 318 : 1557 - 63.
- 6-Atzpodien I, Körfera, Franks C, et al.** Home therapy with recombinant interleukin-2 and interferon- $\alpha$ 2b in advanced human malignancies. *Lancet* 1990 : 335 : 1509 - 12.
- 7-Avril MF, Bonnetterre J, Cupissol D, et al.** Fotemustine plus dacarbazine for malignant melanoma. *Eur J Cancer* 1992 : 11(287) : 1807 - 11.
- 8-Avril MF, Bonnetterre J, Delaunay M, et al.** Combination chemotherapy of dacarbazine and fotemustine in disseminated malignant melanoma. Experience of the French Group. *Cancer Chemother Pharmacol* 1990 : 27 : 81 - 4.
- 9-Bajetta E, Di Leo A, Zampino MG. et al.** Multicenter randomized trial of dacarbazine alone or in combination with two different doses and schedules of interferon alfa-2a in the treatment of advanced melanoma. *J Clin Oncol* 1994 : 12 : 806 - 11.
- 10-Balch CM, Cascineli N, Drzewiecki KT, et al.** A comparison of prognostic factors word wide. In : Balch CM., Houghton AN., Milton GW., Sober A, eds Cutaneous melanoma 2nd ed. Philadelphia : Lippincott JB., 1992 : 188.
- 11-Balch CM, Houshton A, Peters L.** Cutaneous melanoma. In : De Vita V.T., Hellman S., Resenberg S.A., eds. Cancer : principles and practice of oncology, 5th ed. Philadelphia : Lippincot. 1997 : 1979-80.
- 12-Balch CM, Houshton A, Peters L.** Cutaneous melanoma. In : De Vita V.T., Hellman S., Rosenberg S.A., editions. Cancer : principles and practice of oncology, 5th ed. Philadelphia : Lippincot. 1997 : 1981-1982.

- 13-Balch CM, Song SJ, Murad TM, et al.** A multifactorial analysis of melanoma IV. Prognostic factors in 20 melanoma patients with distant metastases (III). *J Clin Oncol* 1983 : 1:126.
- 14-Barth A, Wanek LA, Morton D.** Prognostic factors in 1521 melanoma with distant metastases. *J Am Coll Surg* 1995 : 181-93.
- 15-Benhammouda A, Auclerc G, Coeffic D, et al.** Chimiothérapie et immunothérapie des mélanomes malins métastatiques. *La Presse Méd* 1996 : 25(35) : 1690 - 7.
- 16-Berd D, Maguire HC, Mastrangelo MJ.** Potentiation of human cell-mediated and humoral immunity by low dose cyclophosphamide. *Cancer Res* 1984 : 44 : 5439 - 43.
- 17-Berd D, Mastrangelo MJ.** Combination chemotherapy of metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 1995 : 13 : 796 (abstr).
- 18-Bernengo MG, Dorveil GC, Bertero M, et al.** Low-dose integrated chemo-immuno-hormonotherapy with cisplatin, subcutaneous interleukin-2,  $\alpha$ -interferon and tamoxifen for advanced metastatic melanoma. A pilot study. *Melanoma Res* 1996 : 6 : 257 - 65.
- 19-Blay JY, Négrier S, Combaret V, et al.** Analyse des modifications des concentrations sériques de TNF- $\alpha$ , d'IL-1 et d'IL-6 au cours de l'administration d'IL-2. Corrélation avec la réponse au traitement. *Bull Cancer* 1992 : 79 : 55 - 65.
- 20-Busman DR, Camachoe, Wittes RE.** The current causes of death in patients with malignant melanoma. *Eur J Cancer* 1978 : 14 : 327.
- 21-Buter J, Sleijfer D, Van Der Graff WTA et al.** A progress report on the out patient treatment of patients with advanced rural cell carcinoma using subcutaneous recombinant interleukin-2. *Semin Oncol* 1993 : 20,6(suppl.9) : 16 - 21.
- 22-Buzaid A, Ross M, Balch C, et al.** Critical analysis of the current American Joint Committee on cancer staging system for cutaneous melanoma and proposal of a new staging system. *J Clin Oncol* 1997 : 15 : 1039-51.
- 23-Buzaid AC, Murren JR, Durivage HJ.** High-dose cisplatin with dacarbazine and tamoxifen in the treatment of malignant melanoma. *Cancer* 1991 : 68 : 1238 - 4.
- 23bis-Choi KN, Withers HR, Rotman M.** Intracranial metastasis from melanoma. Clinical features and treatment by accelerated fractionation. *Cancer* 1985 : 56 : 1 - 9.
- 24-Comis RL.** DTIC (NSC-45388) in malignant melanoma : a perspective. *Cancer Treat Rep* 1976 : 64 : 1123.

- 25-Cooper JS, Kopf AW, Bart RS.** Present role and factor prospects for radiotherapy in the management of melanoma. *J Dermatol Surg Oncol* 1979 : 5 : 134 - 9.
- 26-Deehan DJ, Heys SD, Simpson WG, et al.** In vivo cytokine production and recombinant interleukin-2 immunotherapy : an insight into the possible mechanisms underlying clinical responses. *Br J Cancer* 1994 : 69 : 1130 - 5.
- 27-Dictionary of cytokines.** Horst Ibelgauf. 1995
- 28-Doll DC.** Vascular toxicity associated with antineoplastic agents. *J Clin Oncol* 1986 : 4 : 1405 - 17.
- 29-Donnarieix K, Dusserre A.** Dosimétrie des faisceaux de photons de haute énergie. In : Mazon J.J, Locoche J., Maugis A : Techniques d'irradiation des cancers, Paris : VIGOT. 1993 : 71-91.
- 30-Engelhard V.** La présentation des antigènes. *Pour la Science* 1994 : 204 : 88 - 97.
- 31-Falkson CI, Falkson G, Falkson HC.** Improved results with the addition of interferon alfa-2b to dacarbazine in the treatment of patients with metastatic malignant melanoma. *J Clin Oncol* 1991 : 9 : 1403 - 8.
- 32-Falkson CI, Ibrahim J, Kirkwood J, et al.** A randomized phase III trial of dacarbazine (DTIC) versus DTIC + interferon alfa-2b (rIFN) versus DTIC + Tamoxifen (TMX) versus DTIC + rIFN + TMX in metastatic malignant melanoma. An ECOG Trial. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1996 : 15 : 435 (abstr).
- 33-Ferri W, Agarwala SS, Kirkwood JM, et al.** Carboplatin with dacarbazine  $\pm$  tamoxifen for malignant melanoma. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1994 : 13 : 394 (abst. 1341).
- 34-Gauci L.** Management of cancer patients receiving interferon alpha 2A. *Int J Cancer* 1987 : 1 : 21 - 30 (suppl).
- 35-Hafstrom L, Jonsson PB, Stromblad LC.** Intra cranial metastasis of malignant melanoma treated by surgery. *Cancer* 1980 : 46 : 2088-90.
- 36-Hilaris BS, Raben M, Chalabrese AS, et al.** Value of radiation therapy for distant metastasis from malignant melanoma. *Cancer* 1963 : 16 : 765 - 73.
- 37-Hill GJ, Krentz ET, Hill HZ.** Dimethyl triazeno imidazole carboxamide and combination therapy for melanoma. IV. Late results after complete response to chemotherapy. *Cancer* 1984 : 53 : 1299.
- 38-Hoerni G, Tubiana M.** Epidémiologie des tumeurs cutanées : mélanomes malins, incidence et mortalité. In : Dubertet L. ed. Cancers cutanés Paris : Flammarion. 1992 : 6 -13.

