



HAL
open science

Le mélanome buccal du chien : étude rétrospective sur 34 cas d'un traitement multimodale par chirurgie, radiothérapie et immunothérapie

Vincent Mariaud

► To cite this version:

Vincent Mariaud. Le mélanome buccal du chien : étude rétrospective sur 34 cas d'un traitement multimodale par chirurgie, radiothérapie et immunothérapie. Médecine vétérinaire et santé animale. 2020. dumas-04797932

HAL Id: dumas-04797932

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04797932v1>

Submitted on 22 Nov 2024

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.

Copyright

Année 2020

**LE MÉLANOME BUCCAL DU CHIEN : ÉTUDE
RÉTROSPECTIVE SUR 34 CAS D'UN TRAITEMENT
MULTIMODAL PAR CHIRURGIE, RADIOTHÉRAPIE ET
IMMUNOTHÉRAPIE**

THÈSE

pour obtenir le diplôme d'État de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE
présentée et soutenue publiquement devant
la Faculté de Médecine de Créteil (UPEC)
le 22 octobre 2020

par

Vincent Gaspard Thimothée MARIAUD

sous la direction de

Mathieu MANASSERO

et avec la participation en tant qu'invité de

Pauline DE-FORNEL-THIBAUD

Président du jury : **M. Philippe LE CORVOISIER** Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL
1^{er} Assesseur : **M. Mathieu MANASSERO** Professeur à l'EnvA
2nd Assesseur : **M. Édouard REYES-GOMEZ** Maître de Conférences à l'EnvA

Liste des membres du corps enseignant



Directeur : Pr Christophe Degueurce

Directeur des formations : Pr Henry Chateau

Directrice de la scolarité et de la vie étudiante : Dr Catherine Colmin

Directeurs honoraires : MM. Les Professeurs C. Pilet, B. Toma, A.-L. Parodi, R. Moraillon, J.-P. Cotard, J.-P. Mialot & M. Gogny

Département d'Élevage et de Pathologie des Équidés et des Carnivores (DEPEC)

Chef du département : Pr Grandjean Dominique - Adjoint : Pr Blot Stéphane

<p>Unité pédagogique d'anesthésie, réanimation, urgences, soins intensifs</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Fernandez Parra Rocio, Maître de conférences associée - Pr Verwaerde Patrick* <p>Unité pédagogique de clinique équine</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Audigé Fabrice - Dr Bertoni Lélia, Maître de conférences - Dr Bourzac Céline, Chargée d'enseignement contractuelle - Dr Coudry Virginie, Praticien hospitalier - Pr Denoix Jean-Marie - Dr Giraudet Aude, Praticien hospitalier - Dr Jacquet Sandrine, Praticien hospitalier - Dr Mespoulhès-Rivière Céline, Praticien hospitalier* - Dr Moiroud Claire, Praticien hospitalier - Dr Tanquerel Ludovic, Chargé d'enseignement contractuel <p>Unité pédagogique de médecine et imagerie médicale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Benchekroun Ghita, Maître de conférences - Pr Blot Stéphane* - Dr Canonne-Guibert Morgane, Maître de conférences - Dr Freiche-Legros Valérie, Praticien hospitalier - Dr Maurey-Guénec Christelle, Maître de conférences 	<p>Unité pédagogique de médecine de l'élevage et du sport</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Cabrera Gonzales Joaquin, Chargé d'enseignement contractuel - Dr Fontbonne Alain, Maître de conférences - Pr Grandjean Dominique* - Dr Hoummady Sara, Chargée d'enseignement contractuelle - Dr Maenhoudt Cindy, Praticien hospitalier - Dr Nudelmann Nicolas, Maître de conférences - Dr Ribeiro dos Santos Natalia, Praticien hospitalier <p>Unité pédagogique de pathologie chirurgicale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Decambon Adeline, Maître de conférences - Pr Fayolle Pascal - Dr Manassero Mathieu, Maître de conférences - Pr Viateau-Duval Véronique* <p>Discipline : cardiologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Chetboul Valérie - Dr Saponaro Vittorio, Praticien hospitalier <p>Discipline : ophtalmologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Chahory Sabine, Maître de conférences <p>Discipline : nouveaux animaux de compagnie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Pignon Charly, Praticien hospitalier - Dr Volait Laetitia, Praticien hospitalier
---	--

Département des Productions Animales et de Santé Publique (DPASP)

Chef du département : Pr Millemann Yves - Adjoint : Pr Dufour Barbara

<p>Unité pédagogique d'hygiène, qualité et sécurité des aliments</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Bolnot François, Maître de conférences - Pr Cartier Vincent - Dr Gauthier Michel, Maître de conférences associé - Dr Mûmet Narjes, Chargée d'enseignement contractuelle <p>Unité pédagogique de maladies réglementées, zoonoses et épidémiologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Crozet Guillaume, Chargé d'enseignement contractuel - Pr Dufour Barbara* - Pr Haddad/Hoang-Xuan Nadia - Dr Rivière Julie, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de pathologie des animaux de production</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Adjou Karim - Dr Belbis Guillaume, Maître de conférences* - Dr Delsart Maxime, Maître de conférences associé - Pr Millemann Yves - Dr Plassard Vincent, Praticien hospitalier - Dr Ravary-Plumioën Béangère, Maître de conférences 	<p>Unité pédagogique de reproduction animale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Constant Fabienne, Maître de conférences* - Dr Denis Marine, Chargée d'enseignement contractuelle - Dr Desbois Christophe, Maître de conférences (rattaché au DEPEC) - Dr Mauffré Vincent, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de zootechnie, économie rurale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Arné Pascal, Maître de conférences - Dr Barassin Isabelle, Maître de conférences - Pr Bossé Philippe* - Dr De Paula Reis Alline, Maître de conférences - Pr Grimard-Ballif Bénédicte - Pr Ponter Andrew <p>Rattachée DPASP</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Wolgust Valérie, Praticien hospitalier
--	---

Département des Sciences Biologiques et Pharmaceutiques (DSBP)

Chef du département : Pr Desquilbet Loïc - Adjoint : Pr Pilot-Storck Fanny

<p>Unité pédagogique d'anatomie des animaux domestiques</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Boissady Emilie, Chargée d'enseignement contractuelle - Pr Chateau Henry - Pr Crevier-Denoix Nathalie - Pr Robert Céline* <p>Unité pédagogique de bactériologie, immunologie, virologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Boulouis Henri-Jean - Pr Eloit Marc - Dr Lagrée Anne-Claire, Maître de conférences - Pr Le Poder Sophie - Dr Le Roux Delphine, Maître de conférences* <p>Unité pédagogique de biochimie, biologie clinique</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Bellier Sylvain* - Dr Deshuillers Pierre, Maître de conférences - Dr Lagrange Isabelle, Praticien hospitalier <p>Unité pédagogique d'histologie, anatomie pathologique</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Cordonnier-Lefort Nathalie, Maître de conférences - Pr Fontaine Jean-Jacques - Dr Laloy Eve, Maître de conférences - Dr Reyes-Gomez Edouard, Maître de conférences* <p>Unité pédagogique de management, communication, outils scientifiques</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme Conan Muriel, Professeur certifié (Anglais) - Pr Desquilbet Loïc, (Biostatistique, Epidémiologie) - Dr Legrand Chantal, Maître de conférences associée - Dr Marignac Geneviève, Maître de conférences* - Dr Rose Hélène, Maître de conférences associée 	<p>Unité de parasitologie, maladies parasitaires, dermatologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Blaga Radu, Maître de conférences (rattaché au DPASP) - Dr Briand Amaury, Assistant d'Enseignement et de Recherche Contractuel (rattaché au DEPEC) - Dr Cochet-Faivre Noëlle, Praticien hospitalier (rattaché au DEPEC) - Pr Guillot Jacques* - Dr Polack Bruno, Maître de conférences - Dr Risco-Castillo Veronica, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de pharmacie et toxicologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Kohlhauer Matthias, Maître de conférences - Dr Perrot Sébastien, Maître de conférences* - Pr Tissier Renaud <p>Unité pédagogique de physiologie, éthologie, génétique</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Chevallier Lucie, Maître de conférences (Génétique) - Dr Crépeaux Guillemette, Maître de conférences (Physiologie, Pharmacologie) - Pr Gilbert Caroline (Ethologie) - Pr Pilot-Storck Fanny (Physiologie, Pharmacologie) - Pr Tiret Laurent (Physiologie, Pharmacologie)* - Dr Titeux Emmanuelle (Ethologie), Praticien hospitalier <p>Discipline : éducation physique et sportive</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. Philips Pascal, Professeur certifié
--	---

* responsable d'unité pédagogique

Professeurs émérites : Pr Combrisson Hélène, Pr Enriquez Brigitte, Pr Panthier Jean-Jacques, Pr Paragon Bernard.

Remerciements

Au Président du Jury de cette thèse, Professeur à la Faculté de Médecine de Créteil,
Pour avoir accepté de présider ma soutenance de thèse,
Hommages respectueux

À M. Manassero, Professeur à l'EnvA,
Pour m'avoir fait l'honneur de bien vouloir superviser ce travail,
Pour son accessibilité, ses conseils, sa patience et sa disponibilité,
Ma profonde gratitude et mes très sincères remerciements

À M. Reyes-Gomez, Maître de conférences à l'EnvA,
Pour ses conseils avisés dans la réalisation de ce travail,
Pour sa grande pédagogie et sa précision,
Pour m'avoir fait l'honneur de d'accepter d'être mon assesseur,
Mes très sincères remerciements

À Mme De Fornel, co-fondatrice du centre de cancérologie vétérinaire MICEN VET,
Sans qui ce travail n'aurait pas vu le jour,
Pour son accompagnement et sa bienveillance depuis plusieurs années,
Mes très sincères remerciements

A Mme Canonne-Guibert, Maître de conférences à l'EnvA,
Pour m'avoir fait l'honneur d'assister à ma soutenance,
Pour m'avoir fait apprécier la médecine interne dans son ensemble,
Mes très sincères remerciements

Table des matières

Table des matières	1
Liste des figures	2
Liste des tableaux	4
Introduction	7
PREMIÈRE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LE MÉLANOME BUCCAL DU CHIEN	9
1. ÉTIOLOGIE ET PHYSIOPATHOLOGIE DES MÉLANOMES	11
1.1 <i>Etiologie et pathogénie des mélanomes</i>	11
1.2 <i>Localisation, aspect macroscopique et comportement biologique</i>	17
2. ASPECTS ÉPIDÉMIOLOGIQUES, CLINIQUES ET LÉSIONNELS	20
2.1 <i>Épidémiologie et signalement : facteur de risque</i>	20
2.2 <i>Etude clinique et spécificités</i>	21
3. MÉTHODES DIAGNOSTIQUES	23
3.1 <i>Nature de la tumeur</i>	23
3.2 <i>Bilan d'extension</i>	26
4. PRINCIPES DE PRISE EN CHARGE THÉRAPEUTIQUE CONVENTIONNELLE	34
4.1 <i>Traitement chirurgical</i>	34
4.2 <i>La radiothérapie</i>	42
4.3 <i>La chimiothérapie</i>	52
5. PRONOSTIC	55
5.1 <i>Indicateurs pronostiques précoces associés à la tumeur</i>	55
5.2 <i>Pronostics associés aux différents traitements</i>	57
6. IMMUNOTHÉRAPIE	62
6.1 <i>Mécanismes d'immunosuppression tumorale</i>	62
6.2 <i>Stratégies thérapeutiques</i>	63
DEUXIÈME PARTIE : ÉTUDE RÉTROSPECTIVE DU TRAITEMENT ASSOCIANT CHIRURGIE, RADIOTHÉRAPIE ET IMMUNOTHÉRAPIE SUR 34 CAS DE MÉLANOMES BUCCAUX DE CHIENS	67
1. MATÉRIEL ET MÉTHODES	68
1.1 <i>Les animaux</i>	68
1.2 <i>Protocoles thérapeutiques</i>	69
1.3 <i>Les données collectées</i>	70
2. RÉSULTATS	74
2.1 <i>Résultats généraux</i>	74
2.2 <i>Suivi des animaux</i>	79
TROISIÈME PARTIE : DISCUSSION	113
CONCLUSION	121
Liste des références bibliographiques	123

Liste des figures

Figure 1 : Mélanome buccal achromique située sur le palais dur en regard de PM4 et M1 à droite	18
Figure 2 : Mandibulectomie segmentaire rostrale unilatérale	37
Figure 3 : Fistule oro-nasale suite à une maxillectomie	42
Figure 4 : Schéma du fonctionnement du vaccin basé sur l'ADN xénogénique codant pour la tyrosinase humaine	66
Figure 5 : Courbe d'estimation de l'apparition des récurrences locales dans notre échantillon.....	81
Figure 6 : Comparaison du délai d'apparition des récurrences locales en fonction de la taille de la tumeur primaire	82
Figure 7 : Comparaison du délai d'apparition des récurrences locales selon le stade clinique	83
Figure 8 : Comparaison du délai d'apparition des récurrences selon la présence d'ostéolyse au scanner	84
Figure 9 : Comparaison du délai d'apparition des récurrences locales selon l'existence d'une chirurgie préalable	86
Figure 10 : Comparaison du délai d'apparition des récurrences locales selon le type de chirurgie effectuée	86
Figure 11 : Comparaison du délai d'apparition de récurrences locales selon le nombre d'injections ..	87
Figure 12 : Comparaison du délai d'apparition de récurrences locales selon le délai entre la chirurgie et la radiothérapie.....	87
Figure 13 : Courbe d'estimation d'apparition des métastases dans notre échantillon	89
Figure 14 : Courbe de survie globale de 34 chiens présentant un mélanome buccal traité par un association chirurgie radiothérapie immunothérapie au centre MICEN VET	91
Figure 15 : comparaison des courbes de survie des femelles et des mâles.....	92
Figure 16 : Comparaison des courbes de survie en fonction du poids	93
Figure 17 : Comparaison des courbes de survie en fonction de l'âge en début de protocole des animaux de notre étude.....	94
Figure 18 : Comparaison des courbes de survie selon la présence d'une maladie intercurrente ...	95
Figure 19 : Comparaison des courbes de survie selon la position de la tumeur primaire dans la cavité buccale	96

Figure 20 : Comparaison des courbes de survie selon le caractère pigmenté des tumeurs primaires	97
Figure 21 : Comparaison des courbes de survie en fonction du nombre de mitoses par champ au fort grossissement	98
Figure 22 : Comparaison des courbes de survie selon l'infiltration métastatique loco régionale au moment du diagnostic	99
Figure 23 : Comparaison des courbes de survie selon la présence d'ostéolyse au scanner	100
Figure 24 : Comparaison des courbes de survie en fonction du stade clinique initial.....	101
Figure 25 : Comparaison des courbes de survie en fonction de la taille de la tumeur initiale	102
Figure 26 : Comparaison des courbes de survie des animaux ayant eu des marges saines et des animaux ayant eu des marges infiltrées après leur exérèse chirurgicale	103
Figure 27 : Comparaison des courbes de survie selon le type de chirurgie réalisé	104
Figure 28 : Comparaison des courbes de survie selon le délai entre la chirurgie et la radiothérapie	106
Figure 29 : Comparaison des courbes de survie selon le délai entre la radiothérapie et la première injection vaccinale	106
Figure 30 : Comparaison des courbes de survie en fonction du délai entre la chirurgie et le protocole de vaccination.....	107
Figure 31 : Comparaison des courbes de survie en fonction du nombre d'injections réalisées	108
Figure 32 : Comparaison des courbes de survie selon l'existence de plus d'une chirurgie avant le protocole de radiothérapie.....	109
Figure 33 : Comparaison des courbes de survie selon l'apparition d'une récurrence locale ou pas..	110
Figure 34 : Comparaison des courbes de survie selon le suivi de rappel de vaccination	111

Liste des tableaux

Tableau 1 : Répartition des mélanomes buccaux chez le chien.....	18
Tableau 2 : Sites de métastases secondaires du mélanome buccal du chien.....	20
Tableau 3 : Principales manifestations cliniques d'une tumeur buccal chez le chien	22
Tableau 4 : Classement TNM des tumeurs buccales chez le chien	31
Tableau 5 : Les stades cliniques des tumeurs buccales chez le chien.....	32
Tableau 6 : Classification alternative des mélanomes buccaux du chien.....	33
Tableau 7 : Stades cliniques alternatifs pour le mélanome buccal.....	33
Tableau 8 : Techniques de Mandibulectomie chez le chien.....	36
Tableau 9 : Techniques de Mandibulectomie chez le chien (suite)	37
Tableau 10 : Techniques de Maxillectomie chez le chien	38
Tableau 11 : Techniques de Maxillectomie chez le chien (suite)	39
Tableau 12 : Complications rapportée lors des chirurgies de mandibulectomie.....	40
Tableau 13 : Complications rapportées lors de chirurgies de maxillectomie	41
Tableau 14 : Intérêts et inconvénients du fractionnement et de la durée de traitement de radiothérapie	45
Tableau 15 : Principales indications de la radiothérapie	49
Tableau 16 : Principaux protocoles des radiothérapie utilisés pour le mélanome buccal canin.....	51
Tableau 17 : Principales familles de molécules de chimiothérapie utilisées en médecine vétérinaire	53
Tableau 18 : Facteurs pronostiques du mélanome buccal du chien	57
Tableau 19 : Médianes de survie lors de chirurgies curatives.....	58
Tableau 20 : Mécanismes d'immunosuppression tumorale	63
Tableau 21 : Description de la population.....	74
Tableau 22 : Prévalence des races rencontrées dans l'étude.....	75
Tableau 23 : Affections concomitantes	75
Tableau 24 : Caractéristiques des tumeurs rencontrées et bilans d'extensions	77

Tableau 25 : Effets secondaires rencontrés suite à la radiothérapie	79
Tableau 26 : Effets indésirables rencontrés après les injections vaccinales	80
Tableau 27 : Médiane de temps d'apparition des récurrences locales selon la taille de la tumeur primaire	82
Tableau 28 : Médiane de temps d'apparition des récurrences locales selon le stade clinique	83
Tableau 29 : Résultats du test du Logrank et délai médian d'apparition des de récurrences selon la présence ou non d'ostéolyse au scanner	84
Tableau 30 : Résultats du test du Logrank et temps médian avant l'apparition de récurrences selon différents paramètres	85
Tableau 31 : Répartition anatomique des différentes métastases détectées	88
Tableau 32 : Causes des euthanasies.....	90
Tableau 33 : Résultats du test du Logrank et valeurs de temps et taux de survie en fonction du sexe des animaux de notre étude.....	92
Tableau 34 : Résultats du test du Logrank et valeurs de temps et taux de survie en fonction du poids des animaux de notre étude.....	93
Tableau 35 : Résultats du test du Logrank et valeurs de temps et taux de survie en fonction de l'âge des animaux au début du protocole	94
Tableau 36 : Résultats du test du Logrank et taux de survie selon la présence ou l'absence d'une maladie intercurrente.....	95
Tableau 37 : Résultats du test du Logrank selon la localisation de la tumeur primaire dans la cavité buccale.....	96
Tableau 38 : Résultats du test du Logrank selon la pigmentation de la tumeur primaire.....	97
Tableau 39 : Résultats du test du Logrank et taux de survie selon le nombre de mitose par champ au fort grossissement à l'examen histologique	98
Tableau 40 : Résultats du test du Logrank et taux de survie selon l'infiltration métastatique loco-régionale au moment du diagnostic.....	99
Tableau 41 : Résultats du test du Logrank et taux de survie selon la présence d'ostéolyse à l'examen tomodensitométrie.....	100
Tableau 42 : Valeur de temps et temps de survie selon les stades cliniques de l'OMS pour les chiens de notre échantillon.....	101
Tableau 43 : Valeur de temps et temps de survie selon la taille de la tumeur primaire pour les chiens de notre échantillon.....	102
Tableau 44 : Résultats du test du Logrank et valeurs de temps et taux de survie en fonction des marges d'exérèse.....	103

Tableau 45 : Résultats du test du Logrank et taux de survie selon le type d'exérèse réalisée en début de protocole.....	104
Tableau 46 : Résultats du test du Logrank et valeurs de temps et taux de survie selon le délai entre les différentes étapes thérapeutiques.....	105
Tableau 47 : Résultat du test du Logrank et taux de survie selon le nombre d'injections réalisées	107
Tableau 48 : Résultat du test du Logrank et taux de survie selon le nombre de chirurgies réalisées avant la mise en place du protocole de radiothérapie.....	108
Tableau 49 : Résultats du test du Logrank et taux de survie selon l'apparition d'une récurrence locale après le début du protocole	109
Tableau 50 : Résultats du test du Logrank et taux de survie selon le suivi de rappel de vaccination	110

Introduction

Les tumeurs malignes, ou cancer sont des maladies connues et redoutées du grand public de par la fréquence de leurs apparitions, aussi bien chez l'Homme chez ses animaux de compagnie, mais aussi par la morbidité associée. En effet, une étude a placé les cancers en première cause de décès ou d'euthanasie des animaux de compagnie (Bonnett *et al.*, 2005). Parmi les localisations les plus fréquentes de cancer du chien, la cavité buccale arrive en 4^{ème} position (derrière les tumeurs cutanées, mammaires et les lymphomes) et ce, malgré sa prévalence relativement faible (Brønden *et al.*, 2009). Les tumeurs buccales ne représentent ainsi que 6 à 7% des tumeurs chez le chien (Hoyt et Withrow, 1984), et trois types sont principalement rencontrés : le mélanome, le carcinome épidermoïde et le fibrosarcome (Todoroff et Brodey, 1979). Cependant, malgré leur prévalence relativement faible, ces tumeurs sont d'importance clinique compte tenu de la morbidité importante se traduisant par une espérance de vie très réduite après le développement de la tumeur (Brodey, 1970).

Cette étude sera consacrée au mélanome buccal, tumeur la plus fréquente de la cavité buccale chez le chien. Les traitements anticancéreux usuellement utilisés ayant relativement peu amélioré le pronostic vital des chiens atteints de mélanome buccal, il convient de se tourner vers un autre traitement adjuvant : l'immunothérapie. En effet, il a été montré dans certaines études que les cellules cancéreuses de mélanome seraient particulièrement aptes à échapper à la réponse immunitaire de leur hôte suggérant ainsi un éventuel intérêt de l'immunothérapie dans une approche thérapeutique multimodale chez les chiens atteints de mélanome buccal (Modiano *et al.*, 1999).

L'objectif de cette étude sera dans un premier temps de faire un état des lieux des connaissances actuelles concernant l'étiologie, le comportement biologique, l'épidémiologie, le diagnostic clinique et le pronostic du mélanome buccal du chien. Il s'agira ensuite de faire une étude rétrospective des cas de mélanome buccal chez le chien traité par immunothérapie associé à une chirurgie et une radiothérapie au centre MICEN VET, 58 rue Auguste Perret 94000 Créteil.

**PREMIÈRE PARTIE : REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE SUR LE MÉLANOME
BUCCAL DU CHIEN**

1. ÉTIOLOGIE ET PHYSIOPATHOLOGIE DES MÉLANOMES

Le mélanome est une tumeur maligne qui dérive des mélanocytes, cellules du système pigmentaire. Les mélanocytes sont des cellules dendritiques qui dérivent elles-mêmes des mélanoblastes, issues de l'ectoderme et ayant migré lors du développement embryonnaire pour se répartir dans le derme, l'épiderme et dans d'autres tissus (la stria vascularis de l'oreille interne, la cochlée, la choroïde de l'œil) (Dunn *et al.*, 2000).

Histologiquement, les mélanocytes sont ainsi retrouvés au niveau de la lame basale de l'épiderme pour la peau, mais également au niveau de la muqueuse buccale de certains chiens ; et certaines races telles que le Chow-chow, le cocker Spaniel, le Rottweiler par exemple, présentent plus fréquemment des pigmentations buccales.

1.1 Etiologie et pathogénie des mélanomes

Une tumeur est définie comme une prolifération cellulaire excessive et autonome ne résultant pas d'une réponse adaptative et se développant aux dépens de l'organisme. L'altération de l'expression ou du fonctionnement de certains gènes ou protéines impliqués dans le contrôle du cycle cellulaire ou dans l'apoptose semble donc être d'une grande importance dans la cancérogenèse et en particulier pour les mélanomes (Modiano *et al.*, 1999).

La cancérisation des cellules passe par plusieurs étapes : L'initiation, la promotion et la progression (Withrow et MacEwen, 2013). De nombreuses modifications du fonctionnement cellulaire des mélanocytes ont été mis en évidence dans les cellules de mélanomes humains, mais seulement un faible nombre ont pu être extrapolés au mélanome canin, et encore un plus petit nombre au mélanome buccal.

1.1.1 Mécanismes d'initiation

L'initiation résulte d'une exposition à un agent dit carcinogène (chimique, physique, viral...) pouvant résulter à la mutation de certains gènes susceptibles de conduire à la transformation tumorale de celle-ci.

Une cellule initiée est donc une cellule dont l'ADN a été transformé définitivement, et qui le transmettra à ces cellules filles. Cependant, cette cellule initiée ne possède pas encore d'autonomie de croissance.

Dans le cas du mélanome et en particulier du mélanome buccal du chien, l'initiation passe par la mutation de certains proto-oncogènes et de gènes suppresseurs de tumeurs.

Les rayons ultra-violet (A et B) ont été identifiés comme étant des facteurs de risque dans le développement des mélanomes cutanés humains. En effet ils seraient responsables de 65% des tumeurs cutanées chez l'homme ou chez la chèvre Angora (Smith *et al.*, 2002). Cependant, aucun lien n'a été établi entre l'exposition aux rayonnements ultraviolets et la prévalence du mélanome buccal du chien. De plus, cette zone étant peu propice à l'exposition solaire, il paraît peu probable que les rayons UV soient un facteur de risque important.

1.1.1.1 Mutation des proto-oncogènes

Les proto-oncogènes sont des gènes à l'origine de protéines cellulaires jouant un rôle dans la régulation de la croissance et de la différenciation cellulaire (Sulaimon et Kitchell, 2003). Lorsqu'ils sont mutés, les protéines anormales très semblables aux protéines normales vont échapper aux mécanismes de régulation. Ces protéines sont appelées oncoprotéines, et leur présence dans les cellules mutées vont conduire à leur prolifération anormale (Modiano *et al.*, 1999). Plusieurs types de proto-oncogènes peuvent être mutés lors de la cancérisation d'une cellule :

- Récepteurs aux facteurs de croissance. Les récepteurs aux facteurs de croissance sont habituellement formés de trois domaines (extracellulaire, transmembranaire et intracellulaire), ils sont sensibles à la fixation d'un ligand pour être stimulé et provoquer une cascade enzymatique cytoplasmique. Les récepteurs modifiés voient leur domaine extracellulaire tronqué et ne nécessitent plus de fixation de ligand pour s'activer. Dans le cas du mélanome canin, la surexpression de *c-erbB-2* a pu être associée au potentiel métastatique des cellules de mélanomes canin après transplantation sous-cutané sur des souris nude (Smith *et al.*, 2002). Une autre étude a également remarqué cette surexpression dans une lignée cellulaire de mélanome canin (Modiano *et al.*, 1999).
- Protéines nucléaires de régulation : ces protéines stimulent l'expression des gènes nécessaires à la division cellulaire. Ainsi, le gène *c-myc* intervient dans l'acquisition de croissance, caractéristique d'une population tumorale. La surexpression de *c-myc* procure ainsi à la cellule tumorale une résistance aux signaux inhibiteurs de croissance de TGF- β . Deux études ont pu associer le potentiel métastatiques des cellules de mélanomes canins avec la surexpression du gène *c-myc* (Modiano *et al.*, 1999 ; Cullen *et al.*, 2002).
- Protéines impliquées dans la transduction intracellulaire du signal : il s'agit de protéines kinases, parmi lesquelles on trouve des protéines cytosoliques ou membranaires. Ainsi, la famille des protéines Ras relaient des signaux mitotiques depuis la membrane vers le cytosol et le noyau. Leur mutation peut provoquer une activation en permanence, de

laquelle découle une transduction constante des signaux, menant à terme à une prolifération continue des cellules tumorales mutées. L'oncogène *N-ras* est souvent impliqué dans les mélanome humains avec deux sites préférentiels : les codons 12 et 13 de l'exon 1, ainsi que le codon 61 de l'exon 2 (Richter *et al.*, 2005). Les gènes *ras* semblent peu impliqués dans le développement des mélanomes, même si le nombre de cas étudié reste faible. La mutation du proto-oncogène *N-ras* a été mis en évidence chez deux chiens atteints de mélanomes cutanés. La mutation concernait le codon 61 de l'exon 2, exon de séquence identique chez le chien et chez l'homme. Cet exon semble donc être un site critique pour le développement du mélanome canin (Modiano *et al.*, 1999 ; Richter *et al.*, 2005).

- Les cyclines : ce sont des protéines permettant une régulation précise des transitions entre les différentes phases du cycle cellulaire. Elles activent des CDK (cycline dependant kinases), ces dernières permettront le passage d'une phase de cycle cellulaire à une autre. Une altération des protéines CDK provoque une mauvaise régulation du cycle cellulaire (Cullen *et al.*, 2002). Deux études rapportent l'existence de mutations des gènes codant pour les CDK (CDK-4 et CDK-8) (Modiano *et al.*, 1999 ; Chudnovsky *et al.*, 2005).

1.1.1.2 Mutation des gènes suppresseurs de tumeurs

Parmi les anti-oncogènes, p53 est une protéine nucléaire particulièrement importante. Elle permet une réparation de l'ADN lorsque ce dernier est endommagé. Sa concentration nucléaire augmente alors brusquement et la cellule est bloqué dans une phase du cycle cellulaire en attendant que l'ADN soit réparé, ou bien elle rentre en apoptose. Bien qu'une altération de p53 soit observée dans un très grand nombre de cancer chez l'homme, elle semble bien conservée dans les mélanomes canins (Roels *et al.*, 2001). Une autre étude a posé l'hypothèse que l'anomalie ne relevait pas de la protéine elle-même mais dans le transport nucléaire de p53, en effet, il est fréquent dans leur étude que p53 soit exclue du noyau (Koenig *et al.*, 2002).

La protéine Rb est un autre exemple de gène suppresseur de tumeur. Elle a pour fonction le contrôle de la transition de la phase G1 à S. Son état non-phosphorylé dans une cellule au repos permet la séquestration par complexation de facteurs de transcription. Au contraire, son état phosphorylé dans une cellule stimulée permet une libération de ces facteurs et lance la transcription (Cullen *et al.*, 2002). Il a été mis en évidence une perte d'expression de Rb dans une lignée cellulaire de mélanomes canins (CML-6MC2) ainsi qu'une exclusion de cette protéine du noyau (Modiano *et al.*, 1999 ; Koenig *et al.*, 2002). En revanche, ces mêmes études ne montrent pas de mutation du gènes *Rb-1*.

Ainsi, à l'heure actuelle, deux types de marqueurs de cancérisation ont pu être observés dans les cellules cancéreuses de mélanome chez le chien :

- Les proto-oncogènes (*c-erbB-2*, *c-myc*, *N-ras*, CDK-4 et CDK-8), plusieurs études ont pu montrer leur surexpression ou leur mutation directe dans des cellules de mélanomes canins.
- Les gènes suppresseurs de tumeurs, dont les protéines qui en sont issues ont soit vu leur expression diminuée (CML-6MC2) ou leur répartition cellulaire anormale (p53).

Dans les deux cas, ils représentent des facteurs potentiels d'initiation à la transformation tumorale d'un mélanocyte.

1.1.2 La promotion

Les cellules initiées expriment encore un phénotype normal mais deviennent plus sensibles à certains facteurs comme les facteurs hormonaux, l'inflammation chronique ou encore les facteurs de croissance.

Ces agents ne vont pas entraîner de modification du génome cellulaire, mais vont initier des mécanismes enzymatiques qui vont modifier l'expression de l'information génétique, et peuvent provoquer la multiplication clonale de la cellule initiée (Smith *et al.*, 2002).

Concernant le mélanome buccal, il est suspecté que la promotion résulterait d'une hyperplasie de l'épithélium suite à un traumatisme mécanique ou un phénomène inflammatoire chronique. Les interactions normales kératinocytes - mélanocyte seraient alors perturbées, ce qui autoriserait l'amplification des cellules initiées (Smith *et al.*, 2002).

1.1.3 La progression

La progression tumorale correspond à l'expression phénotypique de la malignité. Elle s'accompagne d'une multiplication non contrôlée, d'une instabilité génétique de plus en plus marquée, d'une perte de croissance et de différenciation et de l'acquisition d'un potentiel métastatique. En effet, les nombreuses divisions anarchiques amènent à une accumulation de mutations.

Plusieurs aspects sont caractéristiques de cette phase.

1.1.3.1 Multiplication cellulaire par les facteurs de croissance

Une production accrue de facteurs de croissance paracrines et autocrines peuvent être liés à une prolifération tumorale accrue. Parmi les plus cités du mélanomes, on trouve (Smith *et al.*, 2002) :

- Fibroblast Growth Factor- β (FGF- β)
- Les protéines stimulatrices ou inhibitrices de la croissance du mélanome
- Les interleukines : Il-8, Il-10 et Il-18
- Le platelet-derived growth factor-A (PDGF-A)
- L' α melanocyte stimulating hormone (α -MSH)

1.1.3.2 *Acquisition du potentiel métastatique*

Une invasion locale est très fréquemment observée dans le cas du mélanome. Il y a alors une destruction des tissus sains périphériques, et cette invasion locale peut être suivie d'une dissémination métastatique, aux nœuds lymphatiques, ou à d'autres organes par voie sanguine. Les deux voies de dissémination sont observées dans le cas du mélanome buccal du chien. Certains organes sont plus propices au développement de métastase des mélanomes comme les poumons, le foie, les nœuds lymphatiques, l'encéphale, les os, les glandes surrénales ou encore les reins (Sulaimon et Kitchell, 2003).

Une cellule tumorale embolisée dans la circulation sanguine ou lymphatique va entrer en apoptose en 24 à 48 heures si les voies apoptotiques ne sont pas inactivées (Wong *et al.*, 2001). Ainsi, Sulaimon et Kitchell (2003) ont décrit une surexpression de Bcl-2 et Bcl_{xL}, produits anti-apoptotiques issus du gène *bcl*, dans les mélanomes métastatiques. Cette surexpression confère également une résistance à un grand nombre d'agents de chimiothérapie qui utilisent cette voie.

1.1.3.3 *Modification de l'expression des protéines d'adhésion cellulaire*

Les métastases sont issues d'une cellule unique embolisée dans le courant sanguin ou lymphatique. Cette embolisation nécessite dans un premier temps individualisation des autres cellules de la tumeur, et passe donc par une perte d'adhésion. Une fois le compartiment vasculaire ou lymphatique atteint, la cellule cancéreuse a à nouveau besoin de pouvoir s'ancrer aux tissus pour se développer et former une métastase. Une importante modulation des protéines d'adhésion est donc mise en œuvre pour constituer une métastase. Il a été mis en évidence l'implication de nombreuses molécules d'adhésion cellulaire pour le mélanome humain, mais très peu ont été également décrites chez l'animal. Deux familles ont été plus particulièrement étudiées (Sulaimon et Kitchell, 2003) :

- Dans la famille des cadhérines, l'E-cadhérine est impliquée dans l'ancrage des mélanocytes aux cellules voisines. C'est une molécule Ca^{2+} -dépendante qui s'accroche aux cadhérines des cellules voisines et dont la partie intracellulaire se lie au cytosquelette du mélanocyte. Chez l'homme, des études ont montré un défaut d'expression de l'E-cadhérine à la fois *in vivo* et *in vitro* sur des cellules de mélanome (Meier *et al.*, 1998 ; Hsu *et al.*, 2000).

- Les intégrines sont des molécules qui permettent l'ancrage des cellules à la matrice extracellulaire. Elles permettent aussi une transduction des signaux provenant de l'espace extracellulaire (Sulaimon et Kitchell, 2003). L'intégrine CD44 est un marqueur fortement utilisé en humaine. En effet c'est une glycoprotéine transmembranaire exprimée par une grande variété de types cellulaires, et une surexpression de cette molécule est associée à un comportement agressif d'une tumeur (Guo *et al.*, 1994). Pour ce qui est du mélanome canin, il semble en effet que cette molécule soit surexprimée en périphérie des mélanomes malin, et pourraient ainsi servir de marqueur pronostique (Serra *et al.*, 2004).
- De nombreuses autres molécules d'adhésion ont été décrites sur des lignées de cellules de mélanomes humains mais ne sont pas encore décrite dans d'autres espèces. On trouve notamment la vibronectine, les glycoprotéines MCAM/MUC18, l'épisialine ou les gangliosides (Sulaimon et Kitchell, 2003).

1.1.3.4 Destruction et remodelage de la matrice extracellulaire

Les cellules de mélanomes sont capables de changer de forme et de devenir plus mobiles grâce à une modification de leur cytosquelette, qui passe par une redistribution de la β -caténine intracellulaire (Kim *et al.*, 1998).

De plus, les cellules de mélanome sont capables de modifier la matrice extracellulaire par sécrétion de versicane, un protéoglycane anormal. Ce protéoglycane anormal provoque une désorganisation de la matrice extracellulaire, qui la rend plus hydrophile (et facilite donc la migration cellulaire) et diminue les interactions CD44/hyaluronate, réduisant ainsi l'ancrage des mélanocytes à la matrice extracellulaire. Enfin, il apparaît que la versicane augmente la prolifération des mélanocytes peu différenciés (Serra *et al.*, 2005). Cette production anormale de matrice extracellulaire est décrite sur les mélanomes canins (Sulaimon et Kitchell, 2003).

La production d'enzymes permettant de dégrader la matrice extracellulaire a été décrite sur des cellules de mélanomes humains, mais n'ont pas encore été décrites chez le chien (Sulaimon et Kitchell, 2003).

1.1.3.5 Angiogenèse tumorale

L'angiogenèse tumorale correspond au développement vasculaire au sein de la tumeur. Il est nécessaire pour l'oxygénation des cellules tumorales, mais facilite également l'embolisation des cellules cancéreuses, et donc les métastases. Plusieurs facteurs endocriniens ont été décrit sur des mélanomes humains comme étant surexprimés et favorisant ainsi une néovascularisation tumorale.

Ainsi, VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) est fortement surexprimé dans les métastases de mélanome par rapport à la tumeur primaire, Il-8 ou encore TAF (Tumor Angiogenesis Factor) sont parmi les promoteurs les plus puissants (Sulaimon et Kitchell, 2003). A l'heure actuelle, il n'existe pas de donnée sur les facteurs d'angiogenèse des mélanomes chez le chien.

Enfin, une étude a décrit le développement d'une microcirculation tumorale par mimétisme vasculaire sans recrutement de cellules endothéliales. Ces structures ont été trouvées notamment sur des structures métastatiques (Folberg *et al.*, 2000).

Le mélanome est donc une tumeur maligne issue des mélanocytes qui obtient son potentiel pathogénique principalement par des mécanismes faisant intervenir la régulation du cycle cellulaire. Trois étapes permettent ainsi l'acquisition du potentiel tumoral : **l'initiation** (mutation des gènes pro-oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeurs), **la promotion** et enfin **la progression** qui permet donne à la tumeur son réel potentiel invasif (multiplication cellulaire par sécrétion d'hormones de prolifération cellulaire, obtention du potentiel métastatique, modification des protéines d'adhésion cellulaire, destruction et remodelage de la matrice extracellulaire et angiogenèse). De l'ensemble de ces changements cellulaire vont découler le comportement biologique général des mélanomes buccaux.

1.2 Localisation, aspect macroscopique et comportement biologique

Le mélanome est une tumeur maligne qui dérive des mélanocytes, cellules du système pigmentaire. Les tumeurs bénignes dérivant de ces mêmes cellules sont appelées mélanocytomes (Withrow et MacEwen, 2013).

1.2.1 Localisation dans la cavité buccale

Les principales localisations du mélanome buccal canin varient selon les études (Tableau 1).

D'après ces études, il semble que la principale localisation des mélanomes buccaux canins soit les gencives, puis les lèvres et les joues, et enfin plus rarement le palais et la langue.

Pour ce qui est de la répartition entre les mâchoires supérieurs et inférieurs, les études rapportent principalement une distribution égale, même si une prédisposition de localisation mandibulaire est notée par certaines. (Ramos-Vara *et al.*, 2000).

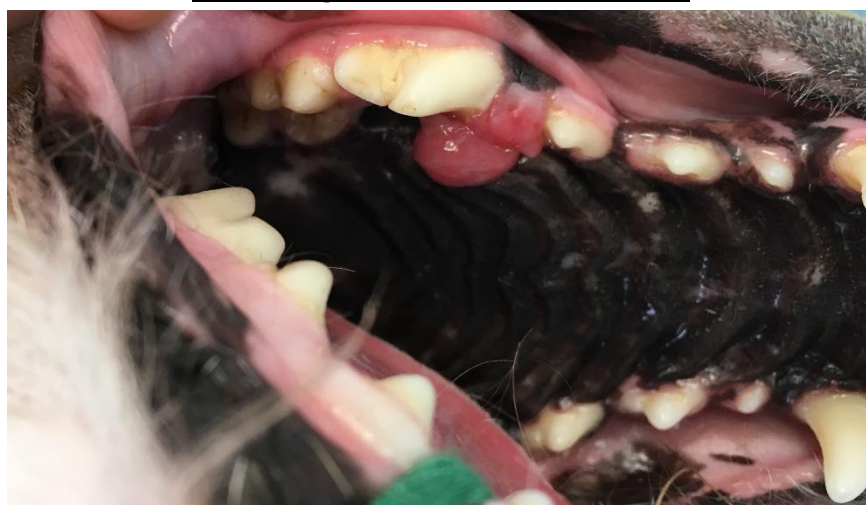
Tableau 1 : Répartition des mélanomes buccaux chez le chien

Localisation	(Ramos-Vara et al., 2000)	(Head et al., 2002)	(Blackwood et Dobson, 1996)	(Todoroff et Brodey, 1979)
Gencives	40,2 %	10-20 %	83 %	55 %
Lèvres	36,4 %	3-12 %	11 %	29 %
Joues	8,4 %			
Langue	6,5 %	1 %	0 %	3 %
Palais	Rare	2-7 %	3 %	11 %
Autre localisation	Oropharynx		3% (oropharynx)	2% (pharynx et amygdales)

1.2.2 Aspect macroscopique

Les mélanomes malin se manifestent usuellement comme des masses uniques, de petites taille, sessiles, dures, mal délimitées, le plus souvent adhérentes aux plans profonds (Ramos-Vara et al., 2000). Elles peuvent apparaître très pigmentées ou achromiques, ce qui rend le diagnostic macroscopique plus délicat. La non pigmentation peut-être parce que la tumeur elle-même n'est pas pigmentée, ou bien elle peut être recouverte d'une muqueuse non pigmentée ou d'un tissu de granulation (Head et al., 2002). Du fait de leur localisation buccale, les frottements sont importants ce qui donne souvent aux mélanomes buccaux un aspect ulcéré voir nécrotique (Ettinger et Feldman, 2010).

Figure 1 : Mélanome buccal achromique située sur le palais dur en regard de PM4 et M1 à droite



1.2.3 Comportement biologique

Les mélanomes buccaux sont considérées comme des tumeurs agressives, invasives et de pronostic sombre (Bostock, 1979 ; Head *et al.*, 2002)

Le mélanome est le cancer buccal le plus fréquent chez le chien, devant le carcinome épidermoïde, le fibrosarcome et l'ostéosarcome (Todoroff et Brodey, 1979 ; Hoyt et Withrow, 1984). De plus, parmi les différentes localisation de mélanome, les mélanomes buccaux représentent jusqu'à 56% des mélanomes chez le chien, ce qui fait de la localisation buccale, la localisation la plus fréquente (Smith *et al.*, 2002). Notons qu'une grande majorité de tumeurs mélanocytaires cutanées sont bénignes chez le chien.

Ce sont des tumeurs rapidement invasives, une lyse osseuse est fréquemment rapportée (de 30 à 57% selon les études) (Todoroff et Brodey, 1979 ; Kosovsky *et al.*, 1991). Une infiltration de l'amygdale ipsilatérale est parfois observée. Les métastases sont également fréquentes et sont souvent détectées aux nœuds lymphatiques loco-régionaux, ainsi qu'aux poumons. Les études rapportent jusqu'à 80% de métastases aux nœuds lymphatiques loco-régionaux (Todoroff et Brodey, 1979), et 14% aux poumons auxquels s'ajoutent 13% de faux négatifs, non visibles en radiographie, découvertes à l'autopsie (en effet cette dernière étude rapporte des métastases d'apparence miliaire, non détectables à la radiographie). Concernant les nœuds lymphatiques loco-régionaux, il est important de noter que seuls les nœuds lymphatiques mandibulaires sont facilement palpables ; les nœuds lymphatiques rétro pharyngiens et parotidiens sont visibles par imagerie tomodensitométrie, mais ne sont palpables que lors d'hypertrophie importante. Une étude basée sur des résultats histologiques met en évidence que 35% des animaux avec une tumeur faciale présentaient des métastases à au moins un des nœuds lymphatiques loco-régionaux, et seulement 54.5% de ces derniers avaient les nœuds lymphatiques mandibulaires infiltrés (Herring *et al.*, 2002). Ces résultats suggèrent qu'il existe une variabilité des voies de métastases lymphatiques et des nœuds lymphatiques potentiellement atteints. D'autres sites de métastases sont possibles avec différentes prévalences (tableau 2).

Certains syndromes paranéoplasiques, tels que l'hypercalcémie peuvent exister dans le cas des mélanomes buccaux (Bergman, 2012) mais restent rares (Withrow et MacEwen, 2013).

Tableau 2 : Sites de métastases secondaires du mélanome buccal du chien

Site métastatique	Prévalence (%) (Todoroff et Brodey, 1979)
Cœur	22.2
Surrénales	18.5
Foie et reins	11.1
Cerveau, yeux, nœuds lymphatiques médiastinaux, pancréas	7.4
Amygdales	5.5
Thyroïde, diaphragme, rate omentum, prostate, muscles squelettiques	3.7
Glandes salivaires, paroi thoracique, estomac, intestin grêle, testicules, squelette appendiculaires	1.9

2. ASPECTS ÉPIDEMIOLOGIQUES, CLINIQUES ET LÉSIONNELS

2.1 Épidémiologie et signalement : facteur de risque

2.1.1 L'âge

Les études montrent que le mélanome buccal touche plus volontiers les chiens âgés, avec une moyenne d'âge de 11 à 12 ans (Dorn et Priester, 1976 ; Hoyt et Withrow, 1984 ; Ramos-Vara *et al.*, 2000).

De plus, un âge avancé a été montré comme étant un facteur de risque important. Une étude menée sur 394 chiens a ainsi montré que le risque de développer une tumeur buccale augmentait avec l'âge. En précisant les résultats, il a été établi que ce risque augmentait significativement plus pour le mélanome que pour le fibrosarcome et le carcinome épidermoïde, les deux autres principales néoplasies de la cavité buccale du chien (Dorn et Priester, 1976).

Le mélanome buccal peut également toucher les animaux jeunes, de moins de 12 mois, mais de manière exceptionnelle. Ainsi, une étude a montré que sur 9522 tumeurs diagnostiquées chez des chiens de moins de 12 mois, seulement 8 étaient des mélanomes buccaux (23 mélanomes ont été diagnostiqués en totalité), soit 0.08% des tumeurs du chien de moins de 12 mois (Schmidt *et al.*, 2010).

2.1.2 Le sexe

Une prédisposition des cancers buccaux a été montrée chez les mâles, avec un ratio de 2.4 mâles pour une femelle, tous cancers buccaux confondus. Pour ce qui est du mélanome buccal, plusieurs études s'accordent pour affirmer que la même tendance existe, avec un ratio de 1.5 à 6 mâles pour une femelle (Hoyt et Withrow, 1984 ; Blackwood et Dobson, 1996 ; Head *et al.*, 2002) même si cela n'est pas retrouvé dans toutes les études (Ramos-Vara *et al.*, 2000).

2.1.3 La race

Il est communément admis que les chiens ayant une muqueuse buccale fortement pigmentée sont prédisposés au développement d'un mélanome buccal (Labrador, cocker, chow-chow, Rottweiler etc..). De plus, d'un point de vue épidémiologique, le mélanome buccal est plus souvent observé chez des races de petits format (sans préciser la limite petit/grand format), avec un ratio 1.8 pour 1 (Hoyt et Withrow, 1984).

La prédisposition de certaines races au mélanome buccal suggère une origine génétique pour cette néoplasie (Modiano *et al.*, 1999).

2.2 Etude clinique et spécificités

2.2.1 Anamnèse et signes d'appel

L'anamnèse est l'ensemble des renseignements fournis par les propriétaires et qui concerne l'apparition de la tumeur. Les signes d'appel recourent l'anamnèse et sont souvent non spécifiques. Les animaux sont souvent présentés pour ptyalisme, dysphagie, saignements dans la bouche, perte de dents, déformation de la face, une masse visible ou encore une fracture mandibulaire (Head *et al.*, 2002). Ils peuvent parfois présenter une dyspnée en cas de localisation plus caudale, et dans les cas les plus avancés, un amaigrissement peut être visible par difficultés à la préhension et mastication des aliments (Magnol *et al.*, 1998). Des atteintes de l'état général sont également possibles en cas de métastases avancées ou de surinfection bactérienne (tableau 3).

2.2.2 Examen clinique

Un examen clinique général complet et approfondi est indispensable, et un examen minutieux de la cavité buccale est nécessaire. Etant donné la localisation qui peut être caudale, une sédation peut être nécessaire pour le confort de l'animal et la sécurité du vétérinaire (Withrow et MacEwen, 2013). On notera qu'il sera important de palper les nœuds lymphatiques loco-régionaux, qui pourra mettre en évidence la présence d'inflammation ou de métastase. L'examen des nœuds lymphatiques loco-régionaux reste incomplet car physiologiquement, seuls les nœuds

lymphatiques mandibulaires sont palpables. De plus, une hypertrophie de ces nœuds lymphatiques n'est pas statistiquement corrélée à la présence de métastases (Williams et Packer, 2003).

Tableau 3 : Principales manifestations cliniques d'une tumeur buccal chez le chien

Signes locaux	Halitose Bruits mandibulaires Gonflement et/ou asymétrie de la face Une sensibilité accrue au niveau de la cavité buccale Saignements Déplacement ou perte de dents Fistules buccales Gonflement nasal Exophtalmie
Troubles fonctionnels	Anorexie Dysphagie Salivation anormale (augmentée, diminuée ou de consistance anormale) Incapacité/difficulté à ouvrir ou à fermer la cavité buccale Fonte des muscles de la face Douleur lors de la mastication
Symptômes généraux	Perte de poids Toux/Dyspnée

(Ettinger et Feldman, 2010)

2.2.3 Diagnostic différentiel

Toute masse buccale chez le chien n'est pas nécessairement ni un mélanome ni une tumeur maligne. Il faudra toujours garder en tête les affections bénignes (épulis, hyperplasie gingivale ou autre) et les différents types tumoraux qui peuvent survenir dans la cavité buccale. Le signalement de l'animal est un point clé dans la hiérarchisation des hypothèses diagnostics, mais l'expertise d'un anatomo-pathologiste reste la référence pour un diagnostic de certitude d'une part de la nature bénigne ou maligne de la lésion et d'autre part de la nature tissulaire précise de la lésion.

Il sera ainsi important de considérer toute affection buccale bénigne (en particulier toute tumeur bénigne), des ulcères buccaux, des hyperplasies gingivales ou encore des réactions inflammatoires exacerbées (Ettinger et Feldman, 2010).

Les autres tumeurs malignes buccales les plus rencontrées chez le chien sont le carcinome épidermoïde, le fibrosarcome et l'ostéosarcome (Magnol *et al.*, 1998).

3. MÉTHODES DIAGNOSTIQUES

Le diagnostic de suspicion du mélanome buccal du chien repose sur le signalement de l'animal, les signes cliniques qui sont rapportés ainsi que l'évolution de la lésion. Il conviendra ensuite de confirmer la nature de la masse observée et d'établir un diagnostic de certitude par un examen cytologique ou histologique. D'autres examens complémentaires seront également utiles afin d'évaluer l'extension locale, régionale et à distance de la tumeur et donc de déterminer son stade ce qui pourra conditionner sa prise en charge ultérieure.

3.1 Nature de la tumeur

Les tumeurs buccales sont par leur localisation des tumeurs fréquemment ulcérées ou nécrotiques. Elles sont en effet sujettes aux mouvements mécaniques de la mandibule et sont exposées à la flore bactérienne buccale. Dans ce contexte, il convient d'être attentifs à la zone prélevée afin d'éviter une erreur diagnostique par faux négatif.

3.1.1 Cytologie

La cytologie est un acte aisé, ne nécessitant pas d'anesthésie ou de sédation ou de matériel spécifique, et peut donc apporter des informations rapidement en clinique et ce de manière pré-opératoire. Ainsi, lors de tumeur buccale, la cytologie permet d'établir un diagnostic chez plus de 95% des animaux (Bonfanti *et al.*, 2015).

Cependant, les informations collectées par la cytologie, bien qu'utiles, ne suffisent souvent pas à caractériser précisément le type de tumeur et notamment ses particularités microscopiques et son grade, l'architecture tissulaire n'étant pas respectée. Ainsi, l'apport de la cytologie restera toujours inférieur à l'histologie (Head *et al.*, 2002). De plus, les mélanomes achromiques vont nécessiter des marqueurs spécifiques afin de ne pas les confondre avec d'autres tumeurs, cet acte n'est pas couramment disponible pour la cytologie. Enfin, l'inflammation locale et la nécrose, fréquemment présentes lors de tumeurs buccales ou encore l'infiltration de cellules immunitaires peut diminuer la force diagnostique du prélèvement cytologique (Johnston et Tobias, 2018).

3.1.2 Histologie

Le diagnostic définitif du mélanome buccal se fait par analyse histopathologique. Par rapport à l'examen cytologique, l'examen histopathologique permet de déterminer précisément la nature de la masse et ses particularités microscopiques et son grade.

3.1.2.1 *Origine du prélèvement histologique*

L'examen histologique peut se réaliser soit en pré-opératoire à l'occasion d'une biopsie, soit en post-opératoire par analyse de la pièce d'exérèse. Dans les deux cas, une anesthésie générale est requise. Quel que soit le type de prélèvement, afin de diminuer le risque de métastases, il sera de plus conseillé d'effectuer les prélèvements par l'intérieur de la cavité buccale, pour ce qui concerne les tumeurs impliquant les lèvres ou les joues et non pas par les faces cutanées. Une bonne technique d'hémostase devra être envisagée, les tumeurs buccales étant souvent fortement vascularisées. Une incision à la lame froide ou au trocart (« biopsiy punch ») est préférable ; l'électrocoagulation est une technique possible, mais ne devant pas dégrader le prélèvement histologique. Elle ne devra donc être utilisée seulement après retrait de l'échantillon au bistouri ou au trocart (Withrow et MacEwen, 2013).

3.1.2.2 *Les types histologiques*

L'histologie permet de mettre en évidence trois types histologiques de mélanomes buccaux (Ramos-Vara *et al.*, 2000) :

- Les tumeurs épithélioïdes : où les cellules polygonales prédominent
- Les tumeurs fusiformes : où les cellules allongées sont les plus nombreuses
- Les tumeurs mixtes épithélioïdes/fusiformes

Les types histologiques de mélanomes buccaux les plus fréquentes varient selon les auteurs, certaines montrent une forme mixte plus fréquente (Head, 1976 ; Ramos-Vara *et al.*, 2000), une autre découvre la forme épithélioïde comme forme majoritaire (Goldschmidt, 1985). Une étude s'est penchée sur la corrélation entre le pronostic et les différentes formes histologiques qui ne sont à priori pas statistiquement liés (Frese, 1978).

Plus rarement, il a été décrit des tumeurs avec de grandes cellules optiquement vides ou des chaînes de cellules polygonales œdémateuses (Ramos-Vara *et al.*, 2000). Dans tous les cas, les métastases associées avaient très souvent un aspect histologique très similaire.

3.1.2.3 *Autres caractéristiques histologiques*

Les mélanomes ont un aspect histologique comparable avec leur comportement biologique agressif. En effet il a été décrit que des nids de cellules tumorales étaient présents dans l'épithélium proche de la tumeur primaire, épithélium d'aspect macroscopiquement sain (Head, 1976)

Les mélanomes sont des tumeurs avec un index mitotique parfois assez élevé, jusqu'à 105 figures de mitoses pour 10 champs au fort grossissement, et une moyenne de 31.4 (Ramos-Vara

et al., 2000). L'activité jonctionnelle n'est pas toujours évaluable due à la taille du prélèvement, mais elle semble absente dans plus de 16% des cas. Enfin, la vascularisation n'a été observée que dans 6.45% des prélèvements (Ramos-Vara *et al.*, 2000).

La pigmentation n'est pas toujours observée, et peut être absente dans un grand nombre de cas (non-pigmentée (32%), faible (24,5%), modérée (24,5%), abondant (24%) d'après Ramos-Vara *et al.*, 2000). La distinction avec les carcinomes et les sarcomes des tissus mous n'est pas toujours aisé, d'autant plus quand la pigmentation ne permet pas de trancher (Smedley *et al.*, 2011), c'est pourquoi l'utilisation de marqueurs immunohistochimiques est à envisager pour conforter l'aspect morphologique des cellules cancéreuses.

3.1.2.4 Les marqueurs immunohistochimiques

Les marqueurs immunohistochimiques ont été testés par plusieurs études afin d'évaluer leur sensibilité et spécificité :

- Melan-A est une protéine issue du gène MART-1. C'est un antigène spécifique des tumeurs mélanocytaires reconnu par les lymphocytes cytotoxiques (Coulie *et al.*, 1994). Il a été montré par plusieurs études qu'elle était un marqueur spécifique et sensible dans les mélanomes humains, mais également pour les mélanomes buccaux du chien (Ramos-Vara *et al.*, 2000 ; Choi et Kusewitt, 2003). Ramos-Vara *et al.*, en 2000 ont montré que 91.5% des mélanomes buccaux du chien étaient fixés par ce marqueur, un très faible nombre d'autres tissus ou tumeurs répondaient également mais présentaient alors un marquage de très faible intensité. De plus, il semblerait que les mélanomes achromiques soient également marqués par cet antigène. En effet une étude a montré que 81.6% des mélanomes achromiques étaient marqués de façon plus ou moins forte par Melan-A (Smedley *et al.*, 2011). En revanche, une autre étude montrait que seulement 50% environ des tumeurs achromiques étaient marqués par Melan-A (Choi et Kusewitt, 2003).
- La protéine S100 est une protéine de liaison du calcium qui peut être retrouvée dans différents types de tissus notamment les tissus nerveux. Plusieurs études ont montré la grande sensibilité du marqueur S100 pour les mélanomes buccaux (Ramos-Vara *et al.*, 2000), ainsi que les mélanomes buccaux achromiques (Choi et Kusewitt, 2003). En revanche, la spécificité n'est pas très bonne. En effet plusieurs autres tissus peuvent être marqués, mais surtout plusieurs autres tumeurs avec notamment les schwannomes, les léiomyosarcomes ou fibrosarcomes, ce qui peut poser problème pour le diagnostic différentiel des mélanomes buccaux achromiques.
- HMB-45 est un marqueur dont les anticorps sont dirigés contre la glycoprotéine gp100, présente sur les pré-mélanosomes fœtaux et sur les néoplasies mélanocytaires. C'est la

marqueur le plus largement utilisé en humaine (Yaziji et Gown, 2003). C'est un marqueur qui est assez sensible et spécifique mais nécessite un traitement particulier. Dans ce cas, la sensibilité est de 88% (Sulaimon *et al.*, 2002), il apparaît dans ce cas assez spécifique du mélanome, avec 15 tumeurs non mélanocytaires négatives sur 16 testées (dont le fibrosarcome et le carcinome épidermoïde qui rentrent dans le diagnostic différentiel).

- PNL-2 est un antigène de nature inconnu, qui marque de façon spécifique (Giudice *et al.*, 2010). Cette étude a cherché à montrer la sensibilité et spécificité de ce marqueur qui restent moyennes, une autre étude évalue la sensibilité à 89.8% et une spécificité à 100% (Smedley *et al.*, 2011).
- MiTF (Microphthalmia Transcription Factor) est un marqueur décrit comme facteur de transcription nucléaire nécessaire au développement embryonnaire et à la survie post-natale des mélanocytes, néanmoins, sa spécificité est fortement controversée (Smedley *et al.*, 2011).
- TRP 1 et 2 (Tyrosinases Related Protein 1 et 2) sont des protéines qui jouent un rôle clef dans la mélanogenèse (Orlow *et al.*, 1993). Les sensibilités de ces facteurs pour les mélanomes achromiques est évaluée à 55.1% et 79.6% respectivement, pour une spécificité à 100% (Smedley *et al.*, 2011).
- La tyrosinase est également une glycoprotéine jouant un rôle primordial dans la mélanogenèse. Son expression semble être augmentée dans des cas de mélanomes cutanés chez l'homme, mais également sur des mélanomes buccaux de chiens. Bien que cette enzyme soit intracellulaire, des modifications dans sa structure peuvent apparaître, et elle peut alors être exprimée par le CMH de type I chez la souris (Catchpole *et al.*, 2002).

Utilisés séparément, ces marqueurs immunohistochimiques ont une spécificité de 100%, mais une sensibilité faible. Un test regroupant plusieurs de ces marqueurs garde donc une spécificité de 100%, et améliore la sensibilité. Ainsi, une étude a cherché à évaluer la sensibilité d'un marquage par les facteurs Melan-A, PNL-2 et TRP 1 et 2 pour des mélanomes buccaux achromiques (Smedley *et al.*, 2011). La sensibilité était de 93.9%.