- 39-Hornsey S.** The relationship between total doses number of fractions and fractions size in the response of malignant melanoma. *Br J Radiol* 1978 : 51 : 905 - 9.
- 40-Jacquillat C, Khayat D, Banzet P, et al.** Final report of the french multicenter phase II study of the nitrosourea fotemustine in 153 evaluable patients with disseminated malignant melanoma including patient with cerebral metastases. *Cancer* 1990 : 66 : 1873 - 8.
- 41-Jacquillat C, Khayat D, Banzet P, et al.** Chemotherapy by fotemustine in cerebral metastases of disseminated malignant melanoma. *Cancer Chemother Pharmacol* 1990 : 25 : 263 - 6.
- 42-Karakousis CP, Moorer, Holyoke ED.** Surgery in recurrent malignant melanoma. *Cancer* 1983 : 52 : 1342-45.
- 43-Katz HR.** The results of different fractionation in the palliative irradiation of metastatic melanoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1981 : 164 : 607 - 10.
- 44-Keilholtz U, Scheibenbogen S, Stoelben E, et al.** Immunotherapy of metastatic melanoma with interferon-alpha and interleukin-2 : pattern of progression in responders and patients with stable disease with or without resection of residual lesions. *Eur J Cancer* 1994 : 30A(7) : 955 - 8.
- 45-Khayat D, Borel C, Benhammouda A, et al.** Active three drugs (fotemustine, dacarbazine, vindesine,) out patient combination in advanced malignant melanoma. *Proc Am Ass Cancer Res* 1992 : 33 ( abst 1366).
- 46-Khayat D, Borel JM, Tourani JM, et al.** Sequential chemoimmunotherapy with cisplatin, interleukin-2, and interferon alpha-2a for metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 1993 : 11 : 2173-80.
- 47-Khayat D, Lokiec F, Bizzari JP, et al.** Phase I clinical study of the new acid-linked nitrosourea S 10036 administered on a weekly schedule. *Cancer Res* 1987 : 47 : 6782.
- 48-Kirkwood J, Resnik G, Cole B.** Efficacy, safety, and risk-benefit analysis of adjuvant interferon alfa-2b in melanoma. *Semin Oncol* 1997 : 24(suppl. 4) : 416 - 23.
- 49-Konefal JB, Emami B, Pilepich MW.** Malignant melanoma analysis of dose fractionation in radiation therapy. *Cancer* 1998 : 61 : 243 - 46.
- 50-Lee SM, Betticher DC, Thatcher N.** Melanoma : chemotherapy. *Br Med Bull* 1995 : 51(3) : 609 - 30.
- 51-Legha S, Papadopoulos N, Plager C, et al.** Clinical evaluation of recombinant interferon alpha 2a (IFN) in metastatic melanoma using two different schedules. *J Clin Oncol* 1987 : 5 : 1240 - 6.

- 52-Legha S.** Interferons in the treatment of malignant melanoma, a review of recent trials. *Cancer* 1986 : 57 : 1675 - 7.
- 53-Legha S.** The role of interferon alpha in the treatment of metastatic melanoma. *Semin Oncol* 1997 : 24(4) : 24 - 31.
- 54-Legha SS, Papadopoulos N, Plager C, et al.** Clinical evaluation of recombinant interferon- $\alpha$ 2A (Roferon-A) in metastatic melanoma using two different schedules. *J Clin Oncol* 1987 : 5 : 1240 - 4.
- 55-Legha SS, Ring S, Papadopoulos N, et al.** A phase II trial of taxol in metastatic melanoma. *Cancer* 1990 : 65 : 2478 - 81.
- 56-Legha SS, Ring S, Papadopoulos N, et al.** A prospective evaluation of a triple-drug regimen containing cisplatin, vinblastin and dacarbazine (CVD) for metastatic melanoma. *Cancer* 1989 : 64 : 2024 - 9.
- 57-Lichtenstein AK, Pende O.** Enhancement of natural killer cytotoxicity by cis-diamine dichloroplatinum in vivo and in vitro. *Cancer Res* 1986 : 46 : 639 - 44.
- 58-Lobo PA, Liebner JL, Jen-Hung J, et al.** Radiotherapy in the management of malignant melanoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1981 : 7 : 21-6.
- 59-Margolin KA, Doroshow JH, Akman SA, et al.** Phase II trial of cisplatin and alpha-interferon in advanced malignant melanoma. *J Clin Oncol* 1992 : 10 : 1574 - 78.
- 60-Maxwell W, Mac Devitt J, Reid I, et al.** Changes in immunological parameters during interleukin-2 and interferon 2alpha treatment of recurrent renal cell carcinoma and malignant melanoma. *Eur J Cancer* 1993 : 19(3) : 265 - 72.
- 61-Mc Clay EF, Mastrangelo MJ, Bellet ME.** Combination chemotherapy and hormonal therapy in the treatment of malignant melanoma. *Cancer Treat Rep* 1987 : 71 : 465 - 9.
- 62-Mc Clay Ef, Mastrangelo MJ, Berd D, et al.** Effective combination chemo hormonal therapy for malignant melanoma : experience with three consecutive trials. *Int J Cancer* 1992 : 50 : 553 - 6.
- 63-Mc Leod GR, David NC, Little JH, et al.** Melanoma in Queensland, Australia : experience in the Queensland Melanoma Project. In : Cutaneous melanoma : clinical management ant treatment results worldwide. Philadelphia : JB Lippincott. 1985 : 379.
- 64-Menegoz F, Black RJ, Arveux P, et al.** Cancer incidence and mortality in France in 1975-1995. A paraître dans *European Journal of Cancer Prevention*.

- 65-Menegoz F, Colona M, Exbrayat C.** Le cancer dans l'Isère. Grenoble : Registre du cancer de l'Isère. 1994.
- 66-Mitchell MS, Kempf RA, Harel W, et al.** Effectiveness and tolerability of low-dose cyclophosphamide and low-dose intravenous interleukin-2 disseminated melanoma. *J Clin Oncol* 1988 : 6 : 409 - 24.
- 67-Morgan DA, Ruscetti FW, Gacco R.** Selective in vitro growth of T lymphocytes from humans bones marrow's. *Science* 1976 : 193 : 1007 - 11.
- 68-Mortimer JE, Chestnut T, Higano CS, et al.** High dose cisplatin in metastatic melanoma. Comparison of two schedules. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1988 : 7 : 254.
- 69-Nerson F.** Evaluation de l'association cisplatine-interleukine II-interféron- $\alpha$  dans le traitement des mélanomes malins cutanés métastatiques. *Thèse*, Faculté de Médecine de Grenoble, 1995.
- 70-Overett TK, Shiu MH.** Surgical treatment of distant metastatic melanoma : indications and results. *Cancer* 1985 : 56(5) : 1222-30.
- 71-Overgaard J, Overgaard M, Vejby Hansen P, et al.** Some factors of importance in the radiation treatment of malignant melanoma. *Radiother Oncol* 1996 : 5 : 183-92.
- 72-Overgaard J.** The role of radiotherapy in recurrent and metastatic malignant melanoma : a clinical radiobiological study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1986 : 12 : 867-72.
- 73-Philip A, Flaherty L.** Treatment of malignant melanoma with interleukine-2. *Sem Oncol* 1997 : 24(suppl. 4) : 32 - 8.
- 74-Puel G.** Les faisceaux d'électrons. In: : Mazon J.J, Locoche J., Maugis A : Techniques d'irradiation des cancers. Paris : Vigot. 1993; 92-9.
- 75-Quesada J, Talpaz M, Rios A, et al.** Clinical toxicity of interferon in cancer patients : a review. *J Clin Oncol* 1986 : 4 : 234 - 43.
- 76-Rate WR, Solin LJ, Torris AT.** Palliative radiotherapy for metastatic malignant melanoma : brain metastasis, bone metastasis, and spinal and compression. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1988 : 15 : 859 - 64.
- 78-Reginald CS .** Medical management of stage IV malignant melanoma. Medical issues. *Cancer* 1995 : 75 : 735-41.
- 79-Reintgen DS, Mc Carty KM, Cox E, et al.** Malignant melanoma in black american and white american population : a comparative review. *JAMA* 1982 : 248 : 1856.

- 80-Rixe O, Benhamoudda A, Antoine E, et al.** Final result of prospective multicenter study on 91 metastatic malignant melanoma (MMM) patients treated by chemo-immunotherapy (CH-IM) with Casplatin interleukin-2 (IL-2) interferon- $\alpha$  (IFN). *Proc Am Soc Clin Oncol* 1994 : 13 : 399 (abstr).
- 81-Rixe O, Borel Ch, Parouso D, et al.** Fotemustine, dacarbazine, vindesine combination chemotherapy in advanced malignant melanoma : a phase I study of 43 patients. *Melanoma Res* 1995 : 5 : 419 - 24.
- 82-Rosenberg SA, Lotze MT, Muul LM, et al.** Observations on the systemic administration of autologous lymphokine activated killer cells and recombinant interleukin-2 to patient with metastatic cancer. *N Engl J Med* 1985 :313 : 1485 - 92.
- 83-Rusthoven J, Quirt I, Iscoe N, et al.** A randomized placebo-controlled trial comparing BCNU (B), dacarbazine (D) and cisplatin (P) versus BDP and high-dose tamoxifen in the treatment of metastatic melanoma. *Thirty-first annual meeting ASCO* 1995 : 14 : 413 (abst. 1309).
- 84-Sacre R, Lejeune FJ.** Patterns of metastases distribution in 173 stage I and III melanoma patients. *Anticancer Res.* 1982 : 2 : 47.
- 85-Satoh M, Seki S, Hashimoto W, et al.** Cytotoxic  $\gamma\delta$  or  $\alpha\beta$  T cells with a Natural Killer cell marker, CD56, induced from human peripheral blood lymphocytes by a combination of IL-12 or IL-2. *Immunol* 1996 : 157 : 3886 - 92.
- 86-Sauze WT, Cooper JS, Rusch S, et al.** Fraction size in external beam radiation therapy in the treatment of melanoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991 : 20 : 429-32.
- 87-Semb KA, Aamdial S, Bohmann T, et al.** Phase II study of fotemustine (F), cisplatin (CDDP) and tamoxifen (TAM) in metastatic malignant melanoma. 3rd international Conference on Melanoma, Venise. 1993.
- 88-Smith MJ, Mouawad R, Vuillemin E.** Psychological side effects induced by interleukin-2/alpha interferon treatment. *Psycho-Oncology* 1994 : 3(1) : 289 - 98.
- 89-Solal-Celigny Ph.** Concept d'intensité de dose : intérêts et limites des méthodes d'évaluation. In : Intensifications thérapeutiques et facteurs temps. Les éditions de l'Ecole Européenne d'Oncologie (expression française) 1995 :23 - 24.
- 90-Soubrane CL, Mouawad R, Ichen M, et al.** Follow-up of soluble IL-2 receptor level in metastatic malignant melanoma patients treated by chemo-immunotherapy. *Clin Exp Immunol* 1994 : 95 : 232 - 6.