3.2 Bilan d'extension

Une fois que le diagnostic de mélanome buccal a été établi, il convient de réaliser un bilan d'extension afin d'objectiver le stade clinique du cancer et d'identifier une potentielle invasion locale régionale (infiltration des nœuds lymphatiques mandibulaires, parotidiens et rétro-pharyngiens), et enfin à distance (nœuds lymphatiques distaux, poumons, peau et cerveau principalement). L'objectif de ce bilan d'extension est de décrire au mieux l'invasion de la tumeur, et de proposer aux propriétaires le traitement le plus réaliste possible et d'y associer un pronostic.

3.2.1 Bilan d'extension local

Le bilan d'extension local est indispensable si toute intervention chirurgicale est envisagée, mais également pour évaluer la zone à traiter en cas de radiothérapie. Elle permet à la fois de bien examiner l'aspect de la tumeur, mais également de mettre en évidence la présence éventuelle de lyse osseuse sous-jacente. Ce bilan d'extension local nécessite donc la réalisation d'examens d'imagerie.

3.2.1.1 Examen radiographique

Les examens radiographiques effectués sur des mélanomes buccaux ne sont pas toujours aisés étant donné la superposition des éléments osseux dans cette zone.

Plusieurs incidences seront nécessaires pour contrecarrer les conséquences de la superposition de structures osseuses. De plus, même si 60 à 80% des tumeurs touchant la gencive sont associés à une lyse de l'os sous-jacent à la radiographie, il est considéré que l'examen radiographique sous-estime l'atteinte osseuse et qu'il ne fournit des informations que très parcellaires sur l'atteinte des tissus mous avoisinant la tumeur. (Todoroff et Brodey, 1979 ; Kosovsky *et al.*, 1991 ; Johnston et Tobias, 2018).

Cet examen n'est actuellement plus couramment utilisé et a été supplanté par l'examen tomographique.

3.2.1.2 Examen tomodensitométrie

L'examen tomodensitométrie présente plusieurs avantages quant à la qualité et à la précision des images obtenues. En effet, l'obtention d'une image en trois dimensions ou des coupes croisées des zones d'intérêt limitent les problèmes liés à la superposition des os du crâne. De plus, une différence de contraste est mieux analysée par un scanner que par une radiographie. En effet, une étude montre que la résolution de la radiographie permet de mettre en évidence une différence de densité tissulaire de 5% contre 1% pour le scanner (Sande, 1992). Une autre étude a analysé des radiographies et des images de tomographie venant de mêmes animaux présentant des masses buccales. Les résultats ont montré qu'une lésion osseuse était détectée dans 80.9% des chiens grâce à la radiographie standard, contre 95.2% grâce au scanner. De plus, une invasion des tissus mous adjacents n'étaient visibles que dans 30% des cas à la radiographie contre 90.4% des patients avec l'examen tomographique (Ghirelli *et al.*, 2013). Ainsi, le bilan d'extension par radiographie était en cause de 15% de faux-négatifs concernant la lyse de l'os sous-jacent, et de 60% concernant l'invasion des tissus mous adjacents.

Néanmoins, le scanner présente l'inconvénient d'être un examen plus onéreux que la radiographie.

3.2.2 Bilan d'extension régional

Le bilan d'extension régional permet d'évaluer l'infiltration potentielle des nœuds lymphatiques locaux-régionaux. Dans le cas du mélanome buccal, il s'agit des nœuds lymphatiques parotidiens, mandibulaires et rétro-pharyngiens. Il est important de noter cependant, que le drainage lymphatique présente des variabilités individuelles parfois importantes, impliquant que le drainage lymphatique d'une région donnée n'est pas toujours prédictible. Ainsi, physiologiquement, selon les animaux, le drainage lymphatique d'une région buccale (et donc de la tumeur qui peut lui être associée) peut être effectuée par un ou plusieurs des nœuds lymphatiques cités précédemment, de manière ipsilatérale et/ou controlatérale (Herring *et al.*, 2002 ; Beer *et al.*, 2018). On définit alors le nœud lymphatique sentinelle comme le premier à drainer la tumeur. Le nœud lymphatique sentinelle n'est pas nécessairement le plus proche (Beer *et al.*, 2018)

En situation physiologique, seul les nœuds lymphatiques mandibulaires sont palpables, les autres nœuds lymphatiques ne sont palpables qu'en cas d'hypertrophie. De plus, la palpation seule ne suffit pas à déterminer la présence ou non d'une infiltration métastatique. Une étude a montré qu'une adénomégalie loco-régionale lors de mélanome buccal chez le chien n'était pas forcément lié à la présence de métastase (Williams et Packer, 2003). En effet, 40% des chiens ayant des nœuds lymphatiques de taille normale présentent des métastases, et 30% des chiens présentant des métastases aux nœuds lymphatiques loco-régionaux ne présentent pas d'adénomégalie.

Même si aucune étude ne l'étaye pour l'instant, le recours à des examens d'imagerie peut augmenter la sensibilité et la spécificité du diagnostic d'adénomégalie par rapport à la palpation, notamment pour les nœuds lymphatiques physiologiquement non palpables. Le diagnostic de certitude repose sur la réalisation d'un examen anatomo-pathologique des nœuds lymphatiques.

3.2.2.1 L'imagerie médicale

Il existe trois types d'imagerie médicale grâce auxquelles l'évaluation des nœuds lymphatiques qui drainent la région buccale est possible : l'examen tomodensitométrique, l'imagerie par résonance magnétique, et enfin l'échographie. L'imagerie médicale peut être d'une grande aide car les nœuds lymphatiques de cette région ne sont pas toujours palpables, ni accessibles pour une cytoponction.

L'imagerie par résonance magnétique donne une très bonne vision des nœuds lymphatiques profonds. Le scanner présente le même avantage, avec de plus la possibilité d'effectuer des cytoponctions scano-guidées. En revanche, ces deux types d'imagerie gardent des inconvénients majeurs (disponibilité, anesthésie générale, coût).

L'échographie est une technique d'imagerie qui permet d'observer les nœuds lymphatiques et d'estimer leur taille avec précision (Burns *et al.*, 2008).

Le concept de « mapping » lymphatique est un élément devenu important dans la détermination du stade en oncologie vétérinaire. Il consiste à cartographier les nœuds lymphatiques qui drainent une région du corps afin de déterminer quel est le nœud lymphatique drainant une région spécifique et donc potentiellement une tumeur. L'intérêt du mapping pour les mélanomes buccaux et plus généralement pour les tumeurs de la cavité buccale, est de savoir quel est le nœud lymphatique le plus à risque de développer une infiltration métastatique, et donc d'adapter les prélèvements cytologiques ou histologiques ce qui améliore la précision du bilan d'extension loco-régional. La détection du nœud lymphatique sentinelle peut se faire grâce à différentes techniques d'imagerie, comme la radiographie, l'échographie, l'imagerie par résonance magnétique ou encore le scanner. Elle commence par l'injection péri tumorale ou intra-tumorale de produit de contraste, suivi d'un examen d'imagerie. Le scanner permet ainsi de déterminer la position des nœuds lymphatiques sentinelles dans 89% des cas pour les tumeurs de la tête (Grimes *et al.*, 2017).

Cependant, il n'existe actuellement aucun consensus quant à l'aspect d'un nœuds lymphatique infiltré par une métastase à l'imagerie. Le diagnostic de certitude repose donc sur l'anatomo-pathologie.

3.2.2.2 *Prélèvements anatomo-pathologiques*

3.2.2.2.1 Prélèvements cytologiques

Les prélèvements cytologiques effectués peuvent apporter des informations dans un grand nombre de cas, mais la sensibilité de ce test varie selon les études.

En effet, une étude a montré que les prélèvements cytologiques étaient en accord avec les prélèvements histologiques dans plus de 90% des cas (Herring *et al.*, 2002), ce qui corrobore les propos d'une autre étude dans laquelle la sensibilité et la spécificité atteignent respectivement 100% et 96% (Langenbach *et al.*, 2001).

3.2.2.2.2 Prélèvements histologiques

Les prélèvements histologiques permettent la plupart du temps d'être plus précis quant à la nature des cellules visibles et à l'architecture des tissus analysés. Cependant, les résultats

obtenus par des prélèvements histologiques par biopsie au trocart semblent être moins sensibles que la cytoponction à l'aiguille fine (Langenbach *et al.*, 2001). Cette étude a en effet obtenu une sensibilité et spécificité de 100% et 96% respectivement, contre sensibilité et spécificité de 64% et 96% respectivement pour les prélèvements obtenus par biopsie au trocart. De plus elle présente l'inconvénient de nécessiter une anesthésie locale voir même générale. Dans ce contexte, les biopsies doivent être préférentiellement réalisées de manière incisionnelle, à la lame ou de manière excisionnelle après retrait du nœud lymphatique (Smith, 1995). D'un point de vue pratique, ces biopsies sont donc souvent réalisées lors de la chirurgie d'exérèse de masse buccale et présentent donc l'inconvénient de ne pas obtenir les résultats de dissémination métastatique avant la chirurgie mais seulement après.

3.2.3 Bilan d'extension à distance

Le bilan d'extension à distance a pour but de détecter les métastases à plus grande distance que les nœuds lymphatiques loco-régionaux. En effet, le mélanome buccal étant une tumeur agressive, un bilan d'extension à distance est une nécessité afin de préciser le pronostic et avant d'envisager un traitement. Les poumons, le cœur et d'autres organes de la cavité abdominale (surrénales, foie et rein en particulier) sont les sites privilégiés des métastases du mélanome buccal canin (Todoroff et Brodey, 1979), même si d'autres sites sont possibles (peau et cerveau notamment)(Blackwood et Dobson, 1996).

3.2.3.1 Imagerie médicale

Les poumons sont le site de prédilections des métastases à distance des mélanomes buccaux canins. L'imagerie médicale est alors d'une grande aide pour tenter de détecter les métastases pulmonaires. L'examen radiographique présente l'intérêt d'être accessible par tout vétérinaire et peu onéreux, il ne nécessite pas non plus d'anesthésie générale et est généralement effectué avec une image de face et deux de profil. Cependant, la superposition des tissus et la moins grande sensibilité de cet examen crée de faux négatifs. En effet, d'après Todoroff et Brodey (1979), 14% des radiographies pulmonaires sont revenues négatives, mais positives à l'autopsie. Ils décrivent ainsi les métastases comme miliaries, ce qui explique sans doute les faux négatifs.

L'examen tomodensitométrique présente alors un intérêt tout particulier. Il détecte des nodules plus petit, d'environ 1 mm de diamètre (contre 7 à 9 mm pour la radiographie) et permet ainsi de voir des nodules dans un plus grand nombre de lobes pulmonaires, et donc de préciser le pronostic du patient (Nemanic *et al.*, 2006).

3.2.3.2 Hématologie et biochimie

Une numération et formule sanguine ainsi qu'une analyse biochimique des paramètres les plus courants sont fréquemment réalisés en vue d'un traitement nécessitant une anesthésie et/ou en vue d'une chirurgie. Cependant, les tumeurs orales étant rarement associées à des syndromes paranéoplasiques, ces paramètres sont souvent dans les valeurs usuelles sauf en cas d'affection concomitante (Withrow et MacEwen, 2013).

Les syndromes paranéoplasiques les plus fréquents comme l'hypercalcémie par exemple ne sont pas à écarter (Bergman, 2012).

3.2.4 Stade clinique et classement TNM

La caractérisation de la tumeur primitive ainsi que le bilan d'extension local, régional et à distance permet de classer la tumeur selon la classification TNM, puis de déterminer le stade clinique correspondant selon la classification proposée par l'OMS (Owen et World health organization, 1980) (tableaux 4 et 5).

Tableau 4 : Classement TNM des tumeurs buccales chez le chien

Tumeur primitive	Nœuds lymphatiques	Métastases
T0 : tumeur non visible	N0 : pas de métastase au nœuds lymphatique régional	M0 : absence de métastase à distance
T1 : tumeur de moins de 2 cm dans sa plus grande dimension <i>T1a</i> : absence d'invasion de l'os sous-jacent <i>T1b</i> : invasion de l'os sous-jacent	N1 : Mise en évidence cytologique ou histologique d'une métastase	
T2 : tumeur entre 2 et 4 cm dans sa plus grande dimension <i>T2a</i> : absence d'invasion de l'os sous-jacent <i>T2b</i> : invasion de l'os sous-jacent	N2 : Nœud lymphatique non mobilisable	M1 : métastase à distance
T3 : tumeur de plus de 4 cm dans sa plus grande dimension <i>T3a</i> : absence invasion de l'os sous-jacent <i>T3b</i> : invasion de l'os sous-jacent		

Tableau 5 : Les stades cliniques des tumeurs buccales chez le chien

Stade clinique	Tumeur	Nœuds lymphatiques	Métastases
I	T1	N0	M0
II	T2	N0	M0
III	T1 ou T2	N1	M0
	T3	N0	M0
IV	Tout T	Tout N	M0
	Tout T		M1

Cette classification est utilisée dans plusieurs études s'intéressant au pronostic des patients atteints de mélanomes buccaux. Certaines démontrent un lien entre le stade clinique et le pronostic du patient (White *et al.*, 1985), mais de nombreux autres ne retrouvent pas ce lien (Blackwood et Dobson, 1996 ; Proulx *et al.*, 2003).

C'est pourquoi une étude a cherché à trouver une classification alternative permettant de donner une meilleure valeur pronostique aux stades cliniques établis (Hahn *et al.*, 1994). Cette étude inclut ainsi dans son classement un critère histo-pathologique et un critère de localisation (Tableaux 6 et 7).

Tableau 6 : Classification alternative des mélanomes buccaux du chien

Tumeur primitive	Index mitotique	Localisation de la tumeur primitive	Nœuds lymphatiques loco-régionaux	Métastases à distance
T0 : pas de tumeur visible	(a) : 3 figures de mitose ou moins par champs au fort grossissement	(1) : Mandibule rostrale ou maxillaire caudale	N0 : pas de signe de métastase au nœud lymphatique	M0 : absence de métastase
T1 : tumeur de moins de 2 cm dans son plus grand axe (moins de 8 cm ³)			N1 : métastase histologiquement confirmée au nœud lymphatique	
T2 : tumeur entre 2 et 4 cm dans son plus grand axe (entre 8 et 64 cm ³)	(b) : Plus de 3 figures de mitose par champs au fort grossissement	(2) : Autre localisation	N2 : Nœud lymphatique fixe	M1 : présence de métastase
T3 : tumeur de plus de 4 cm dans son plus grand axe (plus de 64 cm ³)				

Tableau 7 : Stades cliniques alternatifs pour le mélanome buccal

Stade clinique	T	N	M
I	T1a ¹	N0	M0
II	T1a ² , tout T1b ou T2a ¹	N0	M0
	Tout T	N1	M0
III	T2a ² , tout T2b ou T3	N0	M0
	Tout T	N2	M0
	Tout T	Tout N	M1

Bien que cette classification (Hahn *et al.*, 1994) alternative des stades cliniques puisse sembler pertinente, elle reste difficile à mettre en œuvre (notamment car les informations histologiques ne

sont pas toujours disponibles) et n'a par conséquent que très peu été utilisée, il est donc difficile d'avoir du recul sur son réel apport pronostique.

4. PRINCIPES DE PRISE EN CHARGE THÉRAPEUTIQUE CONVENTIONNELLE

Le mélanome buccal est une tumeur au comportement agressif localement et aux métastases locales et distantes fréquentes (Todoroff et Brodey, 1979). En absence de traitement, la médiane de survie est de 65 jours (Bostock, 1979). Dans ce contexte, la mise en place d'un traitement est indispensable, et plusieurs types de traitement sont envisageables.

4.1 Traitement chirurgical

Le traitement chirurgical est le traitement généralement de première intention lors de tumeurs buccales (Withrow et MacEwen, 2013). Il existe 4 types de chirurgies oncologiques envisageables qui présentent des objectifs différents.

4.1.1 Exérèse intracapsulaire

Ce type de chirurgie inclut une diminution de la taille de la tumeur primaire, mais des cellules tumorales resteront sur le site d'exérèse de façon certaine. C'est une chirurgie à envisager en cas de tumeur mécaniquement gênante pour l'animal, mais ne permet en aucun cas de traiter réellement le cancer. Elle permet cependant de potentialiser les thérapies adjuvantes comme l'immunothérapie (Broomfield *et al.*, 2005).

4.1.2 Exérèse marginale

Cette technique chirurgicale consiste à retirer la tumeur juste à l'extérieur de sa pseudo-capsule, ou de sa capsule réactionnelle. Il y a de grandes chances pour que les marges chirurgicales ne soient pas saines et qu'une récurrence locale apparaisse rapidement. Ce type de chirurgie a également un rôle palliatif, le pronostic n'étant pas réellement amélioré (Withrow et MacEwen, 2013).

4.1.3 Exérèse large

4.1.3.1 Exérèse carcinologique

Ce type de chirurgie inclut une marge de tissu apparemment sain autour de la tumeur. La marge conseillée pour les tumeurs localement agressives sont de 1 à 3 cm de tissu sain dans les

trois dimensions pour les os et les tissus mous (Kudnig et Séguin, 2012). On inclut dans ces techniques les mandibulectomie et maxillectomies partielles. Néanmoins, ce type de marge ne permet pas de garantir une exérèse totale, microscopique, dans tous les cas pour les tumeurs les plus invasives (Withrow et MacEwen, 2013).

4.1.3.2 Exérèse radicale

L'exérèse radicale, ou compartimentale concerne les cas de mandibulectomie et maxillectomie totales réalisées lors de mélanomes buccaux. Ce type de chirurgie ne concerne pas les tumeurs prenant leur origine sur la langue ou encore les amygdales. C'est, avec l'exérèse large les traitements à envisager de manière curative pour les cancers buccaux et notamment pour le mélanome buccal même si le comportement biologique des mélanomes rend la guérison peu escomptée (Kudnig et Séguin, 2012).

L'exérèse radicale consiste en un retrait du compartiment entier, pour les os et pour les tissus mous (Kudnig et Séguin, 2012) (figure 2).

Ces techniques chirurgicales ne s'appliquent pas aux mélanomes qui touchent la langue, ou les amygdales.

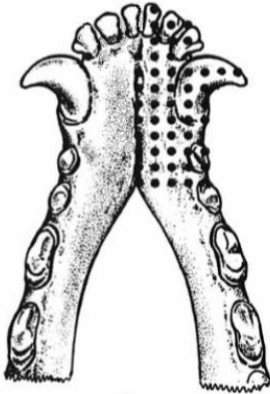
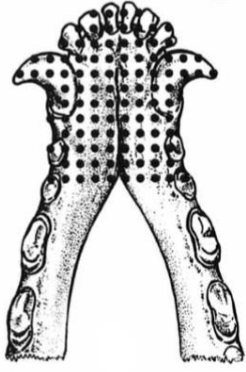
4.1.3.2.1 Techniques de Mandibulectomie

Selon la localisation de la tumeur buccale, plusieurs schémas d'exérèse peuvent être réalisés, les principales étant regroupées dans les tableaux 8 et 9. Lors de chirurgie très large, une reconstruction faciale est parfois réalisée, mais finalement assez peu envisagée étant donné l'adaptation aisée des animaux (Withrow et MacEwen, 2013).

Les mélanomes buccaux étant très agressifs et souvent invasifs localement, une chirurgie radicale doit toujours être envisagée. Ainsi, les mandibulectomies segmentaires sont peu indiquées pour le mélanome, d'autant plus qu'une invasion osseuse est fréquente.




Les marges à envisager pour ces exérèses sont de 2 à 3 cm (Withrow et MacEwen, 2013). En effet des marges plus petites mènent à un taux de récurrence élevé (Kosovsky *et al.*, 1991). Les études relatant du temps de survie des animaux donnent rarement l'information de la marge utilisée.

Tableau 8 : Techniques de Mandibulectomie chez le chien

Technique Chirurgicale	Indications	
Mandibulectomie segmentaire rostrale unilatérale	Tumeurs bénignes ou carcinomes épidermoïdes ne franchissant pas la symphyse mandibulaire	
Mandibulectomie segmentaire bilatérale rostrale	Tumeur bénignes ou carcinomes épidermoïdes qui franchissent la symphyse mandibulaire. Pour les autres tumeurs malignes, il est possible d'étendre l'exérèse caudalement à la 4 ^{ème} prémolaire.	

(White, 1991 ; Kudnig et Séguin, 2012 ; Withrow et MacEwen, 2013)

Tableau 9 : Techniques de Mandibulectomie chez le chien (suite)

<p>Mandibulectomie segmentaire centrale unilatérale</p>	<p>Tumeurs bénignes ou tumeur malignes de bas grade. Contre-indiqué en cas de tumeur malignes envahissant la cavité médullaire osseuse ou pour les tumeurs malignes autre que le carcinome épidermoïde.</p>	
<p>Mandibulectomie totale unilatérale</p>	<p>Cette technique est recommandée pour les tumeurs malignes de haut grade, ou envahissant la cavité médullaire de l'os mandibulaire.</p>	
<p>Mandibulectomie segmentaire caudale unilatérale</p>	<p>Tumeurs de bas grade confinées au rameau mandibulaire. Contre indiquée pour les tumeurs de haut grade.</p>	

(White, 1991 ; Kudnig et Séguin, 2012 ; Withrow et MacEwen, 2013)

Figure 2 : Mandibulectomie segmentaire rostrale unilatérale

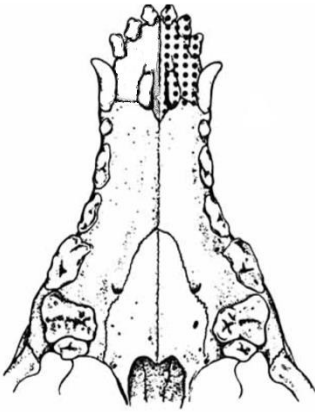
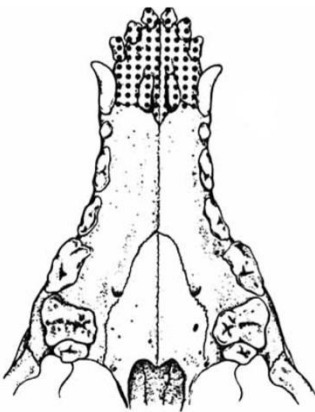
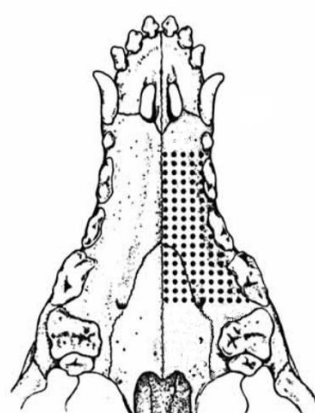


Crédit : ChuvA Ac

4.1.3.2.2 Techniques de maxillectomie

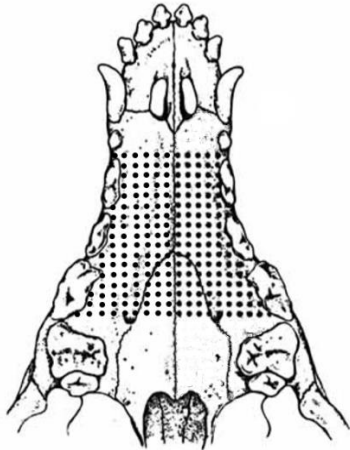
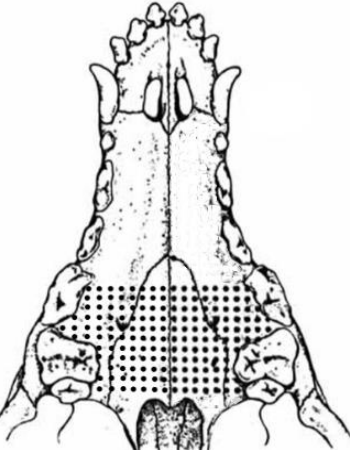
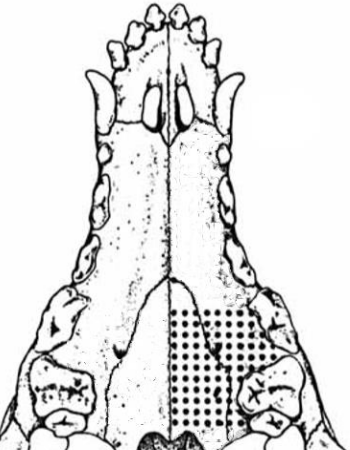
Les principales techniques de maxillectomie sont regroupées dans les tableaux 10 et 11. La fermeture de la zone réséquée est limitée par la quantité de muqueuse labiale. Elle est facilement réalisée pour les chiens ayant de longues babines.

Tableau 10 : Techniques de Maxillectomie chez le chien

Technique Chirurgicale	Indications	
Maxillectomie unilatérale rostrale	Tumeurs bénignes, ou carcinomes épidermoïdes ne dépassant pas la deuxième prémolaire et ne franchissant pas la ligne médiane	
Maxillectomie bilatérale rostrale	Tumeurs bénignes et carcinomes épidermoïdes ne dépassant pas la deuxième prémolaire et ne franchissant la ligne médiane	
Maxillectomie partielle centrale unilatérale	Lésions maxillaires moyennes unilatérales. Résection d'une partie du plancher nasal possible (jusqu'à PM4)	

(Kudnig et Séguin, 2012 ; Withrow et MacEwen, 2013)

Tableau 11 : Techniques de Maxillectomie chez le chien (suite)

<p>Maxillectomie partielle centrale unilatérale</p>	<p>Lésions maxillaires moyennes bilatérales. Résection d'une partie du plancher nasal possible (jusqu'à PM4)</p>	
<p>Maxillectomie partielle caudale bilatérale</p>	<p>Valables pour les tumeurs ou lésions bilatérale jusqu'à PM4 incluse. Risque non négligeable de fistules oro- nasales postopératoires</p>	
<p>Maxillectomie partielle caudale unilatérale</p>	<p>Valables pour les tumeurs ou lésions unilatérale jusqu'à PM4 incluse. Risque non négligeable de fistules oro-nasales postopératoires</p>	

(Kudnig et Séguin, 2012 ; Withrow et MacEwen, 2013)

4.1.3.3 Complications

4.1.3.3.1 Complications suites aux mandibulectomies

Les principales complications que l'on peut rencontrer suite à une exérèse carcinologique ou radicale sont : les hémorragies, les suintements, les lésions type sialocèle, les déhiscences de plaie, un ptyalisme, un défaut de congruence des mâchoires, un défaut de préhension des aliments et une protrusion de la langue (tableau 12). Ces complications sont fréquentes puisqu'elles concernent 22% de tout type de mandibulectomie, mais plus l'exérèse est importante plus elles sont fréquentes. De plus, elles semblent moins fréquentes si l'exérèse concerne la partie rostrale de la mandibule, l'acte chirurgical étant souvent moins traumatique (Schwarz *et al.*, 1991).

Tableau 12 : Complications rapportée lors des chirurgies de mandibulectomie

Complication	Fréquence d'apparition	Commentaire
Suintement de la plaie de chirurgie	40 %	Souvent auto-résolutif en 3 à 5 jours
Sialocèle	8 à 14 %	Auto-résolutif en une semaine la majorité des cas, ne nécessite souvent pas de réintervention chirurgicale
Déhiscence de plaie	8 à 27 %	Complication la plus grave potentiellement, peut être à l'origine du décès de l'animal. Elle est supposée être favorisée par une radiothérapie adjuvante.
Ptyalisme	Rare	Plus fréquent en cas de mandibulectomie segmentaire rostrale bilatérale
Disjonction de la symphyse mandibulaire	2 à 5%	Peut être à l'origine d'ulcère, un retrait de la dent impliquée ou un limage de la dent doit être envisagé
Anorexie	Jusqu'à 30%	Dure moins de 3 jours dans 97% des cas. La pose d'une sonde d'oesophagostomie peut être envisagée

(Withrow et Holmberg, 1983 ; Salisbury et Lantz, 1988 ; Schwarz *et al.*, 1991 ; Kosovsky *et al.*, 1991 ; Griffon et Hamaide, 2016)

Le résultat esthétique est souvent satisfaisant pour les propriétaires, jusqu'à 100% des cas (Salisbury et Lantz, 1988).

4.1.3.3.2 Complications suite au maxillectomies

Les complications rencontrées lors de maxillectomies en peropératoire ou post-opératoires sont similaires aux complications dues aux mandibulectomies. Les complications les plus fréquemment retrouvées sont ainsi les saignements importants en per-opératoire, les suintements, les déhiscences de plaie, les fistules oro-nasales et les ulcères perforants suite à l'abrasion de la peau par une dent de la mâchoire inférieure (tableau 13). Ces complications peuvent être assez fréquentes puisqu'elles peuvent concerner jusqu'à 33% des maxillectomies (Griffon et Hamaide, 2016) (figure 3).

Tableau 13 : Complications rapportées lors de chirurgies de maxillectomie

Complication	Fréquence d'apparition	Commentaire
Hémorragies peropératoire	Jusqu'à 75% des cas	Peuvent être à l'origine d'une hypotension (55% des cas) et nécessiter une transfusion post-opératoire (12 à 30% des cas)
Suintement	Fréquents	Souvent auto-résolutif sans traitement spécifique
Déhiscence de plaie	Jusqu'à 18%	Souvent sur une portion de la plaie uniquement, ne nécessite que rarement une réintervention chirurgicale
Ulcère par perforation des dents mandibulaires	5 à 10%	Parfois auto-résolutif, peut aussi nécessiter le limage de la dent responsable
Fistules oro-nasales	5%	Nécessite une réintervention chirurgicale dans la majorité des cas

(Salisbury *et al.*, 1986 ; Harvey, 1986 ; Lascelles *et al.*, 2003 ; Lascelles *et al.*, 2004 ; Griffon et Hamaide, 2016)

Figure 3 : Fistule oro-nasale suite à une maxillectomie



Crédit : ChuvA Ac

Les chirurgies larges s'accompagnent donc d'un risque accru de complications, nécessitant parfois une réintervention chirurgicale, et en engageant parfois le pronostic vital au court terme.

4.2 La radiothérapie

La radiothérapie peut être utilisée comme la thérapie de première option, mais est plus souvent envisagée comme thérapie adjuvante à une chirurgie préalable.

La radiothérapie a été utilisée dans plusieurs études comme traitement adjuvant de la chirurgie afin de limiter l'apparition de récurrences locales, même si le mélanome buccal est considéré en première intention comme radio-résistant (Hoyt et Withrow, 1984). Plusieurs études se sont donc intéressées à l'efficacité de la radiothérapie en première intention (c'est-à-dire sur une tumeur macroscopique), avec un protocole dit hypo fractionné (Bateman *et al.*, 1994 ; Blackwood et Dobson, 1996 ; Proulx *et al.*, 2003). Le but de ces études est d'évaluer la probabilité d'obtenir une rémission complète en se basant uniquement sur cette radiothérapie.

Dans tous les cas, les effets recherchés sont basés sur les mêmes principes fondamentaux.

4.2.1 Principes

Le principe premier de la radiothérapie est l'utilisation d'une source ionisante et des particules émises par cette source pour lutter contre les cellules tumorales. Trois types de particules sont produits par ces sources :

- Les photons X, qui peuvent être de basse énergie s'ils sont produits par un tube à rayons X (orthovoltage) ou de haute énergie s'ils sont produits par un accélérateur de particules.
- Les photons γ , qui proviennent de la désintégration d'un élément radioactif comme le cobalt ou l'iridium.
- Les électrons, chargés négativement, produits essentiellement par les accélérateurs de particule. Ils ont une activité homogène et superficielle ce qui en fait un atout de choix dans la radiothérapie externe.

Ces trois entités provoqueront des réactions physico-chimiques instantanées dans les cellules visées et auront des effets non immédiats sur les tissus. Ces résultats peuvent s'observer dans les jours ou semaines qui suivent le traitement (Devauchelle, 1994 ; Withrow et MacEwen, 2013).

4.2.1.1 Conséquences physico-chimiques

Les particules envoyées sur les cellules provoquent des ionisations des molécules par arrachement des électrons des couches les plus superficielles. Ceci représente l'absorption du rayonnement. Cette absorption se mesure en Gray, un Gray étant égal à un joule absorbé par kilogramme de matière vivante.

L'effet Compton est le principal effet recherché, il permet la production des électrons de haute énergie qui vont provoquer des réactions ionisantes, soit sur des molécules d'importance critique (effet direct), ou sur des molécules d'eau situées à quelques nanomètres des molécules d'importance critique (effet indirect) (Withrow et MacEwen, 2013).

4.2.1.2 Actions biochimiques

La mort des cellules par les radiations est due à l'ionisation des molécules d'importance critique pour la cellule et notamment l'ADN. Les cassures définitives du matériel génétique vont causer une mort cellulaire immédiate ou retardée. En effet, une cellule dont l'ADN est endommagé va mourir au moment de sa mitose. Les tumeurs à développement rapide vont ainsi être plus sensibles car les mitoses sont plus fréquentes (Withrow et MacEwen, 2013).

Les radiations ont également des conséquences sur les protéines, ce qui désactive un grand nombre d'enzymes cellulaires, mais également les lipides en provoquant une perméabilisation accrue des membranes, favorisant ainsi le dysfonctionnement cellulaire.

4.2.1.3 Doses administrées

La radiothérapie est une technique provoquant des dommages aux tissus sains, même s'il est considéré que les tissus sains sont moins sensibles aux rayonnements qu'un tissu tumoral. Des conséquences et des effets secondaires sont possibles pour le tissu sain, et le défi est donc de trouver la dose d'énergie qui doit être délivrée afin d'endommager au maximum la tumeur et en ayant le moins de conséquences possibles pour le tissu sain environnant (Withrow et MacEwen, 2013).

Ainsi, il est intéressant de considérer la dose nécessaire pour obtenir dans 90% des cas la stérilisation complète de la tumeur. Cette dose est dépendant de trois facteurs principaux (Moore, 2002) :

- L'aspect de la tumeur, et en particulier son oxygénation (une tumeur bien oxygénée sera plus radiosensible qu'une tumeur nécrotique)
- Le type histologique de la tumeur, les tumeurs à cellule ronde étant plus radiosensibles
- Le volume de la tumeur, qui conditionnera la quantité d'énergie à délivrer

Les doses totales administrées en médecine vétérinaire sont pour la majorité entre 40 et 60 Gy (Devauchelle, 1994 ; Withrow et MacEwen, 2013).

De même la dose tolérée pour le tissu sain dépend du type de tissu, en effet le cerveau et la moelle épinière sont plus sensibles aux radiations ionisantes que les tissus osseux ou musculaire (Withrow et MacEwen, 2013).

Deux autres paramètres sont également importants à prendre en compte lors d'un protocole de radiothérapie : la durée du traitement et le fractionnement de la dose. Différents protocoles existent ainsi pour agir sur les différents types de tumeurs et notamment si elles sont à croissance rapide ou non. Dans tous les cas, un fractionnement de la dose permet d'augmenter la dose totale administrée, et présente plusieurs avantages et inconvénients présentés dans le tableau 14.

Les protocoles par fractionnement permettent également d'augmenter la dose totale administrée à la tumeur. La majorité des protocoles prévoient ainsi des doses de 2.7 à 4 Gy par fraction, à raison de 3 à 5 séances par semaine (Withrow et MacEwen, 2013).

Tableau 14 : Intérêts et inconvénients du fractionnement et de la durée de traitement de radiothérapie

		Fractionnement de la dose	Longue durée du traitement
Intérêts	Cellules tumorales	Redistribution des cellules dans le cycle cellulaire et réoxygénation du tissu tumoral, ce qui augmente la sensibilité du tissu tumoral lors de la séance suivante.	
	Cellules saines	Limite les risques de réactions tardives en permettant la réparation des lésions cellulaires qui deviendraient létales en s'accumulant	Limite les risques de réponse aiguës des tissus sains (risque d'apparition sur les tissus à prolifération rapide comme les muqueuses)
Inconvénients		Réparations dans une moindre mesure des lésions cellulaires tumorales	Phénomène de repopulation accélérée sur les tumeurs à croissance rapide, peut apparaître au bout de 4 semaines de traitement

(Withrow et MacEwen, 2013)

4.2.1.4 Effets secondaires et complications

Les effets secondaires sont classés en deux types distincts : les effets précoces et les effets tardifs. Ils peuvent survenir lors d'un surdosage des radiations administrées, et dépendent des tissus qui sont dans le champ d'irradiation. Les tissus à renouvellement rapide donneront plus souvent des effets secondaires précoces, alors que les tissus à renouvellement lents sont plus à même de subir des effets secondaires retardés dans le temps (Withrow et MacEwen, 2013).

Les complications précoces concernent surtout les tissus à prolifération rapide comme la muqueuse buccale, l'épithélium intestinal et la peau. La complication la plus fréquente est alors la multiplication anormale des cellules saines des épithéliums. Ces conséquences sont souvent bénignes et un traitement symptomatique est souvent suffisant pour remédier à la situation. Les conséquences peuvent cependant être gênantes pour le patient et anxiogènes pour le propriétaire. La complication la plus fréquente lors de traitement de cancers buccaux par la radiothérapie est la mucite. Elle se manifeste le plus souvent par une salive épaisse, et une sensibilité accrue de la muqueuse buccale. Elle apparaît typiquement à la fin de la deuxième semaine de traitement et dure rarement plus d'une semaine. Les conséquences sont une réticence à la prise de boisson et à la prise alimentaire. Des aliments pauvres en sel sont alors privilégiés, étant moins irritants pour la muqueuse buccale. Plus rarement, la pose d'une sonde peut simplifier la prise alimentaire (Withrow et MacEwen, 2013). Il convient aussi d'exclure les yeux du champ d'irradiation, car la cornée est un tissu très radiosensible et des cataractes iatrogènes sont possibles.

Les complications tardives concernent plutôt les tissus à prolifération lente tels que les os, les muscles, les poumons ou encore les reins. Ces complications peuvent être assez sévères et difficiles à traiter. Ainsi il convient de les éviter le plus possible en modulant la dose à administrer en fonction des tissus sains inclus dans le champ d'irradiation. Les effets secondaires retrouvés sont de l'inflammation, de la fibrose, de la nécrose, une perte de fonction, voir la mort (Stewart et Dörr, 2009). Les causes sont multifactorielles, mais le système immunitaire joue ici un rôle important, et la cytokine TGF- β est un facteur important dans la fibrose (Hakenjos *et al.*, 2000). Le remaniement des vaisseaux sanguin semble également être une conséquence importante tardive de l'irradiation (Withrow et MacEwen, 2013). En ce qui concerne les cancers buccaux, les complications tardives les plus fréquentes comprennent l'ostéoradionécrose et le développement de fistules oro-nasales. L'ostéoradionécrose touche principalement la mandibule mais reste peu commun. Cette conséquence peut apparaître des années après le traitement. Les fistules oro-nasales sont surtout observées dans des cas où une chirurgie assez délabrante impliquant le palais mou a précédé le traitement de radiothérapie. C'est un complication rare (Withrow et MacEwen, 2013)

4.2.2 Les différents types de radiothérapie

4.2.2.1 La radiothérapie externe

La radiothérapie externe libère des rayons X ionisantes par voie externe. Différents appareils de radiothérapie externe existent chacun ayant une indication particulière.

La radiothérapie externe par orthovoltage permet l'émission de rayons X de basse énergie (entre 50 et 250 KeV). Cette radiothérapie est active uniquement dans les premiers centimètres en profondeur, et dépend de l'énergie utilisée. Elle a donc comme indication les tumeurs les plus superficielles. La téléradiothérapie ou cobalthérapie a un bon rendement en profondeur (50% à 10 cm) et est donc indiquée pour les tumeurs profondes. Cependant elle présente le risque d'irradiation des tissus normaux sensibles voisins de la tumeur. Enfin, la radiothérapie par mégavoltage ou accélérateur de particule produit des électrons d'énergie très élevée (4 à 25 MeV) qui peut être aussi bien utilisée pour des irradiations superficielles que pour des tumeurs profondes.

La radiothérapie externe par mégavoltage présente aujourd'hui d'assez nombreux intérêts. Elle comporte l'avantage de pouvoir choisir entre l'émission d'électrons à haute énergie, qui montrent une bonne efficacité pour les tumeurs superficielles, ou bien l'émission de photons à haute énergie, qui pénètrent bien les tissus et sont indiqués pour les tumeurs plus profondes (Soyer et Doliger, 2011).

4.2.2.2 La radiothérapie interstitielle

Elle est également appelée curiethérapie. Le principe est alors de placer la source radioactive directement sur la zone à irradier, ou à proximité. La source libère alors une forte dose radioactive qui a pour but d'éliminer les cellules cancéreuses potentiellement présentes après la chirurgie. Elle est notamment utilisée pour le traitement du fibrosarcome cutané du chat, après excision de la tumeur (Soyer et Doliger, 2011).

4.2.2.3 La radiothérapie métabolique

Le principe de cette radiothérapie est l'injection de sources radioactives comme l'iode 131 qui vont se fixer à leur cible grâce à leur métabolisme. L'inconvénient de cette radiothérapie est la législation stricte des déchets et des animaux traités qui montrent de grandes contraintes pour les centres qui les pratiquent (Soyer et Doliger, 2011).

4.2.2.4 Domaines d'utilisation

Les différentes radiothérapies externes ne présentent pas les mêmes intérêts, notamment quant à la position de la tumeur à traiter. En effet, parmi les radiothérapies externes, toutes ne permettent pas une irradiation des tissus profonds. Ainsi, la radiothérapie par orthovoltage sera principalement utilisée pour l'irradiation des tumeurs superficielles comme les fibrosarcomes, ou sur des protocoles de radiothérapie per-opératoire, qui visent à débarrasser une zone opératoire de maximum de cellules cancéreuses possible. La radiothérapie par mégavoltage sera en revanche majoritairement utilisée pour les tumeurs plus profondes que ce soit une localisation viscérale, osseuse ou encore intracrânienne. L'avantage encore une fois de l'accélérateur de particules est la possibilité de faire des protocoles pour les tumeurs profondes aussi bien que superficielles.

4.2.3 La dosimétrie

La dosimétrie est une technique qui consiste à orienter et adapter les rayonnements radioactifs de façon à épargner les tissus fragiles adjacents à la tumeur et à irradier le tissu tumoral au maximum. On définit ainsi trois volumes obtenus à partir des images de l'examen tomodensitométrique :

- GTV pour Gross Target Volume, représente le volume de la tumeur macroscopique, qui sont visibles au scanner.
- CTV pour Clinical Target Volume qui prend en plus du GTV la tumeur microscopique. C'est donc le GTV avec une marge, cette marge étant calculée en fonction de la nature de la tumeur, de son agressivité, mais également des tissus environnants.

- Le PTV pour Plan Target Volume, est le volume qui va être irradié. Il contient le CTV avec une marge de quelques millimètres pour pallier aux incertitudes de mesures, aux mouvements de l'animal à cause de la respiration ou autres mouvements parasites.

Ces trois volumes sont calculés après un examen tomodensitométrique lors de la planification de la radiothérapie. Le PTV est donc le volume cible qui sera irradié lors des séances de radiothérapie. Le but de la dosimétrie est ensuite de diviser la dose de rayons envoyée en plusieurs champs. Ceci a pour résultat de limiter l'irradiation des tissus sains qui entourent la tumeur. Plus le nombre de champs est grand, plus les tissus sains seront épargnés. La dose totale est ainsi divisée par le nombre de champs totaux. Cependant, tous les champs ne délivrent pas forcément la même dose. Ainsi on peut hiérarchiser les zones où le rayonnement doit être le plus faible.

La dosimétrie peut être faite manuellement (technique de moins en moins courante) ou par informatique grâce à des logiciels. La dosimétrie manuelle est plus sujette aux incertitudes et aux imprécisions de mesures. Elle peut cependant être encore utilisée pour des tumeurs très superficielles, ou ne se trouvant pas à proximité de structures saines radiosensibles. Elle peut donc être utilisée dans le cas des mélanomes situés rostralement. Dans le cas de mélanomes situés plus caudalement, d'autres tissus seront sensibles aux rayonnements comme les yeux par exemple. Dans ces cas-là, la dosimétrie informatisée est indispensable.

La dosimétrie permet donc une concentration de la dose délivrée à la tumeur pour deux dimensions. En effet les images tomodensitométriques à partir desquelles les champs sont construits est une image en 2D, des coupes transversales du chien. La troisième dimension est adaptée au profil de la tumeur grâce à des lames de plomb situées dans la tête de l'accélérateur et permettant une adaptation des rayonnements au PTV.

Il est ainsi déconseillé d'envoyer deux champs parfaitement opposés, les tissus sains alentours seront ainsi moins épargnés.

4.2.4 Stratégies thérapeutiques

Les deux possibilités à envisager au moment de mettre en place un protocole de radiothérapie sont soit l'objectif curatif, soit l'objectif palliatif. La décision de l'objectif repose sur plusieurs caractéristiques. On compte donc :

- Le grade histologique de la tumeur
- L'avancement de la tumeur au bilan d'extension et notamment les métastases loco-régionales et à distance
- Le volume cible, et les tissus sains environnants (certaines tumeurs peuvent être si mal placées qu'une radiothérapie à visée curative est inenvisageable)

Les objectifs thérapeutiques et leurs indications sont indiqués dans le tableau 15.

Tableau 15 : Principales indications de la radiothérapie

	Bilan d'extension	Indications	Objectifs
La radiothérapie à visée curative	Négatif	Tumeur de petite taille, de grade histologique faible avec l'absence d'invasion osseuse adjacente	Destruction de l'ensemble des cellules tumorales
	Invasion osseuse locale et éventuellement infiltration tumorale d'un nœud lymphatique régional	Tumeur entièrement résécable avec obtention de marges chirurgicales saines (>2 cm) Résection du nœud lymphatique infiltré ➔ Irradiation des deux sites chirurgicaux	
La radiothérapie à visée palliative	Invasion osseuse, extension locale agressive	Tumeur de dimensions ou d'expansion locale trop importante. Envahissement d'organes fragiles n'autorisant pas une résection chirurgicale	Radiothérapie à visée antalgique et cytoréductrice On cherche à freiner l'évolution du cancer et à en diminuer les symptômes
	Métastases à distance	Tumeurs contrôlables localement mais ayant déjà métastasé.	

(Devauchelle, 1994 ; Moore, 2002)

La radiothérapie externe peut être utilisée avant, pendant ou après une chirurgie, mais plusieurs études se sont également penchées sur l'efficacité d'une radiothérapie comme thérapie de première intention.

- La radiothérapie néoadjuvante a pour but de réduire la volume de la tumeur afin de faciliter la chirurgie.
- La radiothérapie per-opératoire est principalement utilisée pour les carcinomes vésicaux, ou les fibrosarcomes cutanés. Elle peut souvent être accompagnée de défaut de cicatrisation. Son administration est unique et a pour but de limiter au maximum les récurrences locales.

- La radiothérapie post-opératoire est la plus souvent utilisée. Après une chirurgie ayant rendue la tumeur microscopique, la radiothérapie a un meilleur effet sur le peu de cellules cancéreuses qui restent sur le site opératoire. Son objectif est également de limiter au maximum les récurrences locales après la chirurgie.

4.2.5 Radiothérapie en pratique vétérinaire

Dans la pratique vétérinaire, la radiothérapie commence par la mise en place d'un protocole précis. Il est mis en place avant de commencer le traitement et dépend de plusieurs facteurs. L'objectif thérapeutique palliatif ou curatif, le type de tumeur (et donc la dose totale à administrer), sa localisation et les tissus sains environnants sont des éléments à prendre en compte. Ces aspects vont permettre de déterminer le fractionnement de l'irradiation, et la fréquence des séances.

La motivation et les capacités financières des propriétaires sont aussi des éléments qui orientent le choix de protocole.

4.2.5.1 Méthodologie

Il est important que l'animal soit positionné exactement dans la même position que lors de l'examen d'imagerie sur lequel s'est basé la dosimétrie. Pour cela, il est nécessaire de mettre en place une anesthésie générale pour éviter tout mouvement de l'animal. C'est une anesthésie générale superficielle qui est souvent la même que celle utilisée pour l'imagerie médicale.

Lors du scanner de dosimétrie, des repères anatomiques sont pris pour que la position soit la plus fidèle possible. Plusieurs méthodes existent, comme la tonte, l'inscription de marques sur la peau, des coussins qui se moulent à la forme de l'animal, des reliefs anatomiques précis, ou encore des photographies. On peut enfin trouver des imageries portables qui permettent de faire une radiographie de l'animal juste avant la séance de radiothérapie, et de comparer l'image obtenue avec celle utilisée pour la dosimétrie.

4.2.5.2 Limites

Le traitement par radiothérapie comprend plusieurs limites : c'est un traitement long, peu disponible en France aujourd'hui. En effet deux centres seulement sont équipés pour de la radiothérapie avec accélérateur de particules par mégavoltage (ONCOVET, MICEN VET) et une clinique avec une radiothérapie par orthovoltage (EFFEILVET). D'autres cliniques sont équipées pour le radiothérapie interstitielle. Ainsi, ce traitement est souvent effectué loin du domicile des propriétaires, sur une longue période (pouvant aller jusqu'à 5 semaines) avec des séances

quotidiennes ou plusieurs fois par semaine. Ces séances doivent être prévues à l'avance et le protocole n'est pas malléable. En effet une avance sur les séances empêchera le tissu sain de bien cicatriser, et un retard sur les séances diminuera l'efficacité anti-tumorale. De plus, toute séance de radiothérapie nécessite une anesthésie générale, ce qui est à la fois un stress pour les propriétaires, mais également un risque pour les patients, quand bien même l'anesthésie est superficielle. L'hospitalisation est toujours une possibilité dans les cliniques qui offrent ces traitements, mais c'est un choix difficile pour les propriétaires.

Enfin, ces protocoles sont très onéreux, et sont souvent accompagnés d'autres thérapies comme la chirurgie, ce qui engendre des coûts très importants pour les propriétaires.

4.2.5.3 Les protocoles de radiothérapie

Il a longtemps été admis que les mélanomes buccaux étaient radio-résistants, du moins avec les protocoles classiques. Plusieurs études se sont ainsi intéressées à l'efficacité d'un protocole hypofractionné (Bateman *et al.*, 1994 ; Blackwood et Dobson, 1996 ; Proulx *et al.*, 2003), qui est plus efficace contre les mélanomes en médecine humaine (tableau 16).

Tableau 16 : Principaux protocoles des radiothérapie utilisés pour le mélanome buccal canin

Type de radiothérapie	Protocole	Dose par séance	Dose totale
Hypofractionnée	Séances aux jours 0, 7 et 21	8 ou 10 Gy	24 ou 30 Gy
	Séance hebdomadaire pendant 4 semaines	9 Gy	36 Gy
	Séance hebdomadaire pendant 6 semaines	6 Gy	36 Gy
	Séance hebdomadaire pendant 8 semaines	6 Gy	48 Gy
Hyperfractionnée	12 à 19 séances réparties sur 4 à 5 semaines	2 à 4 Gy	45,6 à 57 Gy

(Bateman *et al.*, 1994 ; Blackwood et Dobson, 1996 ; Proulx *et al.*, 2003)

4.2.6 Radiothérapie et immunothérapie

Plusieurs études suggèrent l'existence d'un effet de la radiothérapie sur les tumeurs, ou métastases non irradiées dans le protocole utilisé. Cet effet appelé effet « Abscopal » peut par

exemple être observé lors de discrète réduction de taille des métastases après un traitement de la tumeur primaire par un protocole de radiothérapie. Bien que les mécanismes restent flous, le rôle du système immunitaire n'est plus remis en cause (Grass *et al.*, 2016).

4.3 La chimiothérapie

4.3.1 Principes généraux de la chimiothérapie

La chimiothérapie a pour but de lutter contre un processus tumoral par une administration d'une substance chimique qui cible les cellules en division ; le nombre de divisions cellulaire est ainsi limité, et donc le développement du cancer aussi. Les cellules visées sont donc engagées dans le cycle cellulaire, et passent par les phases G₁, S, G₂ et M. Les agents de chimiothérapie ont pour but de bloquer les cellules en division (incluant donc les cellules tumorales) puis de les détruire par un phénomène d'apoptose. Le traitement de chimiothérapie présente d'avantage de ne pas lutter uniquement contre la tumeur primaire, mais également contre toutes les métastases potentielles.

Ainsi, trois indications principales sont possibles selon le but recherché. La chimiothérapie en *induction primaire* fait référence à une thérapie de première intention pour les patients atteints de cancer hématopoïétiques pour lesquels la chimiothérapie est la seule thérapie disponible. La chimiothérapie *primaire néoadjuvante* a pour but l'utilisation d'agents de chimiothérapie avant une autre modalité thérapeutique comme la chirurgie par exemple. Dans ce cas, elle a souvent pour objectif de modifier le stade du cancer. La chimiothérapie peut enfin être utilisée comme *thérapie adjuvante* afin de lutter contre l'apparition de métastases suite à une première modalité thérapeutique comme la chirurgie ou la radiothérapie.

Les agents de chimiothérapie présentent des toxicités importantes. Chaque famille présente des toxicité particulières, mais certaines toxicités sont partagées par un grand nombre de ces familles, comme la toxicité pour la moelle osseuse ou la toxicité pour le tractus digestif. En effet, les agents affectant les cellules en division, les tissus présentant un renouvellement important sont souvent touchés (Withrow et MacEwen, 2020).

4.3.2 Les classes d'agents de chimiothérapie

Différentes molécules de chimiothérapie sont disponibles en médecine vétérinaire, et elles sont regroupées par familles selon leurs modes d'action (tableau 17).

Tableau 17 : Principales familles de molécules de chimiothérapie utilisées en médecine vétérinaire

Famille	Mécanisme d'action	Agents les plus courants	Toxicité
Agents alkylants	Formation de ponts inter-brins sur l'ADN, et provoque des mésappariements lors de la réplication. Il en résulte une inhibition de la réplication	Cyclophosphamide	Toxicité principalement pour les granulocytes neutrophiles
		Chlorambucil	
		Lomustine	Toxicité pour les granulocytes neutrophiles et les plaquettes, toxicité pour le foie.
Complexes à base de platine	Formation de ponts inter et intra-brins	Cisplatine	Néphrotoxicité, toxicité pour les poumons chez le chat
		Carboplatine	Toxicité pour les granulocytes principalement.
Antimétabolites	Ils se substituent à un métabolite lors de la réplication de l'ADN et provoque des mésappariements	Méthotrexate	Toxicité pour le tractus digestif et myélosuppression
		5-fluorouracil	Myélosuppression, toxicité pour le tractus digestif et pour le système nerveux central
Agents anti-microtubules	Ils interfèrent avec la polymérisation et dépolymérisation des microtubules qui jouent un rôle clef dans le fonctionnement et la division cellulaire	Taxanes	Toxicité pour le tractus digestif, pour la lignée des granulocytes neutrophiles. Réactions d'hypersensibilité.
		Vinca alkaloïdes (vinblastine, vincristine)	Myélosuppression, toxicité pour le tractus digestif et neurotoxicité périphérique
Antibiotiques antitumoraux	Intercalation dans les brins d'ADN, inhibition des ARN et ADN polymérases et des topoisomérase II, alkylation de l'ADN, genèse de espèces oxygénées réactives, perturbation de l'homéostasie cellulaire et du calcium	Doxorubicine	Toxicité pour le tractus digestif et myélosuppression. Toxicité cardiaque cumulative, et irréversible.
	Inhibition des ARN et ADN polymérases	Mitoxantrone	

(Withrow et MacEwen, 2020)

4.3.3 La chimiothérapie dans le cas du mélanome buccal

Des études cliniques ont été menées selon les différentes indications possibles d'une chimiothérapie dans le cas du mélanome buccal. Ainsi, des mélanomes ont été traités par chimiothérapie de première intention, voire intra-lésionnelle, ou encore en thérapie adjuvante.

4.3.3.1 La chimiothérapie à visée curative de première intention

Dans les études exposant un protocole de chimiothérapie de première intention, les chiens n'avaient soit subi aucune thérapie avant, soit avait déjà subi une exérèse chirurgicale mais présentaient soit une récurrence locale, soit le développement de métastase. Dans tous les cas, la chimiothérapie a été effectuée sur une tumeur macroscopique.

Le protocole utilisé était à base de carboplatine à la dose de 300 à 350 mg/m² toutes les 3 semaines. Le traitement était considéré comme efficace si la tumeur primaire diminuait de taille (Rassnick *et al.*, 2001).

Un protocole de chimiothérapie de première intention a également été essayé, en bithérapie, une association entre cisplatine et piroxicam. L'évaluation de la réponse était également mesurée en fonction de la taille de la tumeur (Boria *et al.*, 2004).

4.3.3.2 Chimiothérapie par injection intra-lésionnelle

Dans une étude, les auteurs se sont intéressés à l'efficacité d'une injection intra-lésionnelle de cisplatine. Cette technique a pour avantage de concentrer l'agent de chimiothérapie dans la tumeur, contrairement à la chimiothérapie par voie intraveineuse. Les effets secondaires attendus seraient alors beaucoup moins importants.

Les agents de chimiothérapie sont alors injectés en intra-tumorale dans un implant constitué d'un gel visqueux qui permet une libération lente des molécules actives, et un maintien du ratio concentration de l'agent dans le plasma /concentration dans la lésion. Cependant, c'est une technique difficile à mettre en œuvre et rarement effectué (Kitchell *et al.*, 1994).

Les complications possibles sont une nécrose de la masse tumorale, directement associée à la disparition de la masse, et une fistule oro-nasale a été observée dans 15% des cas.

4.3.3.3 La chimiothérapie adjuvante

Quel que soit le traitement, chirurgie ou radiothérapie, le risque métastatique reste élevé, aussi bien pour les nœuds lymphatiques que pour les poumons. De nombreuses autres localisations sont possibles mais plus rares et plus tardives. Pour tenter d'obtenir un contrôle de la dissémination métastatique une approche chimiothérapeutique peut être envisagée dans le cadre de ces tumeurs (Withrow et MacEwen, 2013).

Plusieurs protocoles ont été tentés en prenant comme agent de chimiothérapie du carboplatine, comme thérapie à la chirurgie et/ou à la radiothérapie par protocole hypofractionné (Murphy *et al.*, 2005 ; Dank *et al.*, 2014).

Une autre étude a également proposé un protocole de chimiothérapie dans le but de potentialiser les effets d'une radiothérapie. Dans ce contexte, les chiens présentés avaient subi une exérèse incomplète. Ils recevaient alors une injection de carboplatine ou de cisplatine, suivie d'une heure environ d'une séance de radiothérapie (Freeman *et al.*, 2003). Le choix du carboplatine comme agent de chimiothérapie adjuvante provient principalement de la médecine humaine où une réponse a été enregistrée sur des cas de mélanomes cutanés (Chang *et al.*, 1993 ; Rassnick *et al.*, 2001).

5. PRONOSTIC

5.1 Indicateurs pronostiques précoces associés à la tumeur

Le pronostic du mélanome buccal du chien est considéré comme sombre par de nombreux auteurs (Kudnig et Séguin, 2012 ; Withrow et MacEwen, 2013). Les médianes de survie en absence de traitement ou lors d'exérèse partielle sont faibles et compris entre 2 et 4 mois (Bostock, 1979 ; Harvey *et al.*, 1981).

Différents critères peuvent rentrer en compte dans le pronostic des chiens atteints de mélanomes buccaux avant même qu'un traitement soit envisagé.

5.1.1 Facteurs pronostiques macroscopiques et microscopiques

Plusieurs études montrent que le stade d'avancement de la tumeur, et plus précisément le degré d'invasion présente un facteur pronostique. Ainsi les deux principaux paramètres à prendre en compte lors du bilan d'extension sont les métastases aux nœuds lymphatiques loco-régionaux et les métastases à distance (présence de métastase à distance : temps de survie de 74 à 79 jours contre 236 à 412 jours en cas d'absence de métastase à distance pour des animaux ayant suivi le même protocole thérapeutique) (Hahn *et al.*, 1994 ; Spangler et Kass, 2006).

De même, la taille de la tumeur présente une corrélation significative avec le temps de survie des chiens atteints de mélanomes buccaux (Hahn *et al.*, 1994 ; Proulx *et al.*, 2003 ; Spangler et Kass, 2006). Hahn *et al.* (1994) ont ainsi obtenu un temps de survie significativement différent entre les mélanomes buccaux de moins de 8 cm³ (415 à 601 jours) et ceux de plus de 8 cm³ (118 à 226 jours). De même, Proulx *et al.* (2003) ont opposé les aspects microscopiques ou macroscopiques des mélanomes buccaux. Les tumeurs microscopiques ont ainsi une médiane de

survie de 14.9 mois contre 5.2 mois pour les tumeurs macroscopiques. Ces études mettent cette corrélation en lien avec l'ancienneté des symptômes et donc la probabilité d'apparition de métastases. D'autres études ne mettent pas en évidence ce lien statistique qui reste donc questionnable (Todoroff et Brodey, 1979 ; Kosovsky *et al.*, 1991).

De plus de nombreux auteurs se sont intéressés à la localisation de la tumeur dans la cavité buccale. La position rostrale, en avant de la quatrième prémolaire, est associée à un meilleur pronostic (Schwarz *et al.*, 1991 ; Proulx *et al.*, 2003). Les auteurs donnent comme explication une détection plus rapide de la tumeur par les propriétaires des chiens, et posent également l'hypothèse d'une très bonne vascularisation de la partie caudale de la cavité buccale, ce qui faciliterait l'apparition de métastases et une oxygénation plus importante de la tumeur, donc un développement plus rapide.

Enfin, la lyse osseuse a été identifiée comme facteur pronostique dans une étude (Proulx *et al.*, 2003). Dans cette étude, les animaux présentés avec une lyse osseuse ont présenté une médiane de survie de 3.9 mois contre 9.5 mois pour les animaux sans lyse osseuse (tableau 18).