- 91-Strauss A, Dritschild A, Nathanobn L, et al.** Radiation therapy of malignant melanomas, an evaluation of clinically used fractionation schemes. *Cancer* 1981 : 47 : 1262 - 66.
- 92-Tanigushi T, Matsui H, Fujita T, et al.** Structure and expression of a cloned cDNA for human interleukin-2. *Nature* 1983 : 302 : 305 - 10.
- 93-Tartour E, Blay JY, Dorval T, et al.** Predictors of Clinical Response to Interleukin-2. Based Immunotherapy in Melanoma Patients. : A French multi-institutional study. *J Clin Oncol* 1996 : 14 : 1697 - 1703.
- 94-Tartour E, Dorval T, Lee DS, et al.** L'immunothérapie dans le traitement des cancers. *La Presse Med* 1996 : 25 : 1717 - 22.
- 95-Tatour E, Dorval T, Mosseri V, et al.** Serum interleukin-6 and c-reactive protein levels correlate with resistance to IL-2 therapy and poor survival in melanoma patients. *Br J Cancer* 1994 : 69: 911 -3.
- 96-Thomson DB, Adena M, McLeod Gr, et al.** Interferon alpha 2a does not improve response or survival when combined with dacarbazine in metastatic malignant melanoma : results of a multi-institutional Australian randomized trial. *Melanoma Res* 1993 : 3 : 133 - 38.
- 97-Tyring SK.** Anti tumors actions of interferons. Direct, indirect and synergy with other treatment modalities. *Int J Dermatol* 1987 : 26 : 549 - 56.
- 98-Tyson LB, Clark RA, Gralla RJ, et al.** High-dose metoclopramide : control of dacarbazine induced emesis in a preliminary trial. *Cancer Treat Rep* 1982 : 66 : 2108.
- 99-Van Der Bruggen P, Traversari P, Chomez C, et al.** A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science* 1991 : 254 : 1643 - 7.
- 100-Waage A, Halstensen A, Espevik T.** Association between tumor necrosis factor in severe and fatal out come in patients with meningococcal disease. *Lancet* 1987 : 1 : 355.
- 101-Wasserman TH, Slavik M, Carter SK.** Review of CCNU in clinical cancer therapy. *Cancer Treat Rep* 1974 : 1 : 131 - 8.
- 102-Wornom IL, Song SJ, Urist MM, et al.** Surgery as palliative treatment for distant metastases of melanoma. *Ann Surg* 1986 : 204(2) : 181-5.



**ANNEXES**

## Annexe I : Classification TNM (AJCC 1992).

<b>Tumeur Primitive</b>		
pTx		Tumeur primitive non classable
pT0		Tumeur primitive non retrouvée
pTis		Tumeur in situ (Clark I)
PTT		Tumeur < 0.75 mm d'épaisseur, envahissant le derme papillaire (Clark II)
pT2		Tumeur de 0.76 à 1.5 mm d'épaisseur, envahissant la jonction dermo-réticulaire (Clark III)
pT3		Tumeur de 1.51 à 4 mm d'épaisseur envahissant le derme réticulaire (Clark IV)
	pT3a	- Tumeur de 1.51 à 3 mm d'épaisseur
	pT3b	- Tumeur de 3.01 à 4 mm d'épaisseur
pT4		Tumeur de plus de 4 mm d'épaisseur envahissant le tissu sous-cutané ou nodules de perméation à plus de 2 cm de la tumeur primitive
	pT4a	- Tumeur de plus de 4 mm d'épaisseur envahissant le tissu sous-cutané
	pT4b	- Nodule de perméation à plus de 2 cm de la tumeur primitive
<b>Adénopathies loco-régionales</b>		
Nx		Adénopathies non classables
N0		Absence d'adénopathies
N1		Adénopathie de diamètre < 3 cm
N2		Adénopathie de diamètre > 3 cm
	N2a	- Adénopathies loco-régionales > 3 cm de diamètre
	N2b	- Adénopathies à distance
	N2c	- N2a + N2b
<b>Métastases</b>		
Mx		Métastases non classables
M0		Absence de métastases
M1		Présence de métastases
	M1a	- Métastases cutanées, sous-cutanées et lymphatiques en aval de la tumeur primitive
	M1b	- Métastases viscérales

**Annexe II : Les 6 stades cliniques adoptés par l'AJCC.**

IA	: pT1 N0 M0 *
IB	: pT2 N0 M0*
IIA	: pT3 N0 M0*
IIB	: pT4 N0 M0*
III	: tout pT N1 M0
IV	: tout pT N2 M0
	tout pT tout N M1

\* Quand il existe une discordance entre l'épaisseur selon Breslow et le niveau d'invasion de Clark, l'épaisseur prévaut (KETCHAM AS, BALCH CM classification and staging system. In : BALCH CM, MILTON GW, eds. Cutaneous melanoma : clinical management and treatment result world wide. Philadelphia : JB Lippincott, 1985:55.)

## Annexe III : Suggestion de classification d'après BUZAID et al.

<b>Tumeur Primitive (T)</b>		Tumeur primitive non évaluable
Tx		Tumeur primitive inconnue
T0		Mélanome in situ non invasif
Tis		Tumeur dont l'épaisseur est < 1 mm
T1		
	<i>T1a</i>	- Pas d'ulcération
	<i>T1b</i>	- Présence d'une ulcération
T2		Tumeur dont l'épaisseur est comprise entre 1 et 2 mm
	<i>T2a</i>	- Pas d'ulcération
	<i>T2b</i>	- Présence d'une ulcération
T3		Tumeur dont l'épaisseur est comprise entre 2 et 4 mm
	<i>T3a</i>	- Pas d'ulcération
	<i>T3b</i>	- Présence d'une ulcération
T4		Tumeur de plus de 4 mm d'épaisseur
	<i>T4a</i>	- Pas d'ulcération
	<i>T4b</i>	- Présence d'une ulcération
<b>Adénopathies loco-régionales (N)</b>		Envahissement ganglionnaire clinique
cNx		Envahissement ganglionnaire anatomopathologique
pN0		Adénopathie non évaluable
Nx		Pas d'adénopathie (précisée "C" ou "P")
N0		Une seule adénopathie envahie
N1		Nombre d'adénopathies compris entre 2 et 4
N2		Plus de 4 adénopathies ou présence d'une extension extraganglionnaire ou adénopathies bilatérales
N3		de lésions médianes
<b>Métastases cutanées/sous-cutanées (S)</b>		
Sx		Paramètre non évaluable
S0		Pas de métastase cutanées sous-cutanées régionales
eS+		Atteinte cutanée (sous-cutanée clinique)
pS+		Atteinte cutanée (sous-cutanée anatomopathologique)
<b>Métastases à distance (M)</b>		
MX		Métastases non évaluables
M0		Pas de métastase à distance
M1		Présence de métastases à distance
	<i>M1a</i>	- Métastases cutanées (sous-cutanées/ganglionnaires à distance)
	<i>M1b</i>	- Métastases viscérales

## Annexe IV : Stades cliniques d'après BUZAID et al.

Stade	Groupe	Définition Clinique (cS)	Définition Pathologique (PS)	Survie à 5 ans %
I	Ia	T1a cN0 M0	T1a pN0 M0	> 95
	Ib	T1b ou T2a cN0 M0	T1b ou T2a pN0 M0	80 - 95
II	IIa	T2b ou T3a cN0 M0	T2b ou T3a pN0 M0	70 - 80
	IIb	T3b ou T4a cN0 M0	T3b ou T4a pN0 M0	50 - 70
III	IIIa	T4b cN0 M0	tout T pN1 pS0 M0 tout T pN0 pS+* M0	30 - 50
	IIIb	tout T cN+ tout SM0 tout T tout cN cS+ M0	tout T pN2-3 tout S M0 tout T pN+ pS+ M0	10 - 30
IV	IVa	tout T tout CN tout cS M1a	tout T tout N tous S M1a	5 - 10
	IVb	tout T tout CN tout cS M1a	tout T tout N tous S M1b	< 5

\* Les patients avec des métastases en transit ou des lésions satellites de la tête et du cou et du tronc (tout T, pN0, pS+, M0) doivent être classés en stade IIIa.