Ces marqueurs sont évaluables à l'examen histologique. Plusieurs d'entre eux ont été établis comme ayant une forte relation avec le pronostic vital. Les principaux sont :

- Les atypies nucléaires. Une relation linéaire entre le temps de survie des chiens atteints de mélanomes buccaux et le nombre d'atypies nucléaires a été montrée dans une étude (Spangler et Kass, 2006). Il faut cependant utiliser plusieurs critères histologiques afin de faire diminuer la subjectivité de l'examen. En effet une autre étude (Schultheiss, 2006) ne trouve pas cette même corrélation, ce qui est probablement dû à une moins grande précision des analyses. En effet la première étude met en place un scoring détaillé afin d'assurer l'objectivité de la mesure mais permet également d'élargir son utilisation par les manipulateurs.
- L'index mitotique est également un facteur pronostique. Ainsi, Spangler et Kass (2006) obtiennent une relation linéaire entre le temps de survie et l'index mitotique pour les chiens atteints de mélanomes buccaux.
- Le degré de différenciation. Une seule étude a établis que les tumeurs histologiquement bien différenciées avaient un meilleur pronostic, même avec une chirurgie simple (Esplin, 2008). Une médiane de survie de 34 mois a ainsi été obtenue.
- L'invasion des vaisseaux lymphatiques au niveau du site primaire est un facteur pronostique négatif (Millanta *et al.*, 2002). Ceci est probablement à mettre en lien avec la présence ou non de métastase à distance ou aux nœuds lymphatiques loco-régionaux.

Tableau 18 : Facteurs pronostiques du mélanome buccal du chien

			Temps de survie après prise en charge thérapeutique	Modalité thérapeutique
Métastase à distance	(Hahn <i>et al.</i> , 1994)	Absente	236 à 412 jours	Exérèse chirurgicale ± chimiothérapie
		Présente	74 à 79 jours	
Volume de la tumeur	(Hahn <i>et al.</i> , 1994)	< 8 cm ³	415 à 601 jours	Exérèse chirurgicale ± chimiothérapie
		> 8 cm ³	118 à 226 jours	
	(Proulx <i>et al.</i> , 2003)	Microscopique	14.9 mois (médiane)	Chirurgie et radiothérapie adjuvante
		Macroscopique	5.2 mois (médiane)	
Lyse osseuse	(Proulx <i>et al.</i> , 2003)	Absente	9.5 mois (médiane)	Chirurgie et radiothérapie adjuvante
		Présente	3.9 mois (médiane)	
Localisation buccale	(Proulx <i>et al.</i> , 2003)	Rostrale	10.9 mois (médiane)	Chirurgie et radiothérapie adjuvante
		Caudale	6.7 mois (médiane)	
	(Schwarz <i>et al.</i> , 1991)	Rostrale	64 mois (médiane)	Exérèse chirurgicale
		Caudale	10 mois (médiane)	

5.2 Pronostics associés aux différents traitements

5.2.1 Chirurgie

Le traitement chirurgical est le traitement par première intention qui présente les meilleurs résultats, s'il peut être réalisé avec des marges assez larges et notamment lors de tumeurs bien différenciés (Withrow et MacEwen, 2013). En effet une étude met en évidence une médiane de survie de 34 mois lors de mélanomes buccaux bien différenciés traités uniquement par chirurgie

large (Esplin, 2008). Au contraire, d'autres études montrent qu'une simple exérèse marginale de la tumeur ne permet d'améliorer que peu le pronostic si elle est effectuée seule, avec des médianes de survie situées entre 13 et 15 semaines après la chirurgie contre 65 jours sans traitement ; et 100% des mortalité à un an (Bostock, 1979 ; White, 1991 ; Hahn *et al.*, 1994). Une chirurgie conservatrice ne peut ainsi pas être considérée comme curative si elle est proposée seule, n'ayant comme seul avantage de soulager l'animal si la tumeur est trop volumineuse et qu'elle gêne le chien pour la préhension alimentaire ou pour la mastication. C'est alors un traitement uniquement palliatif, comme le montre les études ayant choisi ce protocole.

Dès lors la chirurgie à visée curative doit être large lors de mélanome buccal afin d'améliorer le pronostic (Kudnig et Séguin, 2012) (le tableau 19).

Tableau 19 : Médianes de survie lors de chirurgies curatives

Etude	(Kosovsky <i>et al.</i> , 1991)	(Withrow et Holmberg, 1983)	(Bradley <i>et al.</i> , 1984)	(Schwarz <i>et al.</i> , 1991)	(Tuohy <i>et al.</i> , 2014)	(Esplin, 2008)
Nombre d'individus	n = 37	n = 4	n = 10	n = 13	n = 39	n = 69
Marges osseuses	Au moins 1 cm	MTU	Entre 1 et 2 cm	Inconnues	3 cm pour les os	Inconnues
Médiane de survie (mois)	9.9	19	6	9	24.1	34

MTU = Mandibulectomie totale unilatérale

Parmi ces études, le problème de récurrence locale reste non négligeable, allant selon les études de 8 à 23% de récurrence locale (Bradley *et al.*, 1984 ; Kosovsky *et al.*, 1991 ; Schwarz *et al.*, 1991 ; Tuohy *et al.*, 2014). Une étude a obtenu 0% de récurrence locale mais elle ne portait que sur 4 cas (Withrow et Holmberg, 1983). De même que pour le temps de survie, le taux de récurrence semble moins important quand les exérèses sont réalisées sur des tumeurs bien différenciées. Ainsi, Esplin (2008) n'ont eu que 3 cas de récurrences locales sur 64 chiens opérés.

L'apparition de métastases reste le facteur limitant majeur. Ainsi, ces mêmes études rapportent une infiltration métastatique distante ou loco-régionale entre 35.7 et 57% des cas (Salisbury et Lantz, 1988 ; Kosovsky *et al.*, 1991 ; Tuohy *et al.*, 2014).

La chirurgie seule est donc un premier pilier pour le traitement du mélanome buccal du chien mais n'est cependant pas suffisant. Avec des marges importantes, il permet un allongement

de l'espérance de vie des patients, mais une récurrence locale est trop souvent observée, et les métastases sont très fréquentes. La nécessité de thérapies adjuvantes est donc réelle.

5.2.2 La radiothérapie

5.2.2.1 La radiothérapie à visée curative

Les mélanomes buccaux étant considérées par plusieurs auteurs comme des tumeurs radiorésistantes (Harvey *et al.*, 1981 ; Hoyt et Withrow, 1984), certaines études se sont intéressées à l'efficacité de traitements plus agressifs, et notamment par expositions hypofractionnées (Bateman *et al.*, 1994 ; Blackwood et Dobson, 1996).

Une première étude a ainsi obtenu une médiane de survie de 7.0 mois en utilisant un protocole basé sur trois séances de radiothérapie avec une dose délivrée de 8 Gy à chaque séance. Une première séance effectuée à J0, puis J7 et enfin J21. Une rémission complète (disparition totale de la tumeur macroscopique) a été obtenue dans 53% des cas. Cependant, les récurrences restent très fréquentes : parmi les chiens ayant une rémission complète, 22.2% ont développé des récurrences locales au bout de 3 à 6.5 mois, ce qui reste important. Ainsi, parmi tous les chiens de l'étude, seul 39% ont eu une rémission complète sans récurrence locale (Bateman *et al.*, 1994). La médiane de survie de cette étude n'a pas été atteinte, et 55% (5/9) des animaux étaient encore vivants entre 9 et 19 mois après la mise en place du traitement.

Ces résultats ont donc montré que la radiothérapie utilisée en première intention comme thérapie curative ne donne pas des résultats satisfaisants.

Cependant, une deuxième étude utilisant un protocole sur 4 séances de radiothérapie avec une dose délivrée de 9 Gy chacune pendant 4 semaines a obtenu des résultats plus satisfaisants sur des tumeurs de moins de 5 cm³ (médiane de survie de 86 semaines) (Blackwood et Dobson, 1996).

Ces résultats suggéraient que le protocole de radiothérapie pouvait influencer le temps de survie des patients traités. Une étude a donc cherché à comparer l'efficacité des différents protocoles, notamment la différence entre les protocoles hypo ou hyperfractionnés. Aucune différence significative n'a été obtenue même si les résultats orientent vers une plus grande efficacité des protocoles hypofractionnés (Proulx *et al.*, 2003).

5.2.2.2 La radiothérapie adjuvante

La radiothérapie est fréquemment utilisée comme thérapie post-chirurgicale dans le but de stériliser la plaie de chirurgie des potentielles cellules cancéreuses encore présentes (Devauchelle, 1994). Dans ce contexte, de nombreux cas isolés de différentes études ont suivi des

séances des radiothérapies, sans que des statistiques soient réalisables étant donné le petit nombre de cas.

Une étude a comparé les temps de survie de chiens atteints de mélanomes buccaux traités uniquement par chirurgie ou par chirurgie suivi de radiothérapie. La différence était non significative et même en faveur de la chirurgie seule (médiane de survie de 352 jours contre 335 avec la radiothérapie) (Boston *et al.*, 2014). Ils évoquent cependant un biais de sélection pour les choix de traitement, les animaux avec des stades plus avancés ayant été choisis en majorité pour recevoir un traitement adjuvant.

Des auteurs ont finalement décrit une différence dans la médiane de survie mais également dans le temps de rémission entre les tumeurs macroscopiques traitées par radiothérapies et les tumeurs microscopiques. Dans cette étude qui cherchait à comparer différents protocoles de radiothérapie, une différence significative a été observée entre l'apparition de récurrence locale (26% des cas pour les tumeurs microscopiques contre 45% dans le cas des tumeurs macroscopiques), mais également dans le délai d'apparition de ces récurrences (médiane de 9.4 mois pour l'apparition d'une récurrence locale des tumeurs microscopiques contre 3.5 mois pour les tumeurs macroscopiques) (Proulx *et al.*, 2003). De même, une étude a pu comparer le taux de récurrences locales entre des chiens traités par une chirurgie seule, ou avec un protocole de radiothérapie adjuvant. La différence est importante (67% de récurrences locales sans radiothérapie contre 27 % avec) et laisse suggérer que la radiothérapie puisse retarder l'apparition de récurrence locale (Dank *et al.*, 2014).

La radiothérapie est donc importante dans le contrôle local des mélanomes buccaux, suite à une chirurgie suffisamment large pour réduire la tumeur même si elle ne permet pas un contrôle absolu de l'évolution de la tumeur.

Ainsi, l'exérèse chirurgicale associée à de la radiothérapie adjuvante montre qu'un contrôle à plus ou moins long terme est possible avec des espérances de survie rapportées allant de 440 à 453 jours. Cependant, un risque métastatique reste élevé les localisations les plus fréquentes étant les nœuds lymphatiques loco-régionaux et les poumons (Withrow et MacEwen, 2020).

5.2.3 La chimiothérapie

L'approche par la chimiothérapie peut avoir comme objectif de limiter l'apparition de métastases, mais elle a également été utilisée dans une approche de destruction locale de la tumeur primaire.

5.2.3.1 Chimiothérapie locale

Les injections intra-lésionnelles de cisplatine ont permis une rémission complète de la tumeur dans 55% des cas. Pour ces animaux, aucune information n'est donnée sur les potentielles récurrences locales. La médiane de survie associée était de 51 semaines. Cependant, la difficulté rencontrée dans la mise en œuvre du protocole reste un problème pour cette approche thérapeutique. De plus, parmi les animaux n'ayant pas montré de rémission complète, la médiane de survie n'était que de 10.5 semaines. Enfin, parmi les animaux traités par un protocole de chimiothérapie intra lésionnelle, 40% sont morts ou ont été euthanasiés suite à l'apparition de métastases (Kitchell *et al.*, 1994).

La chimiothérapie locale est une modalité thérapeutique intéressante mais une rémission complète n'a été obtenue que dans 55% des cas et le développement de métastases est fréquent, ce qui rend ce traitement insuffisant.

5.2.3.2 La chimiothérapie adjuvante

D'autres études se sont intéressées à l'injection de carboplatine comme thérapie adjuvante à la chirurgie et/ou à la radiothérapie par protocole hypofractionné.

Plusieurs protocoles ont été mis en place. Une étude a ainsi obtenu une médiane de survie de 440 jours en associant des injections de carboplatine sur 17 chiens ayant auparavant subi une exérèse chirurgicale. Cependant, 41% des animaux ont tout de même présenté des métastases (Dank *et al.*, 2014). Une seconde étude a obtenu des résultats similaires concernant l'apparition des métastases, suggérant que la chimiothérapie ne permet pas de retarder ou de contrôler le pouvoir métastatique du mélanome buccal du chien (Murphy *et al.*, 2005).

Un autre protocole a été proposé et associe une chimiothérapie à base de cisplatine ou de carboplatine à un traitement par radiothérapie sur des chiens ayant subi une exérèse incomplète de leur tumeur primaire. Les séances de radiothérapie sont ainsi prévues environ une heure après la fin de l'injection des agents de chimiothérapie. Ils obtiennent ainsi une médiane de survie de 363 jours, mais les métastases sont également présentes dans plus de 50% des cas (Freeman *et al.*, 2003).

La chimiothérapie ne semble donc pas être le traitement de choix pour tenter de lutter contre le pouvoir métastatique des mélanome buccaux.

En conclusion, les meilleurs résultats obtenus pour un contrôle local des mélanomes buccaux sont obtenus par une exérèse chirurgicale large. Cependant, les complications sont alors relativement fréquentes, en conséquence de quoi les propriétaires des animaux sont plus facilement demandeurs de protocoles moins invasifs. Dans ce cas, une exérèse incomplète suivie

d'un protocole de radiothérapie est l'alternative associée au plus faible nombre de récurrences locales (26 à 27 %). Dans tous les cas, les métastases restent fréquentes et les protocoles de chimiothérapie actuellement disponibles ne permettent pas de limiter significativement la dissémination métastatique.

6. IMMUNOTHÉRAPIE

L'immunothérapie est une thérapie suscitant beaucoup d'espoirs pour le mélanome buccal chez le chien (les premières investigations dans cette voie datent des années 80 (MacEwen *et al.*, 1986). En effet le facteur pronostic le plus limitant est l'apparition de métastases. Les métastases ne peuvent pas être prises en charge par radiothérapie, notamment les métastases à distance de la tumeur primitive, et le mélanome buccal est une tumeur chimiorésistante comme évoqué précédemment. Une modulation par le système immunitaire, visant donc à contrôler ces métastases, apparaît alors comme une thérapie prometteuse.

Le système immunitaire joue un rôle important dans la lutte contre les tumeurs malignes, et contre leur expansion. Le développement tumoral en confrontation avec le système immunitaire passe par trois phases :

- La phase d'*élimination* : le système immunitaire reconnaît les cellules tumorales et elles sont détruites. Cependant, les cellules tumorales faiblement immunogènes peuvent ne pas être éliminées.
- La phase d'*équilibre* : la croissance tumorale est égale à la suppression de cellules tumorales par le système immunitaire, un équilibre se crée alors.
- La phase d'*échappement* : la croissance tumorale dépasse la destruction par le système immunitaire via une baisse d'immunogénicité tumorale, et conduit à une croissance tumorale rapide.

Le développement tumoral passe donc par une baisse d'immunogénicité mais également par certains mécanismes d'échappement au système immunitaire conduisant à une croissance rapide de la tumeur.

6.1 Mécanismes d'immunosuppression tumorale

Les principaux mécanismes sont résumés dans le tableau 20.

:

Tableau 20 : Mécanismes d'immunosuppression tumorale

Mécanisme	Action sur le système immunitaire
Cellules suppresses dérivées myéloïdes	<ul style="list-style-type: none">• Production de métalloprotéinases de la matrice qui vont promouvoir la croissance cellulaire et l'invasion métastatique autour de la tumeur• Contribuent à l'angiogenèse péri-tumorale.• Inhibe le système immunitaire localement par la sécrétion de cytokines qui interagissent avec les lymphocytes T régulateurs, les Lymphocytes T cytotoxiques et les cellules Natural Killer
Induction de lymphocytes T régulateurs par la tumeur	<ul style="list-style-type: none">• Inhibition des lymphocytes T CD4+ et CD8+ et des Natural Killer• Empêchent les lymphocytes présents dans les métastases de faire une réponse antitumorale effective
Diminution du nombre de cellules dendritiques autour de la tumeur	<ul style="list-style-type: none">• Non présentation des antigènes tumoraux au système immunitaire
Production de cytokines immunosuppressives	<ul style="list-style-type: none">• Production d'IL-10 de TGF-β et de TNF-α• Inhibe les cellules dendritiques et stoppent les réponses anti-cancéreuses des lymphocytes T• Favorise l'angiogenèse et la production de molécules anti-apoptotiques
Défaut d'activation du système immunitaire par les cellules tumorales	<ul style="list-style-type: none">• Diminution ou suppression de l'expression du CMH de classe I

(Withrow et MacEwen, 2013)

6.2 Stratégies thérapeutiques

6.2.1 Stratégies d'activation non spécifique du système immunitaire

Ces stratégies s'appuient sur une activation du système immunitaire sans diriger spécifiquement ce dernier sur la tumeur.

La première voie d'activation se fait par l'utilisation de modificateurs de la réponse biologique. Ceci passe par l'administration de bactéries ou de molécules issues de bactéries qui stimuleront le système immunitaire. L'administration du Bacille Calmette-Guérin a ainsi montré son efficacité dans plusieurs cancers canins. Il est cependant peu utilisé en médecine vétérinaire aujourd'hui. L'administration de salmonelles a été étudiée pour pénétrer dans les tumeurs nécrotiques qui répondent donc peu aux agents thérapeutiques externes. Les effets secondaires

peuvent cependant être importants, et les résultats sont encore peu concluants en médecine vétérinaire (Withrow et MacEwen, 2013).

Historiquement, une étude s'est ainsi intéressée à une immunothérapie impliquant *Corynebacterium parvum* contre le mélanome buccal du chien. Les résultats ont été significativement différents pour les maladies du stades II et III, mais pas pour les stades I, et la médiane de survie globale n'était pas significativement différente (MacEwen *et al.*, 1986).

L'administration de super-antigènes issus de bactéries *Staphylococcus* est un traitement qui a été proposé. Ces super-antigènes permettraient de stimuler la prolifération de lymphocytes Th1 via la production de cytokines.

De même, des tripeptides issus de mycobactéries et encapsulées dans des liposomes ont montré un allongement de la médiane de survie en parallèle d'une chimiothérapie cytotoxique. Le mécanisme passe également par la production de cytokines pro-inflammatoires par l'activation de monocytes et de macrophages.

Enfin, la stimulation non spécifique du système immunitaire peut passer par le matériel génétique de certaines bactéries, ou encore grâce aux virus oncolytiques.

La deuxième voie d'activation passe par l'injection de cytokines. Les cytokines qui agissent sur le système immunitaire sont très nombreuses, mais seulement quelques-unes sont utilisées pour des thérapies anti-cancéreuses. Les principales cytokines utilisées sont ainsi IL-2, IL-12, IL-15 et les interférons α , β , ω et γ .

6.2.2 Stimulation spécifique du système immunitaire : Les vaccins antitumoraux

L'immunothérapie peut aussi être basée sur l'administration d'un vaccin, au sens de l'OMS :

« Un vaccin est une préparation administrée pour provoquer l'immunité contre une maladie en stimulant la production d'anticorps. On trouve dans les vaccins des suspensions de micro-organismes inactivés ou atténués, ou des produits ou dérivés de micro-organismes. L'injection est la voie d'administration la plus courante, mais certains vaccins sont donnés par voie orale ou en pulvérisations nasales. »

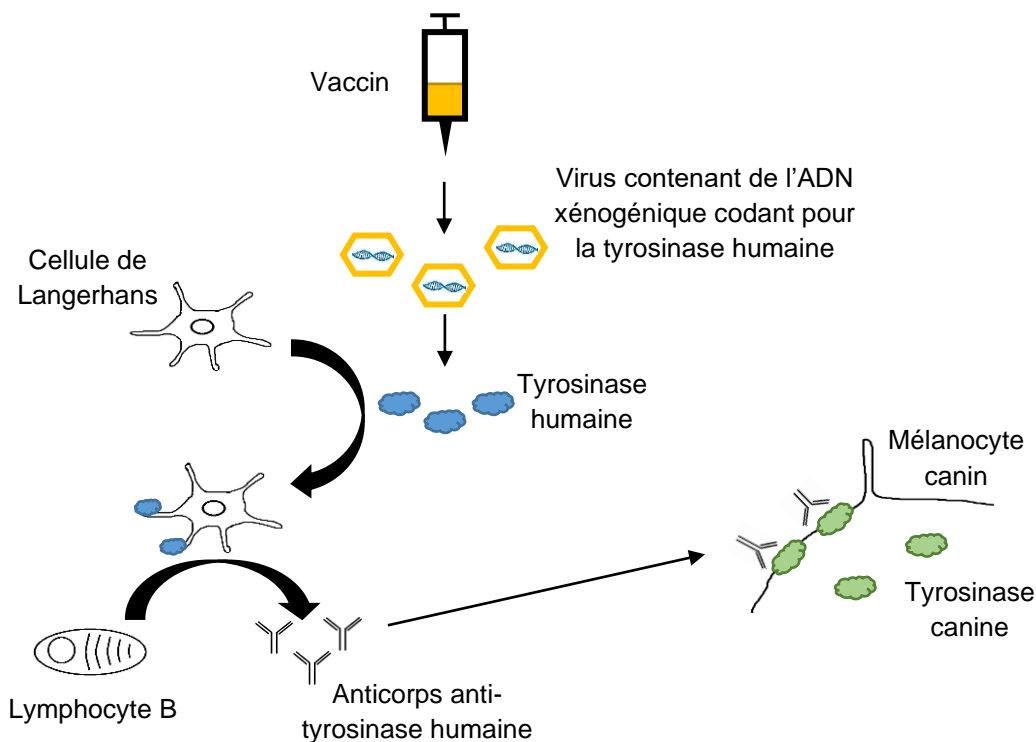
Les vaccins mis au point ont le même objectif que des vaccins « classiques » à savoir la présentation des antigènes de l'entité pathologique au système immunitaire pour obtenir une réponse plus efficace et plus rapide. Les vaccins antitumoraux peuvent avoir plusieurs formes, ils peuvent être basés sur des cellules cancéreuses entières inactivées, ou encore sur des cellules

cancéreuses lysées. Des vaccins qui utilisent la stimulation des cellules dendritiques sont également possibles (Withrow et MacEwen, 2013).

Le vaccin qui est aujourd'hui le plus prometteur est un vaccin basé sur de l'ADN des cellules tumorales. En effet il permet de stimuler à la fois la réponse immunitaire humorale et cellulaire. Le vaccin Oncept® du laboratoire Merial™ utilise des plasmides d'ADN xénogénique qui contient le gène humain qui code pour la tyrosinase. Cette glycoprotéine joue un rôle important dans la synthèse de mélanine au sein des mélanocytes. L'ADN utilisé est un ADN xénogénique, c'est-à-dire que c'est le gène humain qui est utilisé. En effet, il a été montré qu'en vaccinant des souris avec un vaccin autogénique (l'ADN utilisé provient de la même espèce que celle vaccinée), aucune réponse immunitaire n'est observée car le système immunitaire le reconnaît comme du soit (Weber *et al.*, 1998) (figure 4). Le but du vaccin est donc de stimuler le système immunitaire de façon spécifique contre les mélanocytes, mais ils seront alors visés par le système immunitaire qu'ils soient tumoraux ou pas. Son objectif est d'être une thérapie adjuvante à la chirurgie et/ou à la radiothérapie, pour les mélanomes de stade II ou III. Une première étude clinique sur des mélanomes canins a permis de mettre en évidence que la vaccination était très sûre d'utilisation, et qu'une réponse pouvait être enregistrée (diminution de la taille des métastases pulmonaires sur des chiens atteints de mélanomes buccaux de stade IV), et qu'un temps de survie long pouvait être obtenu sur des animaux présentés à des stades avancés (421 jours et plus de 588 jours pour deux chiens atteints de mélanomes buccaux de stade IV) (Bergman *et al.*, 2003).

Le protocole d'injection est le suivant : 4 injections à 2 semaines d'intervalle, puis un rappel vaccinal tous les 6 mois. L'injection doit être intradermale dans une zone précise, caudalement au fémur.

Figure 4 : Schéma du fonctionnement du vaccin basé sur l'ADN xénogénique codant pour la tyrosinase humaine



6.2.3 Pronostic

L'efficacité du vaccin est assez controversée. Certaines études ont montré un réel allongement du temps de survie des animaux traités (Grosenbaugh *et al.*, 2011 ; Verganti *et al.*, 2017) ainsi qu'un allongement du temps de survie des animaux présentés pour un mélanome buccal de stade IV (421 jours et plus de 588 jours). Cette même étude rapporte également une efficacité systémique visualisable (diminution de la taille des métastases pulmonaires). Une autre étude n'a pas pu déterminer de médiane de survie pour les animaux vaccinés car le taux de mortalité n'a pas atteint les 50%. De même une des deux études conseille d'élargir le groupe d'individu cible pour y intégrer les individus atteints d'un stade IV de la maladie (Verganti *et al.*, 2017).

A contrario, d'autres études n'ont pas obtenu des résultats significatifs (Ottinod *et al.*, 2013 ; Treggiari *et al.*, 2016), proposant alors des travaux plus approfondis.

Pour l'instant, aucune étude ne propose d'associer un traitement chirurgical à de la radiothérapie et de l'immunothérapie.

**DEUXIÈME PARTIE : ÉTUDE
RÉTROSPECTIVE DU TRAITEMENT
ASSOCIANT CHIRURGIE,
RADIOTHÉRAPIE ET IMMUNOTHÉRAPIE
SUR 34 CAS DE MÉLANOMES BUCCAUX
DE CHIENS**

Les mélanomes buccaux sont chez le chien les cancers buccaux les plus fréquents. Ils présentent un comportement agressif localement mais possèdent également un pouvoir métastatique important. Une absence de traitement chez un chien atteint de mélanome buccal conduit à une médiane de survie de 65 jours. Les différentes modalités thérapeutiques explorées sont la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie. Une exérèse large est une modalité thérapeutique qui permet un bon contrôle local, et un taux de récurrence local restreint. Cependant, les complications ne sont pas rares, et c'est une chirurgie qui nécessite un chirurgien expérimenté et qui est parfois limitée par l'étendue de la lésion. La meilleure alternative possible est alors une chirurgie marginale accompagnée d'une radiothérapie adjuvante. Cette option permet d'avoir un geste chirurgical moins invasif, et des complications plus rares. Cependant, même avec une radiothérapie adjuvante, les taux de récurrences locaux sont plus importants et les taux de métastases équivalents. Dans ces différentes options thérapeutiques, un problème persiste : celui des métastases. Les sites préférentiels sont les nœuds lymphatiques loco-régionaux et les poumons, mais de nombreux autres sites sont possibles. Dans ce contexte, des protocoles de chimiothérapie ont été investigués, mais sans résultat réellement satisfaisants. L'immunothérapie a donc été explorée, pour aboutir au vaccin qui est le sujet de notre étude ici.

Notre étude s'intéresse donc à une approche thérapeutique multimodale associant chirurgie, radiothérapie et immunothérapie pour le traitement des mélanomes buccaux canins, et vise à évaluer son efficacité quant au temps de survie et au temps de rémission et les complications associées.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1. Les animaux

Les chiens de l'étude sont les chiens qui ont été référés au centre MICEN VET entre le 1^{er} juin 2012 et le 1^{er} juin 2019 par leurs vétérinaires traitants pour la prise en charge d'un mélanome buccal. Cette approche multimodale était systématiquement proposée à tous les propriétaires de chiens atteints de mélanomes buccaux.

1.1.1 Critères d'inclusion

Pour être inclus dans l'étude, les chiens devaient avoir eu un diagnostic histologique ou cytologique de mélanome buccal. De plus notre étude s'intéressant à l'association entre l'immunothérapie la radiothérapie et la chirurgie, les animaux inclus dans l'étude ont tous été sujets à une chirurgie (le plus souvent réalisée par le vétérinaire traitant), devaient avoir suivi un

protocole de radiothérapie au centre MICEN VET, et enfin avoir suivi le protocole de vaccination selon les recommandations préconisées par le laboratoire.

1.1.2 Critères d'exclusion

Les critères d'exclusion étaient l'absence d'un des 3 modalités thérapeutiques, et une « primo-vaccination » incomplète (reposant sur 4 injections du traitement d'immunothérapie).

De plus, un bilan d'extension ayant été réalisé pour tous les animaux de l'étude, la présence de métastases pulmonaires (stade IV) était également un critère d'exclusion.

Enfin, la localisation buccale pouvait également être un critère d'exclusion, en effet, seuls les mélanomes buccaux situés sur les gencives, la muqueuse buccale et le palais étaient pris en compte, en excluant les mélanomes situés sur la langue ou les amygdales.

1.2. Protocoles thérapeutiques

1.2.1. La chirurgie

Les chirurgies étaient réalisées pour la plupart des cas par les vétérinaires traitants. Elle a souvent été cytoréductrice, et était, dans un bon nombre de cas, effectuée dans le but de connaître la nature histologique de la masse. Certains animaux ont reçu plusieurs chirurgies avant la mise en place du protocole de radiothérapie. Dans ces cas-là, la dernière chirurgie avant la radiothérapie était considérée comme la première étape du protocole.

Dans un faible nombre de cas, la chirurgie effectuée était plus large, effectuée dans un centre de chirurgie spécialisé.

1.2.2. La radiothérapie

Le traitement de radiothérapie a été effectué grâce à un accélérateur linéaire de particule (Clinac DMX, Varian Medical Systems). Les protocoles étaient des protocoles fractionnés, constitués de 12 séances identiques de 3Gy chacune, à raison de 3 séances par semaine, le lundi, le mercredi et le vendredi, pendant 4 semaines. Les propriétaires pouvaient soit venir à chaque séance avec leur animal, soit le faire hospitaliser.

La zone irradiée était la zone d'exérèse de la tumeur plus ou moins la région des nœuds lymphatiques mandibulaire si une infiltration métastatique était présente lors du bilan d'extension. Les séances de radiothérapie étaient effectuées sous anesthésie générale. Une induction au propofol par titration étaient effectuée par voie intra-veineuse, puis un relai gazeux à l'isoflurane après sondage endotrachéal. Ce protocole était choisi pour son faible risque anesthésique, pour sa facilité de mise en place, et pour le réveil rapide qu'il permet d'obtenir. L'aspect de la cicatrice et l'apparition éventuelle d'effets secondaires étaient vérifiés avant chaque séance.

1.2.3. Le traitement d'immunothérapie

Le protocole de vaccination est constitué d'une primo-vaccination, à raison de 4 injections à 2 semaines d'intervalle, puis d'une vaccination dite « boost » tous les 6 mois. Les injections sont effectuées par un vétérinaire du centre MICEN VET et s'effectuent sur la face interne des membres pelviens, en avant du fémur, et en alternant les membres droit et gauche.