**Annexe V : Evaluation de l'état de performance selon l'OMS (1979).**

- 0 :**    Activité normale
  
- 1 :**    Réduction des efforts physiques intenses
  
- 2 :**    Alitement inférieur à 50 % des heures de veille
  
- 3 :**    Alitement supérieur à 50 % des heures de veille
  
- 4 :**    Incapacité totale, alitement constant

## Annexe VI: Cotation suivant l'OMS des effets toxiques aigus et subaigus.

GRADE	0	I	II	III	IV
Hémoglobine	> 11.0 g/100 ml > 6.8 mmol/l	9.5-10.9g/100ml 5.6-6.7 mol/l	8.0-9.4g/100ml 4.95-5.8 mol/l	6.5-7.9g/100ml 4.0-4.9 mol/l	<6.5 g/100 ml <4.0 mol/l
Leucocytes (1 000/mm <sup>3</sup> )	> 4.0	3.0 - 3.9	2.0 - 2.9	1.0 - 1.9	< 1.0
Poly. Neutrophiles (1000/mm <sup>3</sup> )	> 2.0	1.5 - 1.9	1.0 - 1.4	0.5 - 0.9	< 0.5
Plaquettes (1 000/mm <sup>3</sup> )	> 100	75 - 99	50 - 74	25 - 49	< 25
Hémorragie	Absence	Pétéchies	Modérée	Moyenne	Importante
Bilirubine	< 1.25 x N	1.26-2.5 x N	2.6 - 5 x N	5.1 10 x N	> 10 x N
Transaminases	< 1.25 x N	1.26-2.5 x N	2.6 - 5 x N	5.1 10 x N	> 10 x N
Phosphatases alcaline	< 1.25 x N	1.26-2.5 x N	2.6 - 5 x N	5.1 10 x N	> 10 x N
Muqueuse buccale	sans changement	Douleur	Erythème	Ulcération alimentation liquide seulement	Alimentation impossible
Nausée Vomissement	Absence	Nausée	Vomissement transitoire	Vomissement nécessitant traitement antiémétique	Vomissement incoercibles
Diarrhée	Absence	Transitoire < 2 jours	Tolérable > 2 jours	Intolérable demandant traitement	Hémorragique Déshydratation
Urémie ou Créatininémie	< 1.25 x N	1.26-2.5 x N	2.6 - 5 x N	5 - 10 x N	> 10 x N
Protéinurie	Sans changement	1 + < 0.3 g < 3 g/l	2 + 0.3 - 1.0 g 3 10 g/l	4 + > 1.0 g > 10 g/l	Syndrome néphrotique
Hématurie	Sans changement	Microscopique	Macroscopique	Macroscopique + caillots	Anurie
Pulmonaire	Sans changement	Léger symptôme	Dyspnée d'effort	Dyspnée de repos	Repos au lit complet
Fèvre	Absente	< 38° C	38° C - 40° C	> 40° C	Fèvre avec hypotension
Réaction allergique	Sans changement	Oedème	Bronchospasme n'appelant réanimation pas	Bronchospasme appelant réanimation	Choc anaphylactique
Cutanée	Sans changement	Erythème	Desquamation Vésicules Prurit	Suintement Desquamation Ulcération	Dermatite exfoliative Nécrose appelant exérèse
Effet alopeciant	Sans changement	Perte de cheveux	Alopecie modérée par plaques	Alopecie complète mais réversible	Alopecie complète mais irréversible
Infection	Absente	Mineure	Modérée	Majeure	Choc infectieux
Rythme cardiaque	Sans changement	Tachycardie sinusale au repos	Extrasystole ventriculaire	Multifocale P	Tachycardie ventriculaire
Fonction cardiaque	Sans changement	Asymptomatique mais avec des anomalies	Symptômes passagers n'appelant pas traitement	symptôme répondant au traitement	Symptôme répondant pas au traitement
Péricardite	Sans changement	Épanchement symptomatique	Symptomatique pas d'indication de ponction	Tamponnade indication de ponction	Tamponnade indication de chirurgie
Etat de vigilance	Vigile	Assouplissements	Somnolence <50% des heures d'éveil	Somnolence >50% des heures d'éveil	Coma
Neurotoxicité périphérique	Absence	Paresthésies et /ou diminution des réflexes tendineux	Paresthésies et /ou faiblesse modérée	Paresthésies intolérables et/ ou diminution importante de la force motrice	Paralyse
Constipation (b)	Absence	Légère	Modérée	Météorisme abdominal	Météorisme et vomissements
Douleurs (c)	Absence	Légère	Modérée	Sévère	Intolérable
Pression artérielle PS : Pression systolique	Inchangée	Diminution <20 mmHg de la PS ou sudation profuse sensation de fête vide ; pas de traitement nécessaire	Diminution >20 - < 30 mmHg de la PS, symptôme orthostatique, augmentation du pouls >15 en position debout; pas de traitement nécessaire	Diminution >30 <40 60 mmHg de la PS ou hypotension nécessitant administration de fluides	Diminution >40 <60 mmHg de la PS ou hypotension nécessitant des vasopresseurs ou l'administration de fluides IV pendant plus de 4 heures
Prise de poids (Oedème)		Prise de poids >5%, mais <10%	Œdèmes périphériques, prise de poids >10% - <15%	Épanchement pleural ou ascite asymptomatiques prise de poids >15% - <20%	Épanchements symptomatiques prise de poids > 20 %
Asthénie IK : Indice de Karnofsky	IK inchangé	Diminution de l'IK de 10 %	Diminution de l'IK de 20 %	Diminution de l'IK de 30 %	Diminution de l'IK de 40 % ou plus

**Annexe VII** : Données chiffrées de l'expression lymphocytaire de différents antigènes en cours de traitement, en valeur absolue.

Variations des CD 56 chez les R				
Jour	1	15	40	50
Bre RP	0,21	0,5		0,14
Cha RP	0,12	0,44	0,66	0,44
Cuv RP	0,39		1,31	
Mal RP	0,77			
Mat RC	0,46	0,2	0,3	0,45
Per RP			0,91	0,81
Ler STAB	0,14	0,34	1,01	
Gro STAB	0,15	0,04	0,17	
Arm STAB	0,53	0,72		1,24
Bui STAB	0,21	0,53	0,77	0,6
Cha RP<50	0,08	0,56	0,07	0,17
Fox RC	0,15	1,78	0,06	0,7
Laz RP	0,65	0,51		0,18
Mas RP	0,24	0,42	0,53	0,34
Mol RP	0,26	0,36	0,12	0,45
<b>Moyenne</b>	<b>0,31</b>	<b>0,53</b>	<b>0,54</b>	<b>0,50</b>

Variations des CD56 chez les NR				
Jour	0	15	40	50
Duc	0,08	0,37	0,63	
Lan	0,48	0,62		
Min	0,24	0,37	0,38	0,37
Per	0,37		1,1	0,65
Via	0,25	0,44	0,68	0,23
Ziz	0,13	1,09	2,23	1,09
Bai	0,26	0,2	0,22	0,37
Sag	0,25	1,17	0,47	
<b>Moyenne =</b>	<b>0,26</b>	<b>0,61</b>	<b>0,82</b>	<b>0,54</b>

Variations des CD3 chez les R				
Jour	0	15	40	50
Bre RP	1,22	1,13		0,67
Cha RP	0,62	0,7	1,17	0,7
Cuv RP	0,78		1,6	
Mal RP	1,76			
Mat RC	0,92	0,43	1,06	0,88
Per RP			1,22	1,27
Ler STAB	0,68	0,9	1,74	
Gro STAB	0,78	0,67	0,63	
Arm STAB	0,8	0,5		0,45
Bui STAB	1,31	2,16	2,71	2,1
Cha RP<50	0,12	0,49	0,11	0,44
Fox RC	0,46	1,54	0,2	0,71
Laz RP	1	1,22		0,68
Mas RP	1,14	0,73	0,88	0,61
Mol RP	0,46	0,77	0,18	1,1
<b>Moyenne</b>	<b>0,86</b>	<b>0,94</b>	<b>1,05</b>	<b>0,87</b>

Variations des CD3 chez les NR				
Jour	0	15	40	50
Duc	0,24	0,33	0,54	
Lan	0,63	0,7		
Min	0,89	1	1,6	0,99
Per	1,64		2,31	2,01
Via	0,66	1,11	1,35	0,84
Ziz	0,6	0,92	1	0,6
Bai	0,66	0,46	0,23	0,84
Sag	0,79	1,6	1,17	
<b>Moyenne =</b>	<b>0,76</b>	<b>0,87</b>	<b>1,17</b>	<b>1,06</b>

Variations des CD4 chez les R				
Jour	0	15	40	50
Bre RP	0,84	0,67		0,45
Cha RP	0,41	0,3	0,72	0,26
Cuv RP	0,35		0,99	
Mal RP	1,08			
Mat RC	0,49	0,31	0,8	0,81

Variations des CD4 chez les NR				
Jour	0	15	40	50
Duc	0,15	0,16	0,26	
Lan	0,5	0,6		
Min	0,57	0,8	1,4	0,76
Per	1,26		1,89	1,68
Via	0,31	0,46	0,63	0,5



Per RP			0,81	0,88
Ler STAB	0,42	0,6	1	
Gro STAB	0,49	0,51	0,39	
Arm STAB	0,4	0,29		0,11
Bui STAB	0,92	1,5	1,71	1,38
Cha RP<50	0,08	0,32	0,07	0,38
Fox RC	0,28	0,8	0,07	0,43
Laz RP	0,63	0,78		0,52
Mas RP	0,77	0,48	0,58	0,43
Mol RP	0,3	0,44	0,09	0,63
<b>Moyenne</b>	<b>0,53</b>	<b>0,58</b>	<b>0,66</b>	<b>0,57</b>

Variations des CD8 chez les R				
Jour	0	15	40	50
Bre RP	0,45	0,66		0,23
Cha RP	0,29	0,6	0,82	0,55
Cuv RP	0,56		1,31	
Mal RP	0,82			
Mat RC	0,42	0,18	0,42	0,29
Per RP			0,75	0,65
Ler STAB	0,33	0,5	0,95	
Gro STAB	0,36	0,13	0,2	
Arm STAB	0,6	0,64		0,94
Bui STAB	0,5	0,89	1,18	0,86
Cha RP<50	0,12	0,24	0,04	0,1
Fox RC	0,22	1,41	0,14	0,55
Laz RP	0,79	0,63		0,19
Mas RP	0,42	0,4	0,43	0,35
Mol RP	0,31	0,43	0,61	0,17
<b>Moyenne</b>	<b>0,44</b>	<b>0,56</b>	<b>0,62</b>	<b>0,44</b>

Ziz	0,39	0,62	0,5	0,36
Bai	0,38	0,29	0,13	0,58
Sag	0,32	0,43	0,44	
<b>Moyenne =</b>	<b>0,49</b>	<b>0,48</b>	<b>0,75</b>	<b>0,78</b>

Variations des CD8 chez les NR				
Jour	0	15	40	50
Duc	0,91	0,37	0,56	
Lan	0,35	0,4		
Min	0,35	0,4	0,5	0,41
Per	0,52		0,89	0,46
Via	0,37	0,67	1,46	0,44
Ziz	0,21	0,76	1,6	0,75
Bai	0,3	0,2	0,16	0,36
Sag	0,49	1,24	0,79	
<b>Moyenne =</b>	<b>0,44</b>	<b>0,58</b>	<b>0,85</b>	<b>0,48</b>

Variation du rapport CD4/CD8 chez les R				
Jour	0	15	40	50
Bre RP	1,88	1,02		1,97
Cha RP	1,42	0,47	0,87	0,47
Cuv RP	0,63		0,87	
Mal RP	1,31			
Mat RC	1,75	1,16	1,92	2,77
Per RP			1,08	1,35
Ler STAB	1,29	1,2	1,2	
Gro STAB	1,38	3,94	1,96	
Arm STAB	0,73	0,45		0,12
Bui STAB	1,83	1,69	1,44	1,6
Cha RP<50	0,71	1,35	1,88	3,92

Variation du rapport CD4/CD8 chez les NR				
Jour	0	15	40	50
Duc	1,03	0,43	0,46	
Lan	1,42	1,54		
Min	1,61	1,87	2,88	1,87
Per	2,43		2,12	3,65
Via	0,85	0,68	0,43	1,13
Ziz	1,92	0,81	0,31	0,48
Bai	1,27	1,45	0,78	1,62
Sag	0,67	0,35	0,55	
<b>Moyenne =</b>	<b>1,40</b>	<b>1,02</b>	<b>1,08</b>	<b>1,75</b>

Fox RC	1,3	0,57	0,48	0,78
Laz RP	0,8	1,24		2,7
Mas RP	1,84	1,21	1,33	1,24
Mol RP	0,95	1,02	0,54	1,02
<b>Moyenne</b>	<b>1,27</b>	<b>1,28</b>	<b>1,23</b>	<b>1,63</b>

Variation du rapport CD19 chez les R				
Jour	0	15	40	50
Bre RP	0,06	0,04		0,02
Cha RP	0,34	0,16	0,28	0,16
Cuv RP	0,18		0,09	
Mal RP	0,4			
Mat RC	0,12	0,04	0,11	0,09
Per RP			0,06	0,1
Ler STAB	0,12	0,13	0,19	
Gro STAB	0,12	0,04	0,1	
Arm STAB	0,37	0,29		0,11
Bui STAB	0,24	0,22	0,17	0,14
Cha RP<50	0,2	0,16	0,07	0,16
Fox RC	0,44	0,23	0,02	0,08
Laz RP	0,1	0,13		0,03
Mas RP	0,24	0,12	0,09	0,12
Mol RP	0,06	0,08	0,03	0,07
<b>Moyenne</b>	<b>0,21</b>	<b>0,12</b>	<b>0,14</b>	<b>0,10</b>

Variation du rapport CD19 chez les NR				
Jour	0	15	40	50
Duc	0,1	0,1	0,07	
Lan	0,21	0,18		
Min	0,08	0,04	0,6	0,04
Per	0,37		0,18	0,08
Via	0,18	0,11	0,13	0,06
Ziz	0,07	0,18	0,06	0,09
Bai	0,06	0,05	0,04	0,1
Sag	0,19	0,13	0,15	
<b>Moyenne =</b>	<b>0,16</b>	<b>0,11</b>	<b>0,18</b>	<b>0,07</b>

Variation du CD25 chez les R				
Jour	0	15	40	50
Bre RP	0,67	0,52		0,28
Cha RP	0,18	0,44	0,51	0,44
Cuv RP	0,46		0,7	
Mal RP	0,48			
Mat RC	0,7	0,28	0,21	0,73
Per RP			0,69	0,71
Ler STAB	0,37	0,3	0,68	
Gro STAB	0,12	0,22	0,27	
Arm STAB	1,23	0,39		0,38
Bui STAB	0,01	0,53	1,11	0,63
Cha RP<50	0,05	0,18	0,04	0,28
Fox RC	0,11	0,3	0,02	0,72
Laz RP	0,65	0,44		0,35
Mas RP	0,05	0,18	0,01	0,17
Mol RP	0,18	0,14	0,03	0,45

Variation du CD25 chez les NR				
Jour	0	15	40	50
Duc	0,09	0,17	0,45	
Lan	0,27	0,64		
Min	0,24	0,72	1,25	0,72
Per	0,82		1,32	1,17
Via	0,27	0,59	0,46	0,36
Ziz	0,19	0,55		0,24
Bai	0,41	0,09	0,04	0,22
Sag	0,15	0,08	0,2	
<b>Moyenne =</b>	<b>0,31</b>	<b>0,41</b>	<b>0,62</b>	<b>0,54</b>

<b>Moyenne</b>	<b>0,38</b>	<b>0,33</b>	<b>0,39</b>	<b>0,47</b>
----------------	-------------	-------------	-------------	-------------