Avant chaque injection, un examen clinique complet est effectué, et toute anomalie au moment de l'injection est notée (douleur, rougeur, suintement ou tout autre détail). A chaque rendez-vous suivant, un questionnaire est soumis aux propriétaires qui devaient relever toute anomalie remarquée dans les 15 jours suivant l'injection précédente.

Les informations récoltées permettaient ainsi d'obtenir des informations sur les effets secondaires immédiats après l'injection, mais également au plus long cours (2 semaines).

1.3. Les données collectées

1.3.1. Signalement, commémoratifs et anamnèse des patients

Les noms des propriétaires, leur numéro de téléphone et le nom des vétérinaires traitants étaient renseignés. Concernant les patients, leur âge, sexe, race, poids, et antécédents étaient notés. Il était également nécessaire de connaître les affections concomitantes, diagnostiquées avant la mise en place du protocole multimodal. Toutes les dates des différentes procédures thérapeutiques ont été notées, qu'elles aient eu lieu au centre MICEN VET ou tout autre centre vétérinaire ayant pris part au diagnostic ou au traitement des patients.

Dans les cas où les informations étaient disponibles, il était également renseigné la nature et la date des premiers signes cliniques observés par les propriétaires.

Les animaux présentés ayant déjà tous subi au moins une chirurgie, la date de la dernière chirurgie avant la radiothérapie était notée, ainsi que la nature de l'exérèse (cytoréductrice ou large).

1.3.2. Le bilan d'extension

Le bilan d'extension comprenant trois étapes :

- Un examen d'imagerie local par tomодensitométrie : il avait pour but de mettre en évidence une ostéolyse, d'observer un reliquat tumoral directement visible, ou encore de visualiser une récurrence locale auquel cas une nouvelle chirurgie devait être effectuée avant d'entamer le protocole de radiothérapie. Pour les cas où une dosimétrie était nécessaire, le scanner servait également de base pour la détermination des différents paramètres d'irradiation :

nombre de faisceaux d'irradiation, angulation des faisceaux, taille, forme des faisceaux etc...

- Un examen d'imagerie thoracique par tomodensitométrie. Il avait pour but de détecter des métastases pulmonaires et était réalisé sous hyperinsufflation afin d'obtenir une meilleure résolution possible et de réduire au maximum le risque de faux négatif. La présence de métastase constituait un élément d'exclusion de l'étude.
- Un examen cytologique des nœuds lymphatiques mandibulaires homo et controlatéraux. Il était effectué par cytoponction à l'aiguille fine 22G. Il était réalisé quel que soit l'aspect ou la consistance des nœuds lymphatiques. Parmi les nœuds lymphatiques drainant la région buccale, seuls les nœuds lymphatiques mandibulaires étaient prélevés, les autres n'étant pas accessibles aisément en cas d'absence d'adénomégalie.

1.3.3. Les données histologiques

Lorsqu'elles étaient rendues disponibles par les comptes rendus des différents laboratoires, les données histologiques étaient rapportées. Il était ainsi noté : le degré de pigmentation histologique, la présence ou non d'atypies nucléaires, l'index mitotique et enfin la présence d'embolie dans les vaisseaux. Si l'analyse anatomo-pathologique était effectuée sur la pièce d'exérèse, l'état des marges, saines ou non, proches ou non était également renseigné.

1.3.4. Les données relatives au traitement

Une fois que le bilan d'extension était effectué, le protocole de radiothérapie et d'immunothérapie pouvait débuter. Le traitement d'immunothérapie pouvait commencer en même temps ou après la radiothérapie. Il était ainsi noté le délai entre la chirurgie et la radiothérapie, le délai entre la radiothérapie et l'immunothérapie, et enfin le délai entre la chirurgie et l'immunothérapie.

Le protocole de radiothérapie était détaillé pour chaque séance, en précisant si une quelconque complication était survenue.

1.3.5. Le suivi

Toutes les éventuelles complications, associées à la chirurgie, à la radiothérapie et à l'immunothérapie étaient recensées. Les complications nécessitant une prise en charge spécifiques seront considérées comme des complications majeures, les complications autorésolutives comme des complications mineures.

Le suivi à moyen et à long terme était effectué notamment lors des rappels de vaccination tous les 6 mois. Il était alors systématiquement proposé d'effectuer un contrôle par examen tomodensitométrique, local, régional et thoracique.

Pour les animaux n'ayant pas effectué de rappel de vaccination, le suivi était réalisé chez leurs vétérinaires traitants qui étaient alors contactés pour obtenir les informations.

Les données recueillies étaient :

- La présence d'une récurrence locale et son éventuel délai d'apparition
- La date et les résultats des examens d'imagerie éventuellement réalisés afin de vérifier la présence de métastases pulmonaires
- La date d'apparition et la nature d'éventuelles maladies intercurrentes
- La date et les circonstances de décès des animaux

1.3.6. Les analyses statistiques

1.3.6.1. Présentation des résultats

Les résultats de cette étude seront présentés de plusieurs façons :

- Les variables quantitatives seront données sous la forme de médiane et quartiles (comme l'âge ou le poids).
- Les variables qualitatives seront ramenées à un schéma binaire ce qui permettra de décrire la population grâce à des pourcentages. Les variables binaires vont également nous permettre de tracer des courbes de Kaplan Meier, et donc de savoir si ce paramètre est un facteur de risque ou autre.

Les courbes de Kaplan Meier données dans la suite auront toujours pour abscisse le temps en jours, et en ordonnée l'estimation du nombre d'animaux encore vivants en pourcentage.

1.3.6.2. L'analyse de survie

Cette étude a pour objectif d'estimer le temps de survie et le temps de rémission locale (c'est-à-dire le temps avant une récurrence locale) des chiens atteints de mélanome buccal sous association de traitements chirurgie radiothérapie et immunothérapie venu au centre MICEN VET de Créteil entre le 1^{er} juin 2012 et le 1^{er} juin 2019. Différentes expositions d'intérêt ont également été notées afin d'être étudiées.

1.3.6.2.1. Les dates d'intérêt

Notre étude se penche sur une combinaison de traitements qui commence par une chirurgie. La première date J0 a donc été notée comme la chirurgie précédant le protocole de radiothérapie, lui-même suivi du protocole vaccinal. Certains chiens avaient déjà reçu une chirurgie cytoréductrice auparavant, dans ces cas, la date de la chirurgie précédente était notée.

Les dates d'événements dans notre étude étaient la date de décès de l'animal et celle de la récurrence locale si elle avait lieu.

La date de point est la date de fin de suivi des animaux. Dans notre étude, cette date correspond au 01/06/2020.

1.3.6.2.2. Le phénomène de censure

Les censures correspondent aux cas de l'étude recrutés qui n'ont pas présenté l'événement, c'est-à-dire qui n'ont pas été rapportés comme décédés. Il existe alors deux cas de figures : soit nous avons eu confirmation que l'animal n'est pas décédé durant la période de suivi, dans ce cas, la date de censure correspond à la date de point, soit l'animal a été « perdu de vue », c'est-à-dire qu'au-delà d'une certaine date, plus aucune nouvelle n'a été donnée concernant cet animal. Dans ce dernier cas de figure, la date de censure correspond à la dernière date à laquelle l'animal a été vu.

Une censure peut présenter un caractère informatif ou non, selon si elle est indépendante ou non du sujet que l'on s'attend à observer (ici le décès de l'animal). Dans le cadre de notre étude, aucune des censures n'a été informative.

1.3.6.2.3. La méthode Kaplan-Meier et comparaison des courbes de survie

La méthode Kaplan-Meier a été utilisée dans notre étude afin de donner une approximation de la courbe de survie $S(t)$. Elle permet l'estimation du risque de présenter l'événement à l'instant t_i . Cette estimation repose sur deux calculs : le calcul d'une probabilité conditionnelle d'être encore en vie après t_i sachant qu'on était encore en vie avant t_i , puis celle de n'avoir pas présenté l'événement depuis t_1 .

Deux courbes de survie ainsi obtenues peuvent être comparées en utilisant le test du Logrank. Le but de ce test est de rejeter l'hypothèse H_0 présentant les deux courbes comme identiques, au risque d'erreur α . Dans notre étude, le risque d'erreur α sera fixé à 5%.

Dans le cas où le degré de signification p sera inférieur à 0.05, le résultat sera considéré comme significatif, ce qui impliquera une différence statistique significative entre deux courbes de survie.

Ainsi, des paramètres épidémiologiques tels que le sexe, l'âge, le poids ou encore la présence d'une maladie concomitante ont été analysés comme facteurs pronostiques sur la survie des animaux. D'autres paramètres concernant l'avancement et la caractérisation de la maladie ont également été analysés comme facteurs pronostiques potentiels (la taille de la tumeur, le stade TNM à la présentation, l'infiltration des nœuds lymphatiques mandibulaires, la pigmentation et le nombre de mitoses à l'examen histologique sont des éléments étudiés). Enfin des paramètres concernant les différentes modalités thérapeutiques ont été analysés (le délai entre les différents

traitements, le nombre d'injections vaccinales, le type d'exérèse réalisée et l'existence de traitements antérieurs). De même, des paramètres ont été analysés afin d'étudier leur impact sur l'apparition de récurrences locales (la taille de la tumeur primaire, le stade clinique, la présence d'ostéolyse au scanner).

2. RÉSULTATS

2.1. Résultats généraux

2.1.1. Description de la population

La population était constituée de 34 chiens présentés au centre MICEN VET pour la prise en charge d'un mélanome buccal.

Dans la population, la race la plus représentée était le Cocker Spaniel avec 23.5 % des animaux (8/34) de l'étude. Les Golden Retriever étaient également nombreux, et représentaient 11.7 % des animaux (4/34) (tableau 22).

Les chiens de grand gabarit étaient les moins nombreux avec 38 % (13/34), 62 % de petit gabarit (21/34) en prenant comme valeur limite le poids de 20 kg de façon arbitraire.

La médiane d'âge au moment du début du protocole (chirurgie) était de 11.1 ans [9.4 – 12.4], le poids médian était de 16.1 kg [9.3 – 32.5] (tableau 21).

Les mâles étaient plus représentés que les femelles avec un ratio de 1,4:1.

Tableau 21 : Description de la population

Résultats généraux	N=34 animaux traités par chirurgie, radiothérapie et immunothérapie	
	Nombre	%
Médiane d'âge (années)	11.1	-
Poids médian (kg)	16.2	-
Statut sexuel		
- Femelle	5	15
- Femelle stérilisée	9	26
- Mâle	13	38
- Mâle castré	7	21
Antécédent de chirurgie excisionnelle	6	18
Affection concomitante (antérieure au diagnostic de mélanome buccal)	6	18

Tableau 22 : Prévalence des races rencontrées dans l'étude

Race	No	%
Cocker	8	24
Golden	4	12
Teckel	2	6
Labrador	2	6
Caniche, Berger allemand, Berger Belge Malinois, Beauceron, Epagneul breton, Bouvier Bernois, Shi Tsu, Fox terrier, Terrier irlandais, Schnauzer, Briard, Yorkshire Terrier	1	3
Chiens croisés	6	18

Les animaux présentant des affections concomitantes antérieures au mélanome représentaient 17.6 % (6/34) des chiens, et la moitié d'entre eux étaient atteints d'un syndrome de Cushing (tableau 23).

Tableau 23 : Affections concomitantes

Types d'affections concomitantes au protocole mis en place	N = 6 cas de l'étude présentant une affection antérieure à la mise en place du traitement.	
	No	%
Syndrome de Cushing	3	50.0
Insuffisance cardiaque	1	16.5
Carcinome nasal	1	16.5
Circumanalum	1	16.5

2.1.2. Données avant les traitements de radiothérapie et d'immunothérapie

La position buccale était plus souvent caudale, et concernait majoritairement les gencives et la muqueuse labiale. Le palais mou et le palais dur étaient sous représentés (n = 6).

L'information sur la pigmentation de la tumeur primaire n'était disponible avec certitude que dans 53% (18/34) des cas, et parmi ceux-là, seuls 28% (5/18) présentaient des tumeurs pigmentées.

Concernant l'adénomégalie loco-régionale, l'information était absente pour seulement un chien. Une adénomégalie était présente chez 33% (11/33) des cas, et était unilatérale pour 6 d'entre eux et bilatérale pour 5. Les nœuds lymphatiques ont été cytoponctionnés dans 97 % (33/34) des cas (pour un cas, les nœuds lymphatiques étaient non palpables et non cytoponctionnables). Ils étaient infiltrés dans 15% (5/33) des cas. Parmi ces 5 chiens, 40 % (2/5) ne présentaient pas d'adénomégalie, et 60 % (3/5) en présentaient une. Enfin, parmi les 11 chiens qui présentaient une adénomégalie, 27 % (3/11) présentaient une infiltration métastatique.

Le stade était déterminé par la taille de la tumeur et l'infiltration métastatique. La taille de la tumeur primaire était connue dans 88 % (30/34) cas, était le plus souvent de petite taille (<2 cm), pour 63% (19/30) des animaux, de taille intermédiaire (entre 2 et 4 cm) pour 20% (6/30) d'entre eux, et de grande taille (>4 cm) pour 17% (5/30). La présence d'ostéolyse était évaluée par un examen tomодensitométrique de la cavité buccale. Elle était présente dans 34% (8/34) des cas. Pour rappel, les animaux présentant des métastases pulmonaires au moment de l'étude étaient exclus de l'étude. La présence de métastase était évaluée par un examen tomодensitométrique de la région thoracique, pour 33 des 34 chiens. Pour le dernier chien, ce bilan d'extension a été effectué par radiographies (3 vues).

Ainsi, grâce à ses données, le stade clinique initial a pu être déterminé pour 88 % (30/34) des chiens. Le stade I comptait 53 % (16/30) des animaux, 13% (4/30) étaient au stade II, et 33 % (10/30) au stade III (tableau 24).

Les chirurgies avaient déjà été réalisées chez les vétérinaires traitant avant l'admission au centre MICEN VET pour la majorité des cas. Cinq animaux avaient déjà subi une exérèse cytoréductrice une première fois avant la chirurgie incluse dans l'approche multimodale.

L'information sur le type de chirurgie était disponible pour 23 animaux : 19 d'entre eux ont reçu une chirurgie cytoréductrice, et 4 ont subi une exérèse large.

L'état des marges d'exérèse n'était pas toujours donné. En effet, toutes les pièces d'exérèse n'ont pas été envoyées à un laboratoire, le diagnostic ayant déjà été obtenu par cytologie ou histologie. L'information était ainsi connue pour 19 cas. Pour 53% (10/19) les marges d'exérèse étaient incomplètes, et pour 47% (9/19), elles étaient saines.

Tableau 24 : Caractéristiques des tumeurs rencontrées et bilans d'extensions

	N=34 chiens traités	
	Nombre	%
Localisation dans la cavité buccale (rostrale ou caudal à PM4)	34	100
Rostral	14	41
Caudal	20	59
Structure atteinte par la tumeur	34	100
Gencives	12	35
Muqueuse labiale	16	47
Palais dur	3	9
Palais mou	3	9
Pigmentation	18	53
Oui	5	28
Non	13	72
Adénomégalie locorégionale	33	97
Positive	11	33
Unilatérale	6	18
Bilatérale	5	15
Négative	22	67
Infiltration métastatique du nœud lymphatique à la cytologie	33	97
Positive	5	15
Négative	28	85
Taille de la tumeur	30	88
< 2cm	19	63
Entre 2 et 4 cm	6	20
> 4cm	5	17
Ostéolyse à l'examen tomodensitométrique	34	100
Positive	8	24
Négative	26	76
Stade TNM selon l'OMS	30	88
I	16	53
II	4	13
III	10	33
IV	0	0
Qualité des marges d'exérèse	19	56
Infiltrées	10	53
Saines	9	47

2.1.3. Données sur les protocoles thérapeutiques

Le traitement de radiothérapie était pour la majorité standardisé sur une base de 12 séances pendant 4 semaines à raison de 3 séances par semaine, avec un dosage de 3Gy par séance. Ce protocole a été respecté pour 27 chiens. Deux chiens ont reçu 37 Gy au total avec 11 séances de 3 Gy et une séance à 4Gy. Un chien a reçu 33 Gy au total, répartis en 11 séances de 3 Gy, et un dernier chien n'a reçu que 21 Gy répartis en 7 séances identiques (un arrêt du traitement a été nécessaire pour cause d'insuffisance cardiaque). Un chien a reçu 48 Gy répartis en 12 séances de 4 Gy.

Un animal a reçu un traitement dit hypofractionné : il a reçu 40 Gy répartis en 4 séances de 10 Gy, à raison d'une séance hebdomadaire.

Un dernier chien a reçu un protocole non renseigné.

La zone irradiée était la zone d'exérèse de la tumeur primitive. Dans la majorité des cas, cette zone était directement accessible, sans structure saine critique adjacente, une dosimétrie n'était donc pas nécessaire. Cependant, pour 5 animaux, un plan de dosimétrie avait été mis en place car les zones d'exérèse n'étaient pas facilement accessibles, généralement plus caudales, adjacentes à des structures saines à protéger. Ce plan de dosimétrie avait pour but d'épargner les structures les plus à risque (yeux, cerveau). Les nœuds lymphatiques pouvaient être irradiés si les cytoponctions réalisées montraient une infiltration métastatique. Pour deux de ces animaux, une reprise chirurgicale a été effectuée avant la mise en place du protocole de radiothérapie.

Le délai médian entre la chirurgie et le début du protocole de radiothérapie était de 21 jours.

Le protocole d'immunothérapie était réalisé chez tous les animaux suivant le protocole recommandé avec une « primo-vaccination » réalisée en 4 injections transdermiques à deux semaines d'intervalle, suivie d'un rappel ou « boost » tous les 6 mois.

Certains propriétaires n'ont pas souhaité réaliser de rappel que ce soit pour des raisons financières ou autre. Ainsi, 52.9 % (18/34) des chiens ont reçu un total de 4 injections, 23.5 % (8/34) des chiens en ont reçu 8, 5.9 % (2/34) des chiens en ont reçu 6, 5.9 % (2/34) des chiens en ont reçu 7, 8.8 % (3/34) des chiens en ont reçu 8 et 2.9 % (1/34) des chiens en a reçu 9.

Au total, 171 injections vaccinales ont été réalisées sur les 34 chiens de l'étude, avec une médiane de 4 injections (4-5) par patient et une moyenne de 5,0 injections par patient.

Le délai médian entre la fin du protocole de radiothérapie et l'immunothérapie était de 11 jours (0 -30).

2.2. Suivi des animaux

2.2.1. Complications suite aux traitements

Les données collectées concernaient notamment les complications suite aux différentes modalités thérapeutiques.

À la suite de la chirurgie, des complications majeures ont été décrites dans 2 cas seulement : une fistule oro-nasale ayant nécessité une reprise chirurgicale et une déhiscence de plaie ayant nécessité des soins de plaie pendant quelques jours. Elles sont toutes les deux survenues avant la mise en place de la radiothérapie, et toutes les deux chez des animaux ayant subi une exérèse large. Ainsi, des complications majeures étaient présentes dans 50 % (2/4) des animaux ayant subi une exérèse large.

Tableau 25 : Effets secondaires rencontrés suite à la radiothérapie

Type d'effets secondaires observés suite à la radiothérapie	N = 12 chiens ayant présenté des effets secondaires suite à la radiothérapie	
	No	%
Mucite	8	66.7
Pigmentation superficielle	1	8.3
Dépilation	2	16.7
Atteinte de l'état général (anorexie, abattement)	1	8.3

Concernant les complications suite à la radiothérapie, 35.3 % (12/34) des chiens en ont présenté pendant ou suite au protocole dans un délai de quelques jours. Parmi ces animaux, 66.7 % (8/12) des chiens ont présenté une mucite en regard de la zone irradiée. Un seul animal a reçu un traitement symptomatique, une corticothérapie qui a permis une résolution complète de la mucite en quelques jours. Une pigmentation cutanée a été observée dans 8.3 % (1/12) des cas, et une dépilation de la zone d'exérèse chez 16.6 % (2/12) des chiens. Un dernier animal a montré des signes d'abattement et d'anorexie. Le protocole de radiothérapie a donc été interrompu le temps que les signes cliniques disparaissent. Des effets secondaires ont donc été présents dans 12 cas soit dans 35.2 % des animaux. Cependant, dans 11 des 12 cas, les effets secondaires étaient mineurs et localisés. Onze de ces animaux n'ont pas eu besoin de recevoir de traitement particulier, donc 91.6 % (11/12) de ces complications étaient mineures (tableau 25).

Au total, 171 injections vaccinales ont été effectuées sur les 34 chiens de l'étude, avec une médiane de 4 (0-5) injections par patient. Un effet secondaire immédiat a été observé lors de 21 injections. Des effets secondaires ont été observés suite à 16 épisodes de vaccination. Parmi les

cas de l'étude, 41 % (14/34) des chiens n'ont jamais présenté aucun effet secondaire à la vaccination. Dans tous les cas, ces épisodes n'ont pas nécessité la mise en place d'un traitement (tableau 26).

Tableau 26 : Effets indésirables rencontrés après les injections vaccinales

	Les injections ayant été suivies par des effets indésirables à court ou à long terme.	
	No	%
Effets indésirables immédiats et locaux	21	12
Erythème local	7	33
Douleur	9	43
Saignements	3	14
Gonflement	2	10
Effets indésirables généraux	16	9.4
Abattement	8	50
Diarrhée	3	19
Ptyalisme	2	13
Saignements	2	13
Toux	1	6

Ainsi, en combinant les trois approches thérapeutiques, des complications majeures n'ont été observé que dans 8.8 % (3/34) des cas. Un chien a présenté une fistule oro-nasale post-opératoire ayant nécessité une reprise chirurgicale, un deuxième chien a présenté une déhiscence de plaie ayant conduit à des soins locaux pendant quelques jours et un dernier chien a reçu une corticothérapie pendant quelques jours suite à l'apparition d'une mucite post-radique.

Enfin seulement 23.5 % (8/34) des animaux n'ont présenté aucune complication, et 67.6 % (23/34) ont présenté une ou plusieurs complications mineurs, auto-résolutives.

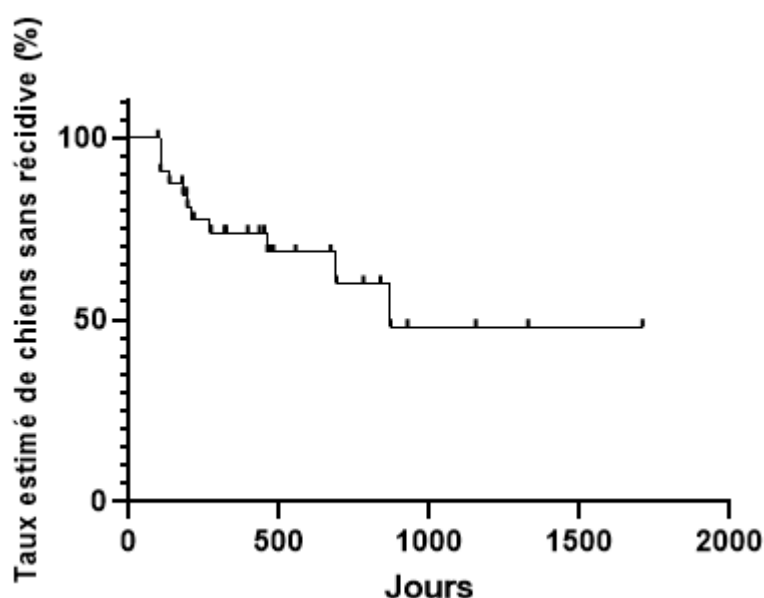
Un autre type de complication a été observé dans notre étude. En effet, 17.6 % (6/34) des animaux ont développé un autre cancer suite à l'approche thérapeutique multimodale que nous étudions.

2.2.2. Récidives locales

2.2.2.1. Taux de récidives global

Pour 85.3 % (29/34) des animaux, l'information sur la présence ou l'absence d'une récurrence locale était disponible. Parmi ces animaux, 38.0 % (11/29) ont présenté une récurrence locale. Le test du Logrank permet une estimation du temps médian de récurrence de 870 jours (figure 5). Dans cette étude de survie, l'événement considéré était l'apparition d'une récurrence locale. La date J0 était la date de la dernière chirurgie avant la mise en place du protocole de radiothérapie. Cette courbe de survie comprend 5 censures : des animaux perdus de vue avant l'apparition d'une récurrence, ou bien des animaux dont l'information sur la présence d'une récurrence au moment du décès manquait.

Figure 5 : Courbe d'estimation de l'apparition des récurrences locales dans notre échantillon



Le protocole de radiothérapie suivi par les chiens ayant présenté une récurrence était le protocole standard (36 Gy répartis en 12 séances identiques) pour 8 d'entre eux. Un d'entre eux n'avait reçu que 33 Gy en 11 séances identiques, un animal n'avait reçu que 27 Gy en 9 séances identiques et un dernier animal avait reçu un protocole hypofractionné (40 Gy réparties en 4 séances de 10 Gy espacées d'une semaine).

Parmi les 11 animaux ayant présenté une récurrence locale, 45% (5/11) ont subi une réintervention chirurgicale, dont trois accompagné d'un protocole de radiothérapie (deux de ces protocoles ont permis l'administration de 36 Gy en 12 séances de 3 Gy et un animal s'est vu administrer 18 Gy en 6 séances de 3 Gy chacune). Un dernier animal a été traité par un protocole de radiothérapie hypofractionné seul pour sa récurrence locale, à raison de 40 Gy délivrés sur 5 séances de 8 Gy chacune.

Parmi les animaux ayant subi une réintervention chirurgicale, deux d'entre eux ont eu une nouvelle récurrence et ont de nouveau été opérés.

2.2.2.2. Taux de récurrence selon les caractéristiques tumorales

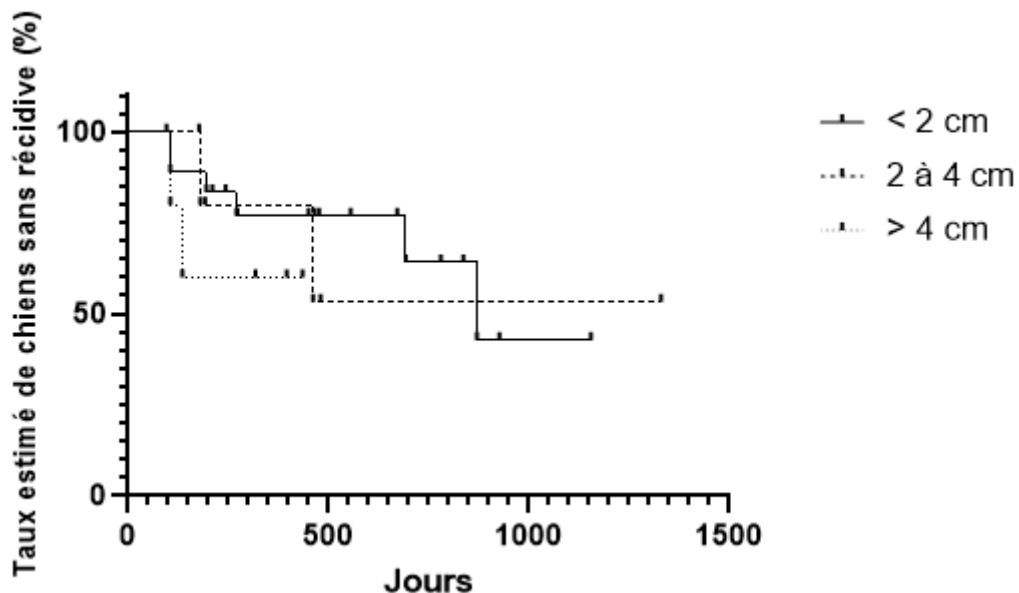
Différents paramètres ont été recherchés comme facteurs favorisant les récurrences locales. Ainsi, ni le stade clinique ni la taille de la tumeur primaire ne semblaient être des facteurs associés à des récurrences locales (figures 6 et 7, tableaux 27 et 28).

Tableau 27 : Médiane de temps d'apparition des récurrences locales selon la taille de la tumeur primaire

		n*	Temps sans récurrence médian (jours)	p	χ ²
Taille de la tumeur primaire	< 2 cm	19	870	0.60	1.03
	2 à 4 cm	6	Non atteint		
	> 4 cm	5	Non atteint		

*n=nombre de cas concernés parmi les 34 chiens présentés dans notre étude

Figure 6 : Comparaison du délai d'apparition des récurrences locales en fonction de la taille de la tumeur primaire



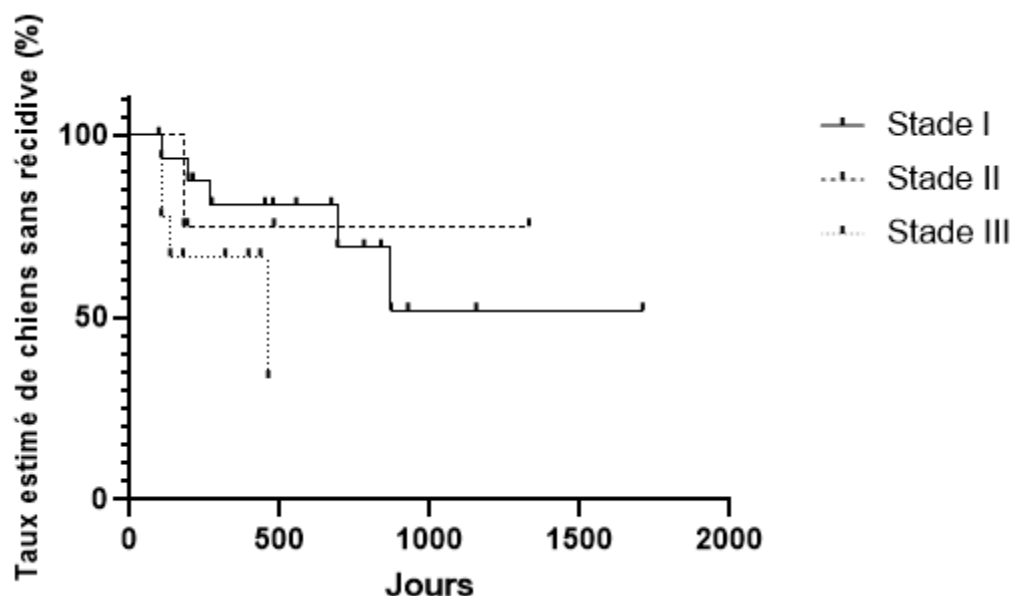
La taille de la tumeur primaire n'a pas d'incidence sur le taux de récurrence dans notre échantillon car aucune différence significative n'a été mise en évidence par le test du Logrank.