Variation des CD3CD8 chez les R				
Jour	0	15	40	50
Bre RP	0,39	0,57		0,2
Cha RP	0,24	0,29	0,62	0,29
Cuv RP	0,32		0,55	
Mal RP	0,59			
Mat RC	0,19	0,1	0,24	0,16
Per RP			0,45	0,36
Ler STAB	0,31	0,31	0,63	
Gro STAB	0,21	0,12	0,13	
Arm STAB	0,37	0,192		0,19
Bui STAB	0,42	0,75	0,87	0,66
Cha RP<50	0,02	0,08	0,03	0,07
Fox RC	0,17	0,77	0,11	0,27
Laz RP	0,01	0,4		0,13
Mas RP	0,34	0,26	0,26	0,21
Mol RP	0,21	0,35	0,01	0,48
<b>Moyenne</b>	<b>0,27</b>	<b>0,35</b>	<b>0,35</b>	<b>0,27</b>

Variation des CD3CD8 chez les NR				
Jour	0	15	40	50
Duc	0,12	0,2	0,26	
Lan	0,11	0,1		
Min	0,26	0,27	0,34	0,27
Per	0,35		0,36	0,15
Via	0,32	0,51	0,57	0,34
Ziz	0,17	0,31	0,38	0,26
Bai		0,14	0,12	0,25
Sag	0,46	1,02	0,73	
<b>Moyenne =</b>	<b>0,26</b>	<b>0,36</b>	<b>0,39</b>	<b>0,26</b>

Variation des CD3CD56 chez les R				
Jour	0	15	40	50
Bre RP	0,07	0,04		0,04
Cha RP	0,02	0,08	0,17	0,06
Cuv RP	0,07		0,17	
Mal RP	0,2			
Mat RC	0,1	0,04	0,1	0,11
Per RP			0,16	0,15
Ler STAB	0,06	0,09	0,22	
Gro STAB	0,03	0,02	0,02	
Arm STAB	0,02	0,01		0,02
Bui STAB	0,02	0,19	0,1	0,03
Cha RP<50	0,02	0,02	0,01	0,04
Fox RC	0,03	0,13	0,01	0,05
Laz RP	0,01	0,04		0,05
Mas RP	0,03	0,04	0,03	0,02
Mol RP	0,1	0,14	0,03	0,1
<b>Moyenne</b>	<b>0,06</b>	<b>0,07</b>	<b>0,09</b>	<b>0,06</b>

Variation des CD8CD56 chez les R				
Jour	0	15	40	50

Variation des CD3CD56 chez les NR				
Jour	0	15	40	50
Duc	0,01	0,01	0,02	
Lan	0,03	0,02		
Min	0,07	0,08	0,08	0,08
Per	0,05		0,07	0,03
Via	0,04	0,11	0,04	0,05
Ziz	0,01	0,02	0,16	0,05
Bai	0,04	0,03	0,04	0,07
Sag	0,16	0,3	0,19	
<b>Moyenne =</b>	<b>0,05</b>	<b>0,08</b>	<b>0,09</b>	<b>0,06</b>

Variation des CD8CD56 chez les NR				
Jour	0	15	40	50

Bre RP	0,07	0,14		0,03
Cha RP	0,07	0,24	0,3	0,24
Cuv RP	0,26		0,84	
Mal RP	0,28			
Mat RC	0,2	0,11	0,21	0,08
Per RP			0,4	0,29
Ler STAB	0,09	0,17	0,46	
Gro STAB	0,07	0,02	0,06	
Arm STAB	0,24	0,37		0,9
Bui STAB	0,12	0,25	0,35	0,29
Cha RP<50	0,07	0,18	0,03	0,04
Fox RC	0,04	0,7	0,03	0,29
Laz RP	0,01	0,21		0,09
Mas RP	0,08	0,18	0,17	0,1
Mol RP	0,16	0,23	0,08	0,3
<b>Moyenne</b>	<b>0,13</b>	<b>0,23</b>	<b>0,27</b>	<b>0,24</b>

Duc	0,03	0,13	0,27	
Lan	0,21	0,34		
Min	0,12	0,18	0,18	0,18
Per	0,12		0	0,24
Via	0,07	0,21	0,25	0,05
Ziz	0,04	0,37	0,99	0,58
Bai	0,12	0,07	0,07	0,16
Sag	0,13	0,43	0,22	
<b>Moyenne =</b>	<b>0,11</b>	<b>0,25</b>	<b>0,28</b>	<b>0,24</b>

Variation des CD4CD25 chez les R				
Jour	J0	J 15	J 40	J 50
Bre RP	0,5	0,42		0,23
Cha RP	0,16	0,22	0,38	0,22
Cuv RP	0,12		0,55	
Mal RP	0,26			
Mat RC	0,41	0,11	0,19	0,55
Per RP			0,51	0,5
Ler STAB	0,22	0,26	0,54	
Gro STAB	0,11	0,21	0,12	
Arm STAB	0,44	0,12		0,08
Bui STAB	0,07	0,42	0,77	0,52
Cha RP<50	0,04	0,17	0,03	0,25
Fox RC	0,09	0,27	0,01	0,21
Laz RP	0,01	0,4		0,33
Mas RP	0,05	0,17	0,01	0,17
Mol RP	0,13	0,07	0,01	0,33
<b>Moyenne</b>	<b>0,19</b>	<b>0,24</b>	<b>0,28</b>	<b>0,31</b>

Variation des CD4CD25 chez les NR				
Jour	0	15	40	50
Duc	0,05	0,06	0,16	
Lan	0,15	0,4		
Min	0,18	0,48	1,01	0,47
Per	0,55		1,17	1,08
Via	0,1	0,32	0,27	0,26
Ziz	0,15	0,29	0,19	0,15
Bai	0,2	0,05	0,02	0,2
Sag	0,12	0,08	0,08	
<b>Moyenne =</b>	<b>0,19</b>	<b>0,24</b>	<b>0,41</b>	<b>0,43</b>

## Annexes VIII : Données chiffrées des taux sériques des cytokines, en ng/l, en cours de traitement.

Variations du TNF chez les R				
Jour	1	17	40	50
Bre RP		10	5	
Cuv RP	5	5		5
Pro STAB	5	5	5	5
Mal RP		20	5	
Mat RC	5	230	200	
Per RP		30	5	40
Ler STAB	50	80		35
Gro STAB		5	350	
Arm STAB	5		5	50
Bui STAB	5	80	5	30
Chap RP<50		30	65	140
Fox RC	55	80	260	150
MolRP	65	40	5	5
<b>Moyenne</b>	<b>24</b>	<b>51</b>	<b>83</b>	<b>51</b>

Variations du TNF chez les NR				
Jour	1	17	40	50
Duc	5	5	5	5
Lan		5	5	
Min	5	5	5	
Per	5		20	5
Ziz	5		15	5
Bai	5	5	5	
Sag	20	15	15	
<b>Moyenne</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>10</b>	<b>5</b>

Variations de l'IL1a chez les R				
Jour	1	17	40	50
Bre RP		5	5	
Cuv RP	5	5		5
Pro STAB	5	5	5	5
Mal RP				
Mat RC	5	5	5	
Per RP		5	5	5
Ler STAB	5	5		5
Gro STAB		5	60	
Arm STAB	5		5	5
Bui STAB	5	5	5	5
Cha RP<50		15	10	10
Fox RC	5	5	5	5
MolRP	5	10	5	5
<b>Moyenne</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>11</b>	<b>6</b>

Variations de l'IL1a chez les NR				
Jour	1	17,6	40,2	50
Duc	5	5	5	5
Lan				
Min	5	5	5	
Per	5		5	5
Ziz	5		5	5
Bai	5	5	5	
Sag	5	5	5	
<b>Moyenne</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>

Variations de l'IL1b chez les R				
Jour	1	17	40	50
Bre RP		5	5	
ChatRP		5		5

Variations de l'IL1b chez les NR				
Jour	1	17	40	50
Duc	5	5	5	5
Lan			360	350
				135

Cuv RP	5	5		5
Pro STAB	5	5	5	5
Mal RP		5	5	
Mat RC	5	5	5	
Per RP		5	5	5
Ler STAB	5	5		15
Gro STAB		5	5	
Arm STAB	5		5	5
Bui STAB	5	5	5	5
Cha RP<50		10	5	5
Fox RC	5	5	5	5
MolRP	5	15	5	5
<b>Moyenne</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>6</b>

Min	5	5	5	
Per	15		10	5
Ziz	5		5	5
Bai	20	20	15	
Sag	5	5	5	
<b>Moyenne</b>	<b>9</b>	<b>79</b>	<b>56</b>	<b>38</b>

Variations de l'IL6 chez les R

Jour	1	17	40	50
Bre RP	470	120	65	5
Cuv RP	5	5		5
Pro STAB	20	15	5	5
Mal RP		5	5	
Mat RC	5	5	5	
Per RP		5	5	5
Ler STAB	40	50	45	5
Gro STAB				
Arm STAB	5		5	5
Bui STAB	20	130	5	14
Cha RP<50	15	15	19	14
Fox RC	110	19	19	14
MolRP	55	5	14	14
<b>Moyenne</b>	<b>75</b>	<b>34</b>	<b>17</b>	<b>9</b>

Variations de l'IL6 chez les NR

Jour	1	17	40	50
Duc	35	5	5	5
Lan		5	5	5
Min	5	15	30	
Per	15		25	95
Ziz	5		10	5
Bai	5	15	5	
Sag	46	75	78	
<b>Moyenne</b>	<b>19</b>	<b>23</b>	<b>23</b>	<b>28</b>

**Annexe IX : Etude de la cytotoxicité par relargage de  $^{51}\text{Cr}$ .**

Milieu utilisé : RPMI 10 % SVF

**-Préparation des cellules cibles****\* Lymphocytes B malins :**

- Les décongeler le jour du test.
- Les laver avant le marquage (400 g, t°ambiante, 10 min).

**\* Lymphocytes B malins stimulés par le PMA :**

- Les décongeler la veille du test pour les stimuler 18 h par le PMA.
- Les laver avant le marquage (400 g, t°ambiante, 10 min).

**\* K562 :**

- Les diluer au 1/2 la veille du test.
- Les laver avant le marquage (400 g, t°ambiante, 10 min).

**-Marquage des cellules au  $^{51}\text{Cr}$** 

Rappel :  $a = a_0 e^{-kT}$

Pour le  $^{51}\text{Cr}$ , 1/2 vie = 28 jours

$$k = 0.02475$$

Prélever dans le flacon source de  $^{51}\text{Cr}$  le volume de chrome nécessaire pour réaliser les marquages :

- pour les cellules : 25mCi pour 106 cellules
- pour des cellules activées (PMA 18 heures ou PHA 6 jours) 50mCi pour 106 cellules
- pour des cellules décongelées : 100mCi pour 106 cellules

Ajouter le  $^{51}\text{Cr}$  dans les tubes contenant les cellules. Agiter et laisser incuber 1 heure, à 37°C (dans l'étuve, les tubes sont conservés dans un conteneur en plomb). Agiter trois fois les cellules au cours du marquage.

Laver les cellules trois fois (400 g, t°ambiante, 10 min).

Numérer les cellules vivantes sur une grille de Malassez, en bleu Trypan, et ajuster leur concentration à 50 000 ou 100 000 c/ml (selon que l'on veut mettre 5 000 ou 10 000 cellules par puits).

**-Préparation des cellules effectrices :**

Laver les cellules une fois (400 g, t°ambiante, 10 min), et numérer les cellules vivantes sur une grille de Malassez, en bleu Trypan.

Ajuster leur concentration de façon à ce que ces cellules effectrices soient 50 fois plus concentrées que les cellules cibles ( $2.5$  ou  $5.10^6$  c/ml) rapport 50/1.

Réaliser une gamme de dilution pour obtenir d'autres rapports (25/1, 10/1...).

**-Test de cytotoxicité**

Dans des plaques 96 puits à fond V, répartir tout d'abord les cellules effectrices, trois puits de chaque concentration pour chaque cible.

Dans chaque puits ajouter les cellules cibles marquées au  $^{51}\text{Cr}$ .

Prévoir 12 puits supplémentaires avec seulement des cellules cibles. Dans 6 de ces puits, compléter à 200ml avec 100ml de milieu complet SR : relargage spontané. Les 6 autres puits sont complétés avec 100ml de milieu complet 1 % saponine MR : relargage maximum.

Centrifuger les plaques 3 min à 150 tours/min.

Incuber 4 heures à 37°C, 5 % CO<sub>2</sub>.

Centrifuger 5 min à 400 g.

Récupérer 100ml de surnageant à l'aide d'une pipette multi-canaux équipée avec trois cônes par triplicates, en commençant par le SR, puis les rapport E/C du moins concentré à 50/1 et enfin le MR. Ces 100ml de surnageant sont transférés dans des tubes micronic 1 ml, eux même déposés ensuite dans des tubes de 5 ml. Compter la radioactivité que ces tubes contiennent.



**Annexe IX : Légendes des tableaux.**

<b>Tableau I</b>	:Epidémiologie du mélanome en France.
<b>Tableau II</b>	:Facteurs de risque de développement d'un mélanome.
<b>Tableau III.</b>	:Sites métastatiques du mélanome.
<b>Tableau IV</b>	:Taux de réponse à l'irradiation des métastases osseuses des mélanomes.
<b>Tableau V</b>	:Efficacité des antitumoraux.
<b>Tableau VI</b>	:Activité du cisplatine.
<b>Tableau VII</b>	:Comparaison en taux de réponse des patients sous DTIC-CDDP-FTMU.
<b>Tableau VIII</b>	:Associations à base de dacarbazine.
<b>Tableau IX</b>	:Résultats de la chimiothérapie à haute dose avec autogreffe de moelle osseuse.
<b>Tableau X</b>	:Essais randomisés comparant DTIC seul à l'association DTIC+ IFN- $\alpha$ .
<b>Tableau XI</b>	:Résultats de la chimio-immunothérapie.
<b>Tableau XII</b>	:Résultats du traitement.
<b>Tableau XIII</b>	:Dose Intensité Relative du premier cycle d'induction.
<b>Tableau XIV</b>	: Durée de réponse et traitement d'entretien.
<b>Tableau XV</b>	:Résultats de l'association FTMU + DTIC en fonction du type de réponse obtenue avec notre traitement.
<b>Tableau XVI</b>	:Description des 3 patients longs survivants.
<b>Tableau XVII</b>	:Toxicité globale.
<b>Tableau XVIII</b>	:Toxicité des patients porteurs de métastases cérébrales.
<b>Tableau XIX</b>	:Moyenne des taux sériques de TNF- $\alpha$ en ng/l en cours de traitement.
<b>Tableau XX</b>	:Moyenne des taux sériques de IL-6 en ng/l en cours de traitement.

## Annexe XI : Légendes des figures.

- Figure 1** : Distribution de la population par tranche d'âge.
- Figure 2** : Distribution par tranche d'âge et par sexe.
- Figure 3** : Evaluation de l'état général.
- Figure 4** : Localisation anatomique de la tumeur selon le sexe.
- Figure 5** : Niveaux d'invasion de Clark.
- Figure 6** : Indices de Breslow.
- Figure 7** : Localisation anatomique des métastases.
- Figure 8** : Nombre de sites métastatiques.
- Figure 9** : Evaluation de la réponse clinique globale.
- Figure 10** : Evaluation de la réponse clinique en fonction de l'état général.
- Figure 11** : Evaluation de la réponse clinique en fonction du nombre de sites métastatiques.
- Figure 12** : Evaluation de la réponse clinique en fonction de la localisation métastatique.
- Figure 12bis** : Détail des réponses cliniques en fonction de la localisation métastatique.
- Figure 13** : Réponse clinique selon la présence ou non de métastases hépatiques.
- Figure 14** : Courbe de survie de l'ensemble de la population.
- Figure 15** : Courbes de survie selon le type de réponse clinique.
- Figure 16** : Courbe de survie selon le nombre de sites métastatiques.
- Figure 17** : Courbes de survie selon la présence ou non de métastases cérébrales.
- Figure 18** : Courbes de survie selon la présence ou non de métastases hépatiques.
- Figure 19** : Courbes de survie selon l'état général.
- Figure 20** : Expression du CD19 chez les répondeurs.
- Figure 21** : Expression du CD19 chez les non répondeurs.
- Figure 22** : Expression conjointe des CD4 et CD25 chez les répondeurs.
- Figure 23** : Expression conjointe des CD4 et CD25 chez les non répondeurs.
- Figure 24** : Expression du CD3 chez les répondeurs.
- Figure 25** : Expression du CD3 chez les non répondeurs.
- Figure 26** : Expression du CD8 chez les répondeurs.
- Figure 27** : Expression du CD8 chez les non répondeurs.
- Figure 28** : Expression du CD56 chez les répondeurs.
- Figure 29** : Expression du CD56 chez les non répondeurs.
- Figure 30** : Expression conjointe des CD3 et CD8 chez les répondeurs.
- Figure 31** : Expression conjointe des CD3 et CD8 chez les non répondeurs.
- Figure 32** : Expression conjointe des CD3 et CD56 chez les répondeurs.
- Figure 33** : Expression conjointe des CD3 et CD56 chez les non répondeurs.
- Figure 34** : Expression conjointe des CD8 et CD56 chez les répondeurs.
- Figure 35** : Expression conjointe des CD8 et CD56 chez les non répondeurs.