Tableau 28 : Médiane de temps d'apparition des récurrences locales selon le stade clinique

		n*	Temps sans récurrence médian (jours)	p	X ²
Stade clinique de la tumeur	I	16	Non atteint	0.26	2.70
	II	4	Non atteint		
	III	10	462		

*n=nombre de cas concernés parmi les 34 chiens présentés dans notre étude

Figure 7 : Comparaison du délai d'apparition des récurrences locales selon le stade clinique



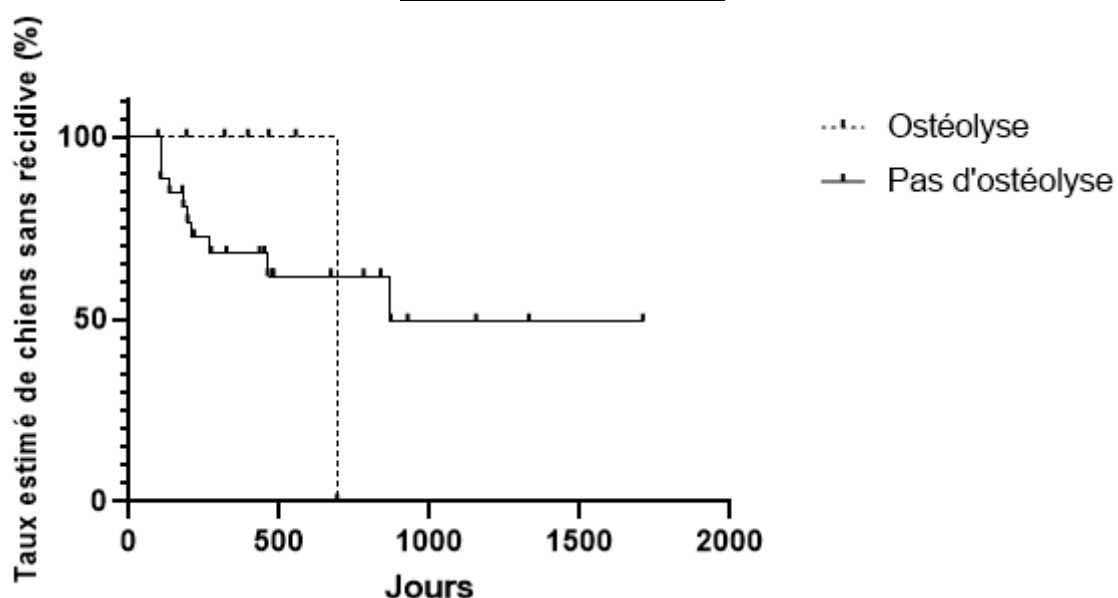
Le stade clinique n'était pas un facteur associé à l'apparition de récurrence locale car le test du Logrank n'a montré aucune différence significative entre les animaux présentés aux différents stades cliniques.

La présence d'ostéolyse était également une exposition d'intérêt précédemment décrite comme facteur prédisposant aux récurrences locales. Ainsi, les animaux ayant présenté une ostéolyse à l'examen tomodensitométrique présentaient un délai médian avant récurrence de 693 jours contre 870 jours pour les chiens ne présentant pas d'ostéolyse au scanner (tableau 29).

Tableau 29 : Résultats du test du Logrank et délai médian d'apparition des de récives selon la présence ou non d'ostéolyse au scanner

		n*	Temps médian d'apparition de récives locales (jours)	Test du Logrank		ICC***
				X ²	p	
Présence d'ostéolyse	Oui	6	693	0.62	0.43	0.46 – 2.19
	Non	28	870			

Figure 8 : Comparaison du délai d'apparition des récives selon la présence d'ostéolyse au scanner



Ainsi la présence d'ostéolyse n'était pas un facteur prédisposant aux récives car aucune différence significative n'a été démontrée par le test du Logrank.

2.2.2.3. Délais de récives selon les caractéristiques des traitements mis en place

De même, d'autres paramètres cliniques ont été recherchés comme étant potentiellement liés à l'apparition de récive locale sur les chiens de notre échantillon. Les paramètres comme une chirurgie préalable, le type d'exérèse, le nombre d'injections vaccinales et le délai entre la chirurgie et le protocole de radiothérapie ont été analysés grâce au test du Logrank (tableau 30, figures 9, 10, 11 et 12).

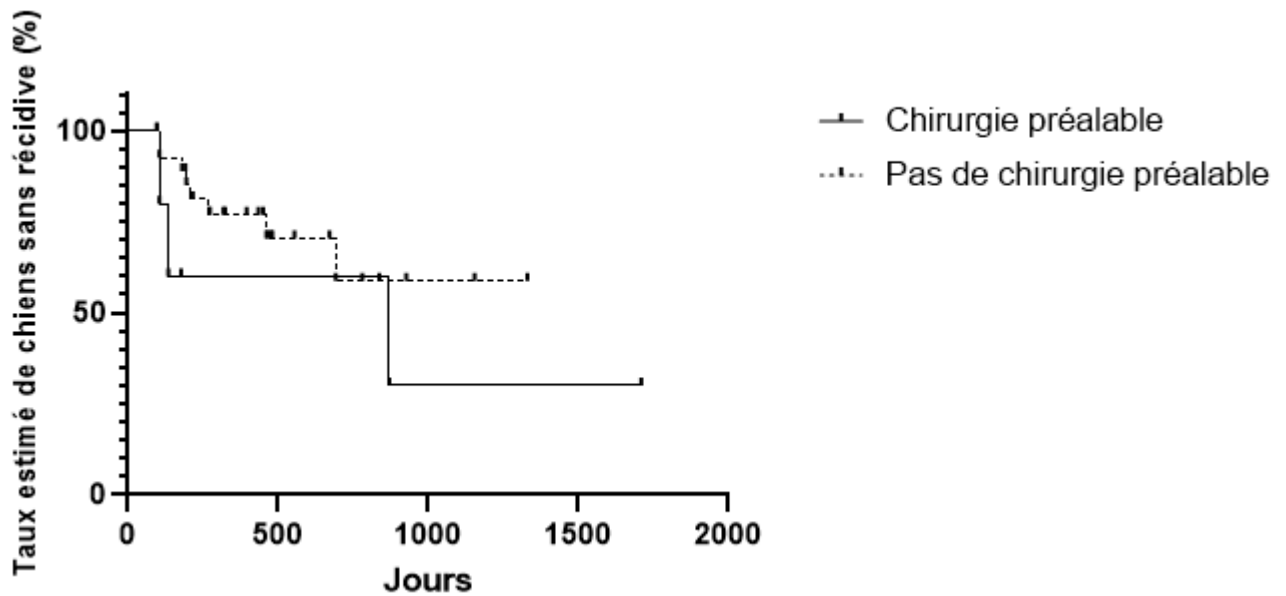
Tableau 30 : Résultats du test du Logrank et temps médian avant l'apparition de récurrences selon différents paramètres

		n*	Temps médian d'apparition de récurrences locales (jours)	Test du Logrank		ICC***
				X ²	p	
Chirurgie préalable	Oui	6	870	1.196	0.27	0.39 – 10.16
	Non	28	Non atteinte			
Type d'exérèse	Large	4	Non atteinte	0.0064	0.94	0.13 – 0.43
	Cyto-réductrice	19	870			
Nombre d'injections vaccinales	4 injections	18	870	0.37	0.54	0.38 – 4.7
	5 injections ou plus	16	Non atteinte			
Délai entre la chirurgie et la radiothérapie	< 21 jours	16	Non atteinte	0.12	0.72	0.24 – 2.7
	≥ 21 jours	18	870			

*n=nombre de cas concernés parmi les 34 chiens présentés dans notre étude

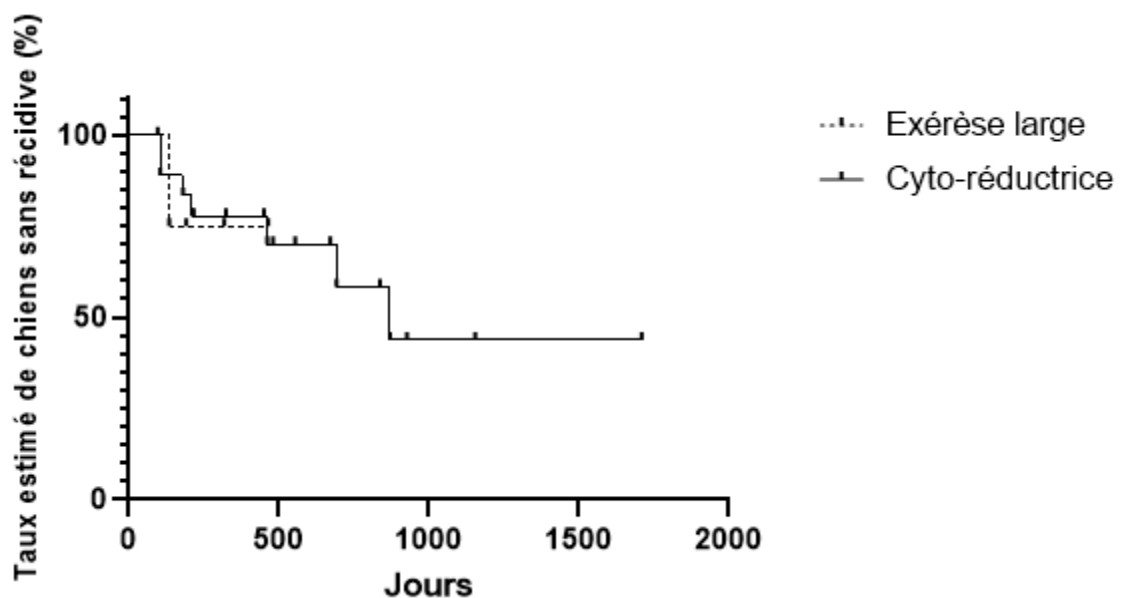
**ICC = intervalle de confiance à 95 %

Figure 9 : Comparaison du délai d'apparition des récidence locales selon l'existence d'une chirurgie préalable



L'existence de plus d'une chirurgie avant le protocole de radiothérapie ne prédisposait ainsi pas à l'apparition d'une récidence locale car le test du Logrank n'a montré aucune différence significative.

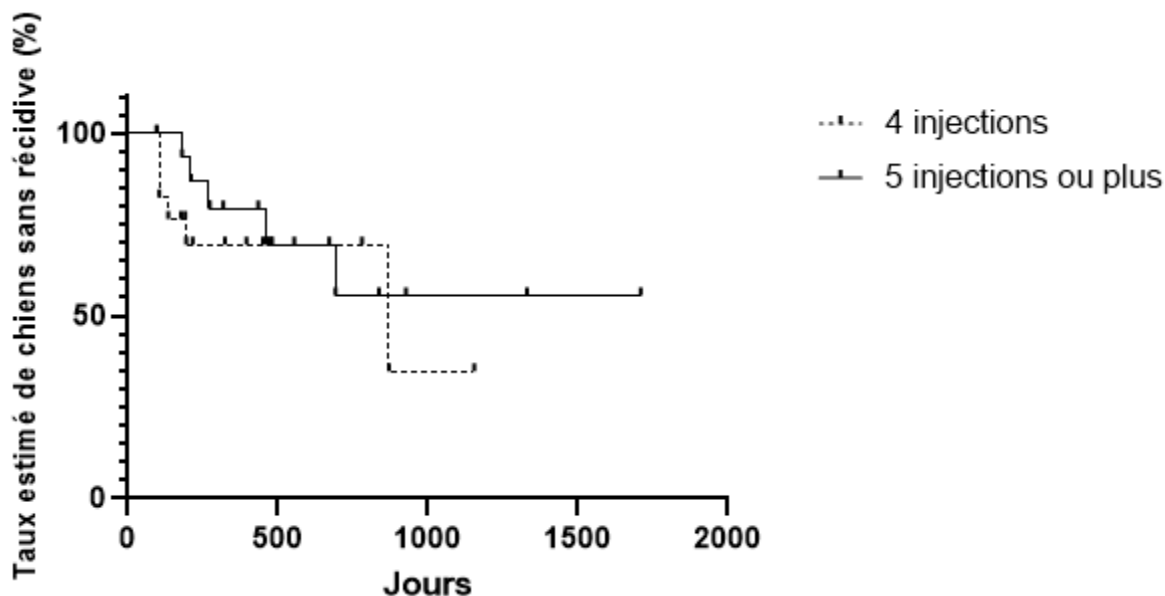
Figure 10 : Comparaison du délai d'apparition des récidence locales selon le type de chirurgie effectuée



Le type d'exérèse ne prédisposait pas aux récurrences dans notre échantillon car le test du Logrank n'a montré aucun résultat significatif.

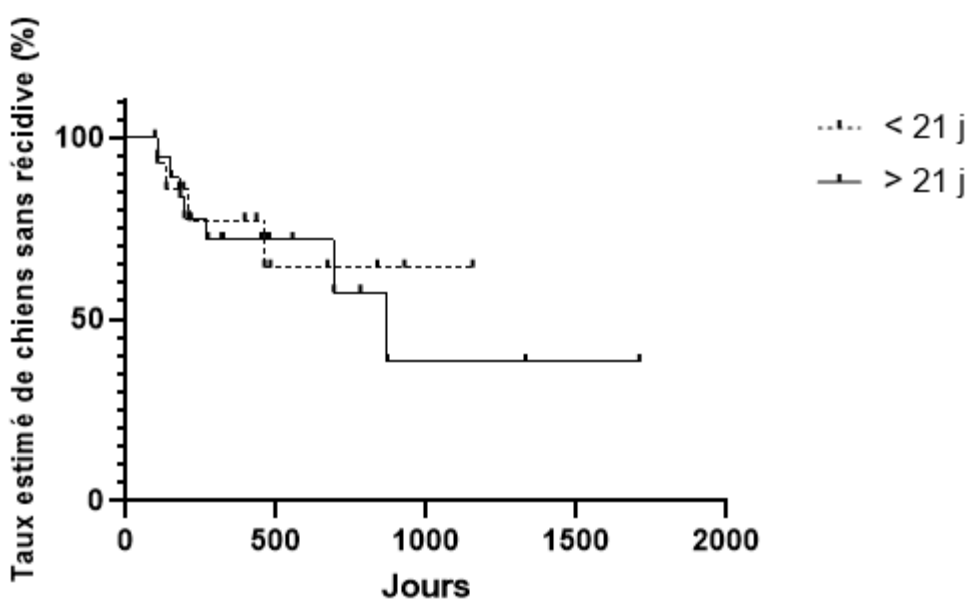
Dans notre échantillon, la présence d'ostéolyse ne prédisposait pas non plus à l'apparition de métastases car le test du Logrank n'a montré aucune différence significative.

Figure 11 : Comparaison du délai d'apparition de récurrences locales selon le nombre d'injections



Le nombre d'injection : 4 injections, (soit seulement la primo-vaccination) ou plus de 4 (au moins un rappel ou « boost » réalisé) ne semblait pas associé au taux de récurrence dans notre échantillon car le test du logrank n'a montré aucune différence significative.

Figure 12 : Comparaison du délai d'apparition de récurrences locales selon le délai entre la chirurgie et la radiothérapie



Le délai entre la chirurgie et le début du protocole de radiothérapie ne prédisposait pas au taux de récurrence dans notre échantillon, car le test du Logrank n'a montré aucune différence significative.

En conclusion, nous n'avons trouvé aucun facteur dont l'exposition était associée à une différence significative quant à l'apparition de récurrence locale.

2.2.3. Les métastases

Dans notre échantillon, 32.3% (11/34) des animaux ont présenté des métastases sur différents sites, détectés par imagerie et/ou examen cytologique (tableau 31).

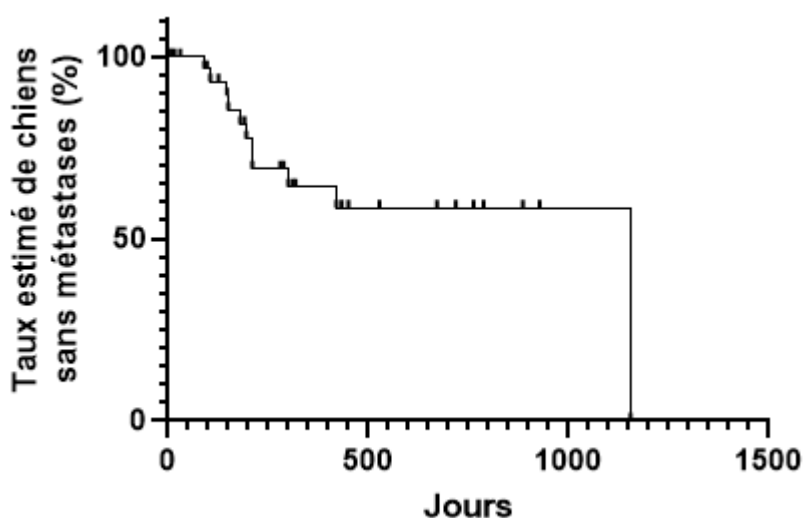
Tableau 31 : Répartition anatomique des différentes métastases détectées

Localisation des différentes métastases des chiens atteints de mélanomes buccaux	32.3% (11/34) chiens ayant présenté des métastases	
	No	%
Pulmonaires	7	63.6
Nœuds lymphatiques loco-régionaux	3	27.2
Cutané	1	9.1

Sur les 3 animaux ayant présenté des métastases aux nœuds-lymphatiques loco-régionaux, 3 ont eu une excision de ces nœuds lymphatiques.

Les métastases détectées sont apparues avec une médiane de 1155 jours d'après une estimation par une courbe de survie. Pour cette analyse de survie, l'apparition de métastases étant l'événement recherché, les animaux n'ayant pas présenté de métastases ont été considérés comme « perdus de vue » depuis le dernier contrôle d'imagerie (figure 13). En effet, après ce dernier contrôle, les animaux ont pu développer des métastases qui ont pu ne pas être remarquées.

Figure 13 : Courbe d'estimation d'apparition des métastases dans notre échantillon



Parmi les 11 animaux ayant présenté des métastases, 82% (9/11) des chiens avaient reçu 4 injections vaccinales (primo-vaccination seulement), 9% (1/11) avaient reçu 6 injections et 9% (1/11) avaient reçu 8 injections.

Etant donné le faible effectif, et le manque de moyens mis en œuvre pour détecter les métastases, aucune analyse de survie n'a été effectuée. En effet, pour les animaux n'ayant pas présenté de métastases, nous avons regardé le délai entre le décès ou la perte de vue, et le dernier contrôle en imagerie (ce contrôle pouvant être réalisé par radiographie thoracique). Le délai médian était de 209 jours (76 – 328), et notamment, 3 animaux n'ont eu qu'un seul examen d'imagerie, lors du bilan d'extension, sans aucun autre contrôle jamais effectué.

2.2.4. Mortalité des animaux

Sur les 34 chiens de l'étude, 3 ont été perdus de vue au cours du suivi, et 1 animal était encore vivant à la fin de l'étude. L'information sur les circonstances du décès était disponible dans les 30 cas restants.

Parmi les 30 chiens décédés 23 ont été euthanasiés et 7 sont morts de mort naturelle, chez eux.

Le groupe des animaux décédés chez eux a eu une médiane de survie de 795 jours (406 – 896) et celui des animaux euthanasiés chez eux a eu une médiane de survie de 477 jours (273 - 778). Trois animaux ont été « perdus de vue » et aucune information concernant la nature ou la date de leur décès ne nous est parvenue. De plus, un animal était encore vivant à la fin de l'étude.

Concernant les 23 chiens euthanasiés chez leurs vétérinaires traitants, 4 (17.4%) avaient été diagnostiqués auparavant comme ayant des métastases, 2 (8.7%) ont présenté une récurrence locale, et 5 (21.7%) avaient présenté des métastases et avaient eu une récurrence locale. Trois chiens ont été euthanasiés respectivement pour un syndrome vestibulaire, un hémangiosarcome et une hémorragie buccale très importante (tableau 32).

Tableau 32 : Causes des euthanasies

	N = 23 chiens euthanasiés	
	No	%
Forte dégradation de l'état général	6	26.1
Métastases	4	17.4
Récurrence locale	2	8.7
Récurrence locale et métastases	5	21.7
Syndrome vestibulaire	1	4.3
Hémorragie très importante	1	4.3
Hémangiosarcome	1	4.3

Six animaux (26.1 %) ont été euthanasiés chez leurs vétérinaire traitant sans signe spécifique, uniquement une forte dégradation de l'état général. Pour ces animaux, le temps médian entre le décès et le dernier contrôle d'imagerie était de 249 jours (65.5-587.5).

Dans cette partie nous nous sommes également intéressés à l'estimation de la courbe de survie selon la méthode Kaplan-Meier. Nous verrons dans un premier temps l'analyse de survie globale de la population qui nous intéresse, il s'agira ensuite de mettre en évidence les expositions d'intérêt qui ont pu avoir une incidence sur la rapidité de survenue des événements (décès de

l'animal, récurrence locale ou apparition de métastases). Dans ce cas, le test du Logrank a été utilisé. Les courbes étaient significativement différentes si p était inférieur à 0.05, au risque d'erreur $\alpha = 5\%$.

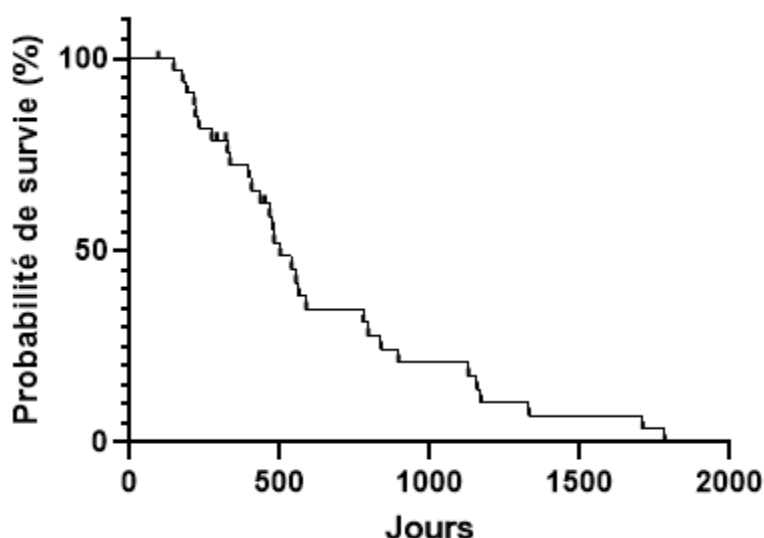
Dans cette analyse de survie, la date J0 était celle de la dernière chirurgie qui précédait le protocole de radiothérapie. Cette étude comportait 4 censures : 3 « perdus de vue » et un animal encore vivant à la fin de l'étude. Dans tous les cas, ces censures étaient non informatives.

2.2.4.1. Courbe de survie globale

La médiane de survie des chiens de notre étude était de 502 jours.

Les taux de survie à 1, 2 et 3 ans sont respectivement de 72.2 %, 34.7 % et 20.8 %. L'animal au temps de survie le plus court est un animal perdu de vue au bout de 95 jours. Le premier animal décédé est mort au bout de 146 jours. L'animal ayant survécu le plus longtemps est décédé au bout de 1784 jours (figure 14).

Figure 14 : Courbe de survie globale de 34 chiens présentant un mélanome buccal traité par un association chirurgie radiothérapie immunothérapie au centre MICEN VET



2.2.4.2. Expositions relatives à la description de l'échantillon.

2.2.4.2.1. Les expositions relatives au signalement des animaux

Nous avons tenté d'évaluer les influences de différentes expositions d'intérêt sur la survie des chiens atteints de mélanome buccal. Nous avons commencé par évaluer l'influence des paramètres qui nous ont permis de décrire la population. L'influence du sexe, du poids et de l'âge au début du traitement a été analysée :

Les mâles étaient discrètement surreprésentés avec un ratio mâle femelle de 1.4 :1. Le temps de survie médian des femelles était de 480 jours et le temps de survie médian des mâles était de 554 jours (tableau 33, figure 15).

Tableau 33 : Résultats du test du Logrank et valeurs de temps et taux de survie en fonction du sexe des animaux de notre étude

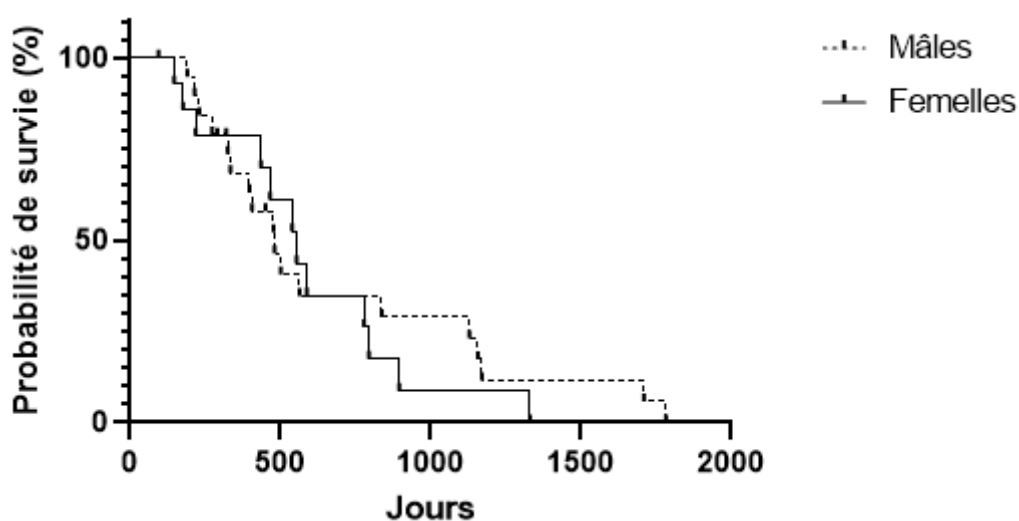
		n*	TSM** (jours)	Taux de survie (%)			Test du Logrank		ICC***
				1 an	2 ans	3 ans	X ²	p	
Sexe	Femelles	14	480	71	36	14	0.26	0.61	0.39 – 1.76
	Mâles	20	554	70	35	20			

*n=nombre de cas concernés parmi les 34 chiens présentés dans notre étude

**TSM = Temps de Survie Médian

***Intervalle de confiance à 95 %

Figure 15 : comparaison des courbes de survie des femelles et des mâles



Le sexe n'a pas d'incidence sur la durée de survie des animaux dans notre échantillon. Aucune différence significative n'a été mise en évidence grâce au test du Logrank.

La valeur de 20 kg a été choisie de façon dogmatique. Les chiens de moins de 20 kg ont été considérés comme de petit format, et les chiens de plus de 20 kg comme grand format. Ainsi, les animaux de moins de 20 kg ont obtenu une médiane de survie de 564 jours contre 421 jours pour les chiens de plus de 20 kg (tableau 34, figure 16).

Tableau 34 : Résultats du test du Logrank et valeurs de temps et taux de survie en fonction du poids des animaux de notre étude

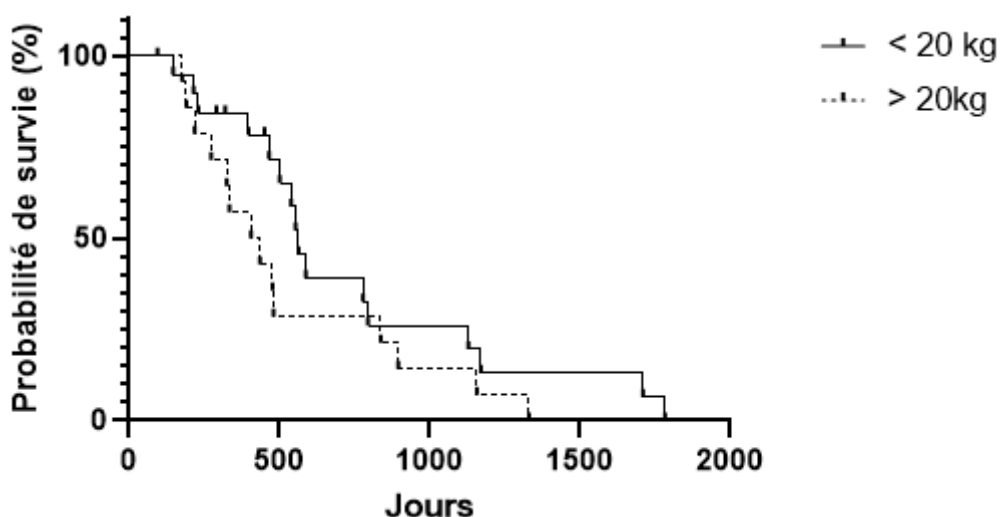
		n*	TSM** (jours)	Taux de survie (%)			Test du Logrank		ICC***
				1 an	2 ans	3 ans	χ^2	p	
Poids	< 20 kg	20	564	75	35	25	1.96	0.16	0.29 – 1.29
	> 20 kg	14	421	64	36	21			

*n=nombre de cas concernés parmi les 34 chiens présentés dans notre étude

**TSM = Temps de Survie Médian

***Intervalle de confiance à 95 %

Figure 16 : Comparaison des courbes de survie en fonction du poids



Cependant, aucune association statistique n'a été mise en évidence par le test de Logrank quant au poids des animaux de notre étude.

Une comparaison du taux de survie des animaux en fonction de l'âge à la présentation a également été effectuée. Les animaux étaient séparés en deux groupes selon leur âge lors de l'exérèse chirurgicale. La médiane d'âge était alors de 11.1 ans. Les chiens de plus de 11.1 ans ont ainsi obtenu une médiane de survie estimée à 539 jours, et les chiens présentés à moins de 11.1 ans ont présenté une médiane de survie de 502 jours (tableau 35, figure 17).

Tableau 35 : Résultats du test du Logrank et valeurs de temps et taux de survie en fonction de l'âge des animaux au début du protocole

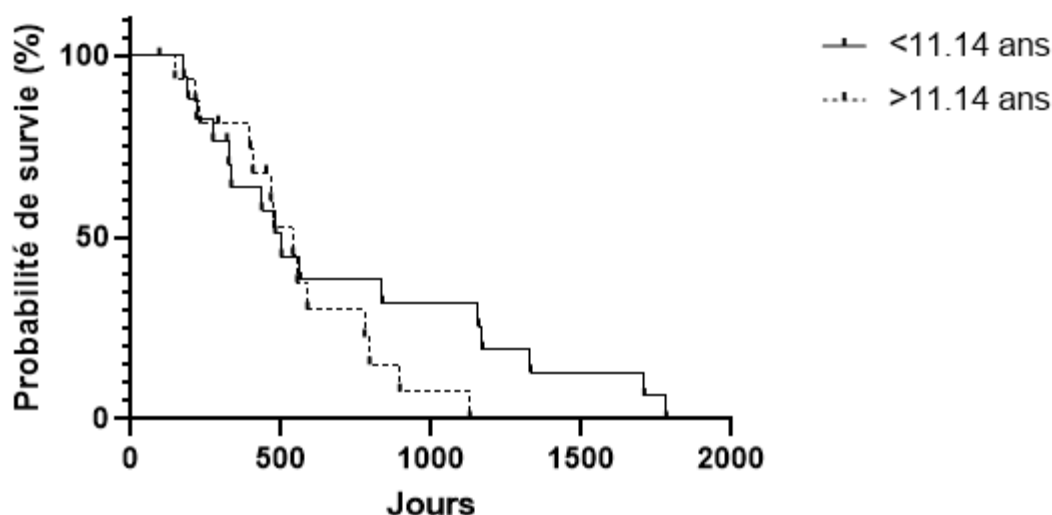
		n*	TSM** (jours)	Taux de survie (%)			Test du Logrank		ICC***
				1 an	2 ans	3 ans	X ²	p	
Age	<11.1 ans	17	502	65	41	35	1.37	0.24	0.32 – 1.41
	≥11.1 ans	17	539	76	29	12			

*n=nombre de cas concernés parmi les 34 chiens présentés dans notre étude

**TSM = Temps de Survie Médian

***Intervalle de confiance à 95 %

Figure 17 : Comparaison des courbes de survie en fonction de l'âge en début de protocole des animaux de notre étude



Ainsi, dans notre échantillon, le sexe, l'âge à la présentation et le poids des animaux n'ont pas de lien statistique significatif avec le temps de survie des animaux.