- Figure 36** : Variations des taux sériques, en ng/l, du TNF- $\alpha$  chez les répondeurs.
- Figure 37** : Variations des taux sériques, en ng/l, du TNF- $\alpha$  chez les non répondeurs.
- Figure 38** : Variations des taux sériques, en ng/l, de l'IL-6 chez les répondeurs.
- Figure 39** : Variations des taux sériques, en ng/l, de l-IL-6 chez les non répondeurs.
- Figure 40** : Variations des taux sériques, en ng/l, de l'IL-1 $\alpha$  chez les répondeurs.
- Figure 41** : Variations des taux sériques, en ng/l, de l'IL-1 $\alpha$  chez les non répondeurs.
- Figure 42** : Variations des taux sériques, en ng/l, de l'IL-1 $\beta$  chez les répondeurs.
- Figure 43** : Variations des taux sériques, en ng/l, de l'IL-1 $\beta$  chez les non répondeurs
- Figure 44** : Pourcentage de lyse en fonction du rapport E/C.
- Figure 45** : Evolution des activités NK, LAK et évolution de l'expression lymphocytaire de l'antigène CD56.

**SOMMAIRE**

**INTRODUCTION.....7****GENERALITES .....9**

I. EPIDEMIOLOGIE.....	10
II. FACTEURS DE RISQUE.....	11
III. CLASSIFICATION CLINIQUE.....	12
IV. LOCALISATIONS METASTATIQUES.....	13

**MODALITES THERAPEUTIQUES .....15**

I. CHIRURGIE.....	16.
II. RADIOTHERAPIE.....	16
2.1 - localisations cutanées, sous-cutanées et ganglionnaires	
2.2 - localisations osseuses	
2.3 - localisations cérébrales	
III. CHIMIOOTHERAPIE.....	19
3.1 - monochimiothérapie	
3.1.1 - dacarbazine	
3.1.2 - fotémustine	
3.1.3 - dérivés du platine	
3.1.4 - famille des nitrouées	
3.1.5 - vinca-alcaloïdes	
3.1.6 - famille des taxanes	
3.1.7 - dibromodulcitol	
3.2 - polychimiothérapie	
3.2.1 - à base de dacarbazine	
3.2.2 - à base de fotémustine	
3.2.3 - à base de cisplatine	
3.2.4 - association du tamoxifène	
3.3 - chimiothérapie à haute dose avec ou sans autogreffe de moelle osseuse	
IV. IMMUNOTHERAPIE.....	28
4.1 - interférons	
4.1.1 - en monothérapie	
4.1.2 - en association à la chimiothérapie	
4.2 - interleukine-2 recombinante	
4.2.1 - rIL-2 seule	
4.2.2 - rIL-2 + LAK	
4.2.3 - rIL-2 + TIL ± cyclophosphamide	
V. ASSOCIATIONS CHIMIO-IMMUNOTHERAPIE.....	32
5.1 - arguments théoriques	
5.2 - arguments cellulaires	
5.3 - arguments précliniques	
5.4 - arguments pharmacodynamiques et pharmacocinétiques	
VI. IMMUNOTHERAPIE SPECIFIQUE.....	35

# PATIENTS ET METHODES

## PATIENTS .....38

### HISTOIRE ANTERIEURE

I. TUMEUR INITIALE.....	38
1.1 - caractéristiques des patients.....	
1.1.1 - âge et sexe.....	
1.1.2 - état général.....	
1.2 - site anatomique.....	
1.3 - niveau d'invasion de Clark.....	
1.4 - indice de Breslow.....	
1.5 - traitement adjuvant après exérèse.....	
II. RECHUTE LOCO-REGIONALE.....	41
2.1 - chimiothérapie adjuvante.....	
2.2 - immunothérapie adjuvante.....	
2.3 - radiothérapie adjuvante.....	

### ASSOCIATION CHIMIO-IMMUNOTHERAPIE CDDP + rIL-2 + IFN- $\alpha$

I. EVOLUTION METASTATIQUE.....	42
1.1 - délai d'apparition depuis le diagnostic.....	
1.2 - sites métastatiques.....	
1.3 - nombre de sites.....	
1.4 - traitement de première intention.....	
1.4.1 - chimiothérapie.....	
1.4.2 - immunothérapie.....	
1.4.3 - chirurgie.....	
II. BILAN PRETHERAPEUTIQUE.....	45
2.1 - clinique.....	
2.2 - radiologique.....	
2.3 - biologique.....	
III. DEROULEMENT DU TRAITEMENT.....	46
3.1 - traitement d'induction.....	
3.2 - traitement d'entretien.....	
IV. SURVEILLANCE DU TRAITEMENT.....	47
4.1 - clinique.....	
4.2 - biologique.....	
4.3 - radiologique.....	
4.4 - gestion des effets secondaires.....	
V. TRAITEMENT DE RATRAPPAGE.....	48
5.1 - chimiothérapie.....	
5.2 - immunothérapie.....	
5.3 - hormonothérapie.....	
5.4 - radiothérapie.....	
5.5 - chirurgie.....	

## METHODES .....50

I. EVALUATION DE LA REPONSE ET DE LA TOXICITE.....	50
II. EVALUATION DE LA SURVIE.....	51
III. TESTS STATISTIQUES.....	51

<b>RESULTATS</b> .....	<b>52</b>
I. REPONSE.....	52
1.1 - globale	
1.2 - selon l'état général	
1.3 - selon le délai IFN- $\alpha$ adjuvant et évolution métastatique	
1.4 - selon l'intensité de dose de traitement reçu	
1.5 - selon l'existence ou non d'un traitement d'entretien	
1.5 - selon le nombre de sites métastatiques	
1.6 - selon la localisation métastatique	
1.5.1 - <i>tout site confondu</i>	
1.5.2 - <i>site cérébral</i>	
1.5.3 - <i>site hépatique</i>	
1.7 - au traitement par fotémustine + dacarbazine avant ou après chimio-immunothérapie	
II. SURVIE.....	62
2.1 - globale	
2.2 - selon le type de réponse	
2.3 - selon le nombre de sites métastatiques	
2.4 - selon la présence ou non de métastases cérébrales	
2.5 - selon la présence ou non de métastases hépatiques	
2.6 - selon l'état général	
III. TOXICITE.....	68
3.1 - globale	
3.2 - chez les patients porteurs de métastases hépatiques	
IV. ANALYSE BIOLOGIQUE.....	72
4.1 - phénotype lymphocytaire	
4.1.1 - <i>antigène CD19</i>	
4.1.2 - <i>antigènes CD4 et CD25</i>	
4.1.3 - <i>antigènes CD3, CD8 et CD56</i>	
4.2 - dosage des cytokines	
4.2.1 - <i>TNF-<math>\alpha</math></i>	
4.2.2 - <i>IL-6</i>	
4.2.3 - <i>IL-1</i>	
4.3 - capacités fonctionnelles des lymphocytes	
 <b>DISCUSSION</b> .....	 <b>91</b>
 <b>CONCLUSION</b> .....	 <b>102</b>
 <b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	 <b>106</b>
 <b>ANNEXES</b> .....	 <b>115</b>

I. CLASSIFICATION TNM (AJCC 1992)

II. LES SIX STADES CLINIQUES ADOPTES PAR L' AJCC

III. CLASSIFICATION D' APRES BUZAID ET AL

IV .STADES CLINIQUES D' APRES BUZAID ET AL

V. EVALUATION DE L' ETAT DE PERFORMANCE SELON L' OMS

VI. COTATION SELON L' OMS DES EFFETS TOXIQUES AIGUS ET SUBAIGUS

VII. DONNEES CHIFFREES DE L'EXPRESSION LYMPHOCYTAIRE DE DIFFERENTS ANTIGENES EN COURS DE TRAITEMENT

VIII. DONNEES CHIFFREES DES TAUX SERIQUES DES CYTOKINES EN COURS DE TRAITEMENT

IX. ETUDE DE LA CYTOTOXICITE PAR RELARGAGE DU <sup>51</sup>.CR

X. LEGENDES DES TABLEAUX

XI. LEGENDES DES FIGURES





Qui diis memorem laudes, repetimque fideles  
 Ingenij dotes, Hippocratisque decus.  
 Democenti auditor Phœbea, ô, Coc propago,  
 Cernis an quis te tradidit artis opes!

## SERMENT D'HIPPOCRATE

*En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'HIPPOCRATE,*

*Je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.*

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

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

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

*Je garderai le respect absolu de la vie humaine.*

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

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

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

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