Certains animaux présentaient une affection concomitante au mélanome buccal. La présence d'une maladie intercurrente a ainsi été analysée comme potentiel facteur pronostique de

survie des chiens de notre échantillon. Les chiens présentant une affection concomitante ont donc obtenu une médiane de survie de 554 jours, contre 480 jours de médiane de survie pour les animaux ne présentant pas d'affection concomitante (tableau 36, figure 18).

Tableau 36 : Résultats du test du Logrank et taux de survie selon la présence ou l'absence d'une maladie intercurrente

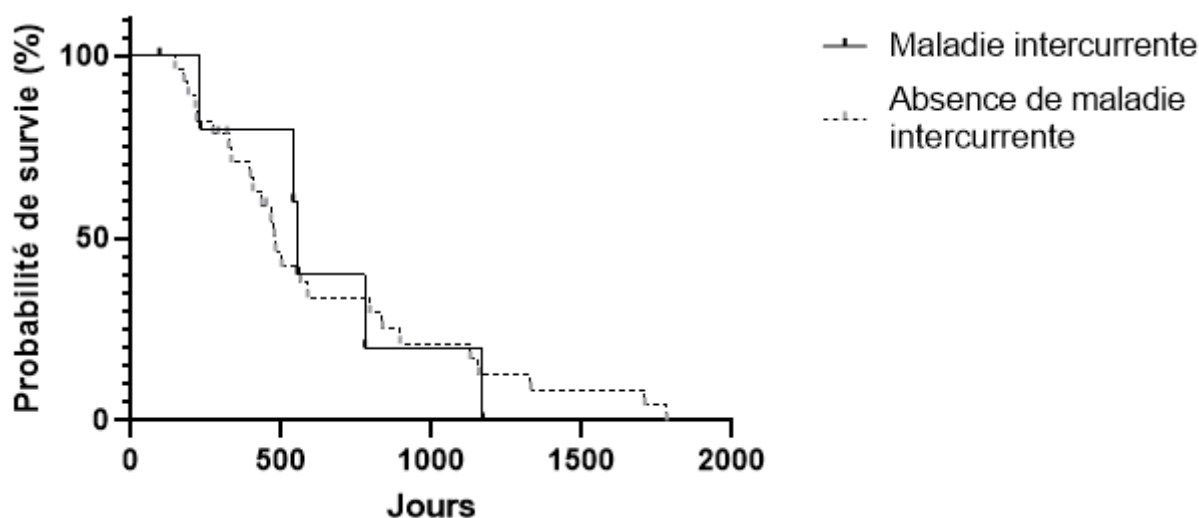
		n*	TSM** (jours)	Taux de survie (%)			Test du Logrank		ICC***
				1 an	2 ans	3 ans	X ²	p	
Maladie intercurrente	Oui	6	554	83	50	33	0.0017	0.97	0.38 – 2.55
	Non	28	480	68	32	28			

*n=nombre de cas concernés parmi les 34 chiens présentés dans notre étude

**TSM = Temps de Survie Médian

***Intervalle de confiance à 95 %

Figure 18 : Comparaison des courbes de survie selon la présence d'une maladie intercurrente



La présence ou l'absence d'une maladie intercurrente antérieure au mélanome buccal n'avait pas d'incidence sur la survie des animaux de notre échantillon car aucune différence significative n'a été mise en évidence par le test du Logrank.

2.2.4.2.2. Les expositions relatives aux caractéristiques tumorales

De même, plusieurs expositions d'intérêt ont été testées par le test du Logrank. Ainsi, la localisation buccale, la pigmentation de la tumeur primitive, le nombre de mitoses par champ au fort grossissement ou l'infiltration métastatique des nœuds lymphatiques loco-régionaux sont des

éléments qui n'ont pas montré d'influence statistique significative sur la durée de survie des animaux dans notre échantillon.

Les chiens ayant présenté une tumeur primaire rostralement ont ainsi eu une médiane de survie de 477 jours contre 539 jours de médiane de survie pour les animaux ayant présenté une tumeur primaire dans la partie caudale de la cavité buccale (tableau 36, figure 19).

Tableau 37 : Résultats du test du Logrank selon la localisation de la tumeur primaire dans la cavité buccale

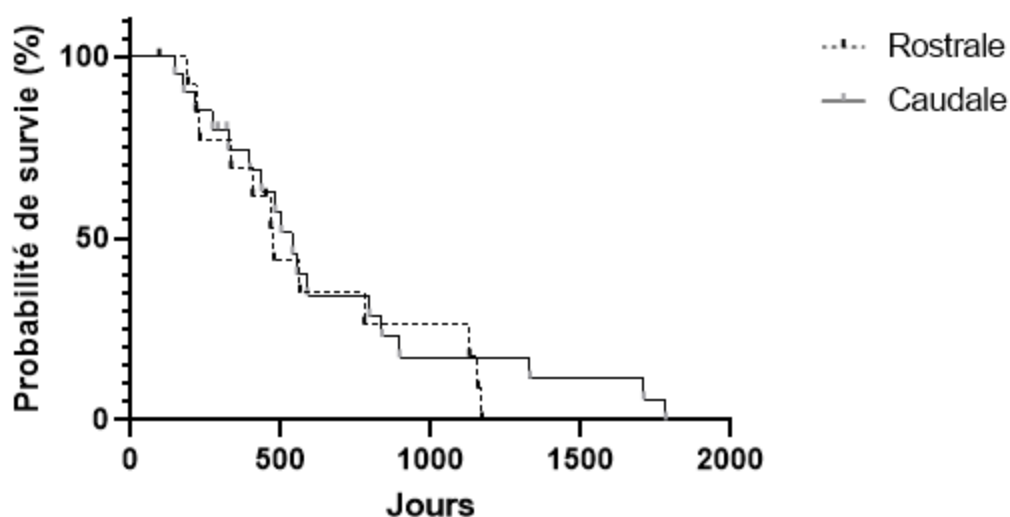
Localisation		n*	TSM**	Taux de survie			Test du Logrank		ICC***
				1 an	2 ans	3 ans	X ²	p	
Localisation	Rostrale	14	477	61	36	29	0.36	0.55	0.59 – 2.63
	Caudale	20	539	70	35	20			

*n=nombre de cas concernés parmi les 34 chiens présentés dans notre étude

**TSM = Temps de Survie Médian

***Intervalle de confiance à 95 %

Figure 19 : Comparaison des courbes de survie selon la position de la tumeur primaire dans la cavité buccale



La position rostrale ou caudale dans la cavité buccale n'avait ainsi pas d'influence sur la survie des animaux de notre échantillon, car le test du Logrank n'a montré aucune association significative.

La pigmentation de la tumeur primaire est également une caractéristique qui a été analysée. Les animaux avec une tumeur primitive pigmentée ont présenté une médiane de survie de 1171 jours contre 502 jours pour les animaux avec une tumeur primitive achromique (tableau 37, figure 20).

Tableau 38 : Résultats du test du Logrank selon la pigmentation de la tumeur primaire

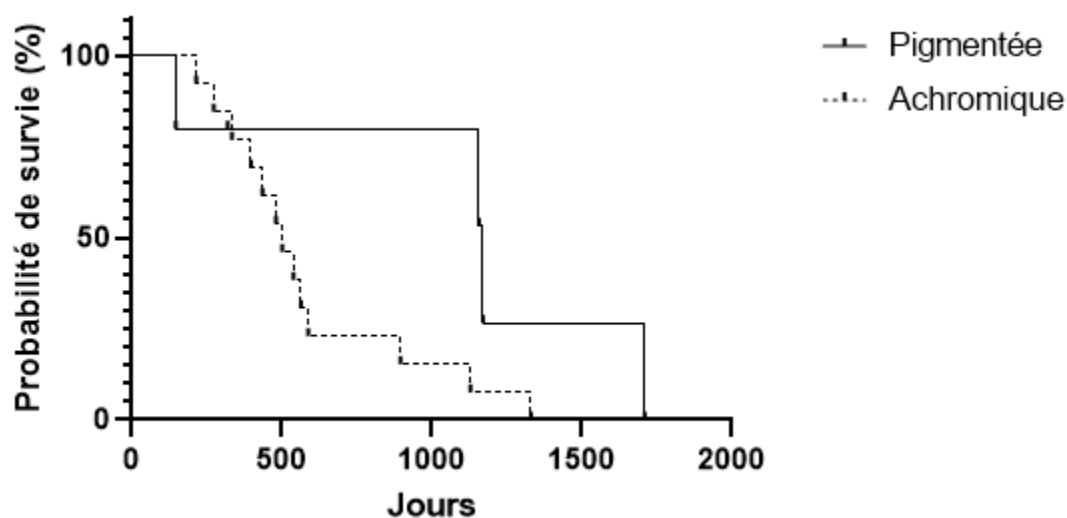
		n*	TSM** (jours)	Taux de survie (%)			Test du Logrank		ICC***
				1 an	2 ans	3 ans	X ²	p	
Pigmentation	Pigmentée	5	1171	80	80	80	3.01	0.08	0.16 – 1.10
	Non pigmentée	13	502	85	31	23			

*n=nombre de cas concernés parmi les 34 chiens présentés dans notre étude

**TSM = Temps de Survie Médian

***Intervalle de confiance à 95 %

Figure 20 : Comparaison des courbes de survie selon le caractère pigmenté des tumeurs primaires



Bien que les animaux ayant présenté une tumeur primaire pigmentée semblent avoir vécu plus longtemps, aucune association n'a pu être établie entre le caractère pigmenté ou non de la tumeur primaire et le temps de survie des animaux car le test du Logrank n'a montré aucune association significative.

Le nombre de mitoses par champ au fort grossissement déterminé par les analyses histologiques est une exposition qui a aussi été analysée. Les animaux ayant moins de deux

mitoses par champ au fort grossissement ont présenté une médiane de survie de 502 jours contre 436 jours pour les animaux avec plus de deux mitoses par champ au fort grossissement (tableau 39, figure 21).

Tableau 39 : Résultats du test du Logrank et taux de survie selon le nombre de mitose par champ au fort grossissement à l'examen histologique

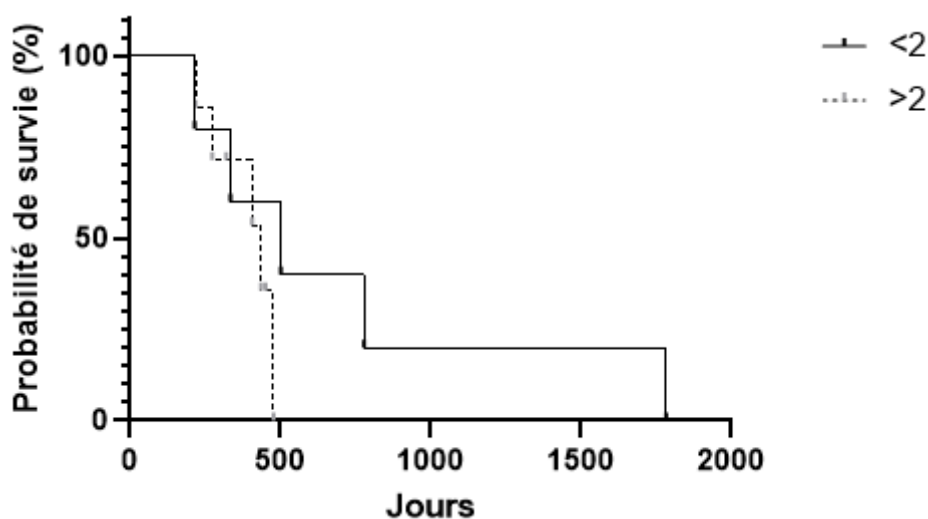
	n*	TSM** (jours)	Taux de survie (%)			Test du Logrank		ICC***	
			1 an	2 ans	3 ans	X ²	p		
Nombre de mitoses par champ au fort grossissement	< 2	5	502	80	60	20	1.12	0.29	0.16 – 2.08
	> 2	7	436	71	0	0			

*n=nombre de cas concernés parmi les 34 chiens présentés dans notre étude

**TSM = Temps de Survie Médian

***Intervalle de confiance à 95 %

Figure 21 : Comparaison des courbes de survie en fonction du nombre de mitoses par champ au fort grossissement



Le nombre de mitoses par champ au fort grossissement n'était ainsi pas un facteur associé à la survie des animaux car le test du Logrank n'a montré aucune association significative.

Une infiltration métastatique des nœuds lymphatiques loco-régionaux au moment du diagnostic est un potentiel facteur d'intérêt. Les chiens avec une infiltration ont montré une médiane de survie à 466 jours contre 502 jours de médiane de survie pour les chiens sans infiltration métastatique des nœuds lymphatiques loco-régionaux (tableau 40, figure 22).

Tableau 40 : Résultats du test du Logrank et taux de survie selon l'infiltration métastatique loco-régionale au moment du diagnostic

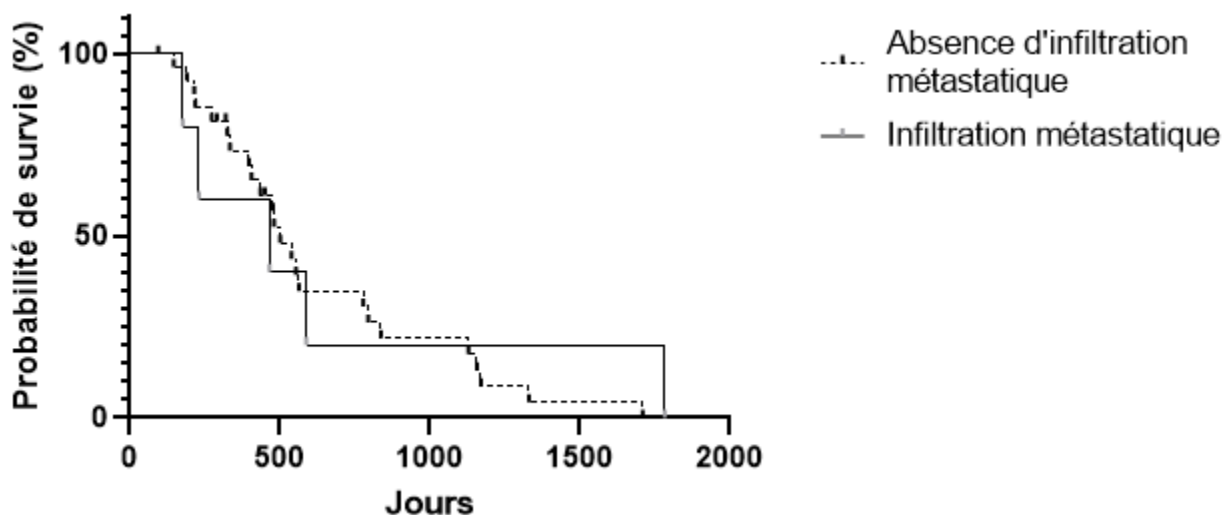
		n*	TSM** (jours)	Taux de survie (%)			Test du Logrank		ICC***
				1 an	2 ans	3 ans	X ²	p	
Infiltration métastatique des nœuds lymphatiques loco-régionaux	Oui	5	466	80	40	20	0,18	0,67	0,49 – 2,99
	Non	28	502	68	32	21			

*n=nombre de cas concernés parmi les 34 chiens présentés dans notre étude

**TSM = Temps de Survie Médian

***Intervalle de confiance à 95 %

Figure 22 : Comparaison des courbes de survie selon l'infiltration métastatique loco-régionale au moment du diagnostic



L'infiltration métastatique loco-régionale n'était donc pas un facteur pronostique négatif car aucune association significative n'a été mise en évidence par le test du Logrank.

L'ostéolyse détectée à l'examen tomodensitométrique est un dernier élément de description de la tumeur primaire ayant été analysé. Les chiens présentant une ostéolyse au premier bilan d'extension ont présenté une médiane de survie de 466 jours contre 502 jours pour les animaux sans ostéolyse (tableau 41, figure 23).

Tableau 41 : Résultats du test du Logrank et taux de survie selon la présence d'ostéolyse à l'examen tomodensitométrique

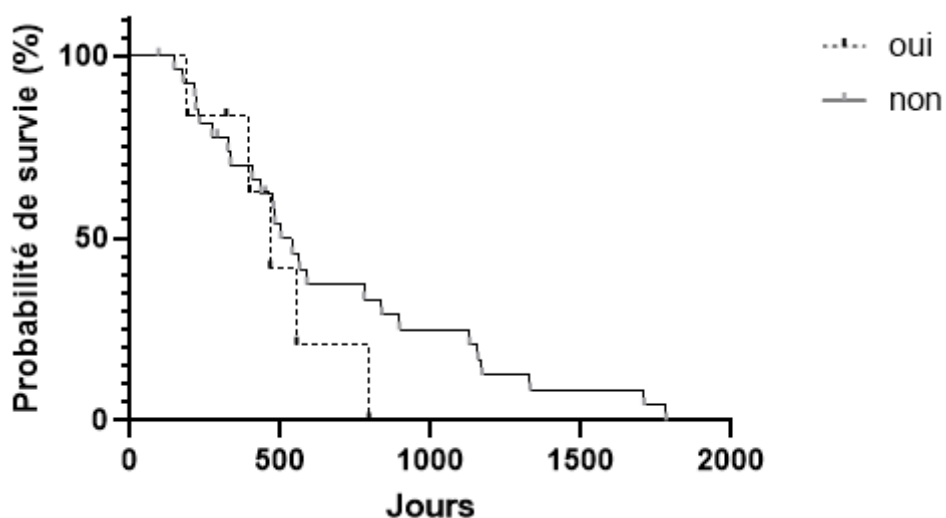
		n*	TSM** (jours)	Taux de survie (%)			Test du Logrank		ICC***
				1 an	2 ans	3 ans	X ²	p	
Présence d'ostéolyse	Oui	6	466	83	33	0	1,030	0,31	0,52 – 5,06
	Non	28	502	68	36	25			

*n=nombre de cas concernés parmi les 34 chiens présentés dans notre étude

**TSM = Temps de Survie Médian

***Intervalle de confiance à 95 %

Figure 23 : Comparaison des courbes de survie selon la présence d'ostéolyse au scanner



L'ostéolyse n'était pas un facteur pronostique négatif dans notre échantillon car aucune association significative n'a été mise en évidence par le test du Logrank.

Le stade clinique a aussi été analysé comme facteur prédictif de la survie des animaux de notre échantillon (tableau 42, figure 24).

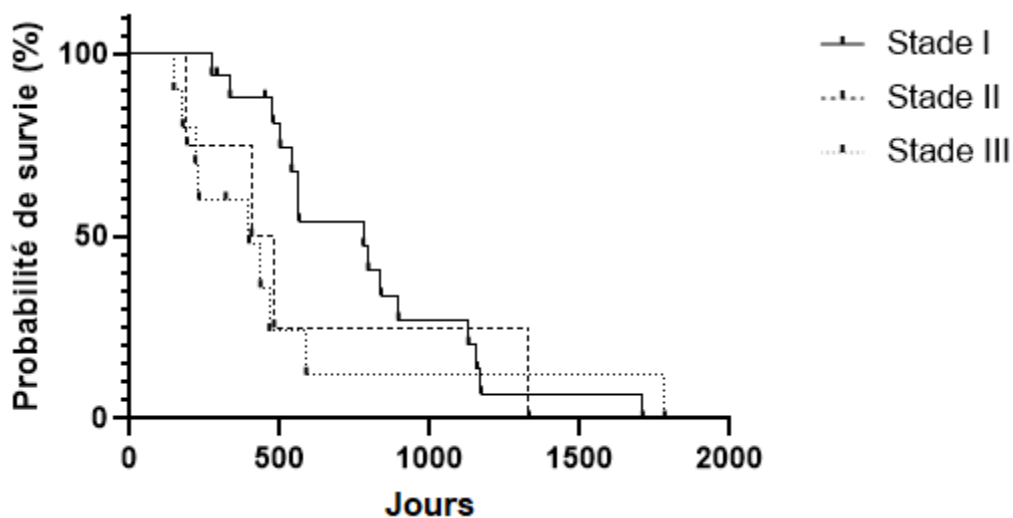
Tableau 42 : Valeur de temps et temps de survie selon les stades cliniques de l’OMS pour les chiens de notre échantillon

		n*	TSM** (jours)	Taux de survie (%)			X ²	p
				1 an	2 ans	3 ans		
Stade clinique selon l’OMS	I	17	778	88	59	29	1.71	0.42
	II	4	443	100	50	25		
	III	10	397	50	20	10		

*n=nombre de cas concernés parmi les 34 chiens présentés dans notre étude

**TSM = Temps de Survie Médian

Figure 24 : Comparaison des courbes de survie en fonction du stade clinique initial



Le stade clinique à la présentation n’était donc pas un facteur pronostique négatif dans notre échantillon, car aucune association significative n’a été mise en évidence par le test du Logrank.

La taille de la tumeur initiale était rapportée dans 30 cas. Elle était de moins de 2 cm dans sa plus grande dimension, pour 20 animaux. Elle se situait entre 2 et 4 cm dans sa plus grande dimension pour 5 animaux, et plus de 4 cm dans sa plus grande dimension pour 5 animaux (tableau 43, figure 25).

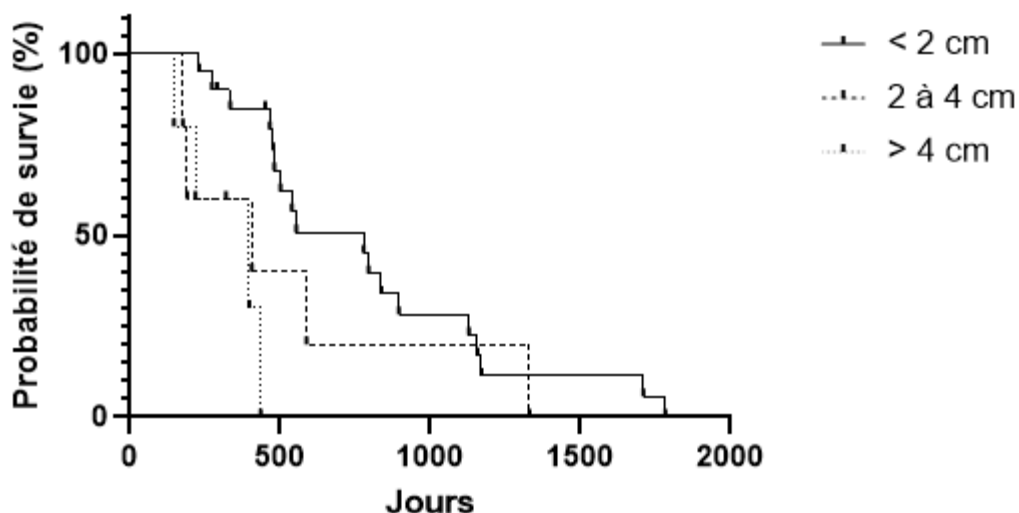
Tableau 43 : Valeur de temps et temps de survie selon la taille de la tumeur primaire pour les chiens de notre échantillon

	Taille de la tumeur primaire	n*	TSM** (jours)	Taux de survie (%)			X ²	p
				1 an	2 ans	3 ans		
	≤ 2cm	20	546.5	80	45	25	9.32	0.0095
	> 2cm et ≤ 4cm	5	406	60	20	20		
	> 4cm	5	319	20	0	0		

*n=nombre de cas concernés parmi les 34 chiens présentés dans notre étude

**TSM = Temps de Survie Médian

Figure 25 : Comparaison des courbes de survie en fonction de la taille de la tumeur initiale



Une association significative a ainsi été mise en évidence par le test du Logrank. Les animaux présentant une tumeur de plus petite taille vivaient significativement plus longtemps que les animaux présentant une tumeur primaire de grande taille.

2.2.4.2.3. Expositions relatives aux différentes modalités thérapeutiques

L'information sur les marges d'exérèse était donnée dans 17 cas sur les 34 animaux de l'étude. Dans 9 cas, les marges ont été considérées comme saines à l'examen histologique et les animaux ont alors présenté une médiane de survie de 480 jours ; tandis que 8 animaux présentaient des cellules cancéreuses aux marges de l'exérèse, leur médiane de survie était alors de 1013 jours (tableau 43, figure 26).

Tableau 44 : Résultats du test du Logrank et valeurs de temps et taux de survie en fonction des marges d'exérèse

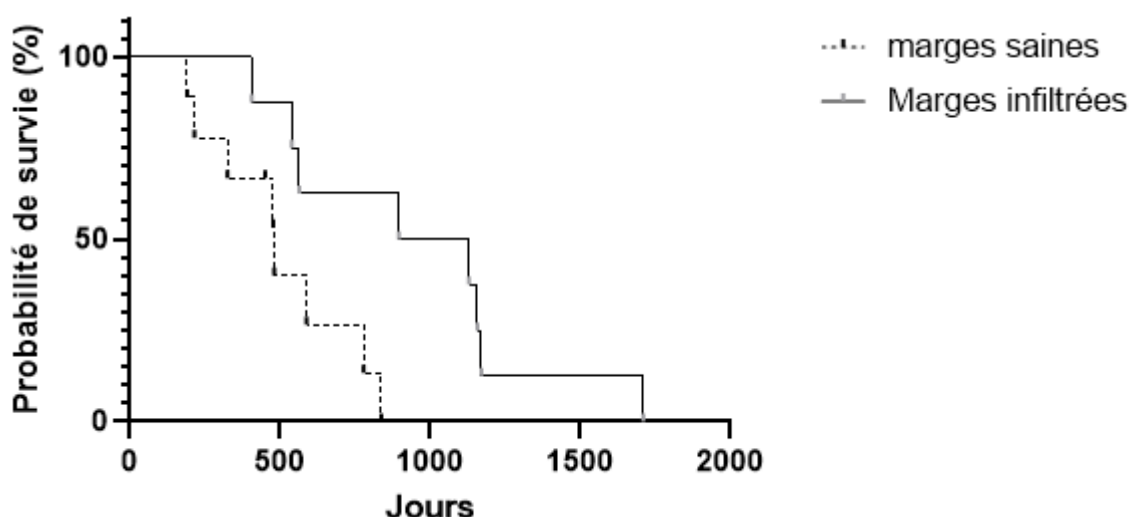
	n*	TSM** (jours)	Taux de survie (%)			Test du Logrank		ICC***	
			1 an	2 ans	3 ans	X ²	p		
Marges d'exérèse	Saines	9	480	78	33	0	5.94	0.015	0.93 – 8.68
	Non saines	8	1013	100	75	55			

*n=nombre de cas concernés parmi les 34 chiens présentés dans notre étude

**TSM = Temps de Survie Médian

***Intervalle de confiance à 95 %

Figure 26 : Comparaison des courbes de survie des animaux ayant eu des marges saines et des animaux ayant eu des marges infiltrées après leur exérèse chirurgicale



D'après le test du Logrank, les animaux avec des marges d'exérèse non saines ont présenté un temps de survie significativement plus long que les animaux présentant des marges

d'exérèse saines. Cependant, l'intervalle de confiance de comprenant la valeur 1, ce résultat n'est pas significatif.

Parmi les patients de notre étude certains avaient subi une exérèse large. Le type d'exérèse a donc été une caractéristique étudiée comme potentiel facteur pronostique. Les chiens ayant suivi une exérèse large avaient ainsi une médiane de survie de 328.5 jours contre 554 jours pour les chiens avec une chirurgie cyto-réductrice (tableau 45, figure 27).

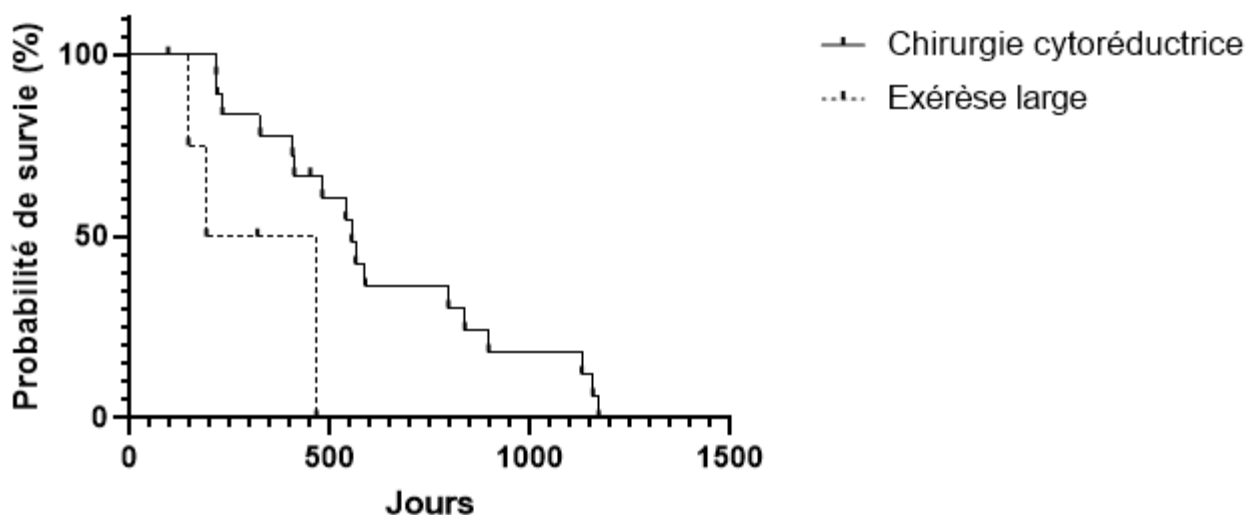
Tableau 45 : Résultats du test du Logrank et taux de survie selon le type d'exérèse réalisée en début de protocole

Type d'exérèse	Chirurgie cytoréductrice	n*	TSM** (jours)	Taux de survie (%)			Test du Logrank		ICC***
				1 an	2 ans	3 ans	X ²	p	
	Chirurgie cytoréductrice	19	554	77.8	36.4	18.2	5.27	0.021	0.034 – 2.21
	Exérèse large	4	328.5	50	0	0			

*n=nombre de cas concernés parmi les 34 chiens présentés dans notre étude

**TSM = Temps de Survie Médian

Figure 27 : Comparaison des courbes de survie selon le type de chirurgie réalisé



L'intervalle de confiance à 95% comprenant la valeur 1 (0.034 – 2.21), la différence entre les deux types n'est pas significative dans notre échantillon bien qu'elle semble en faveur des animaux ayant suivi une chirurgie cyto-réductrice.

Les dates des différents traitements ont également été notées. Ainsi, pour chaque animal, les dates des chirurgies, des radiothérapies et des injections vaccinales étaient disponibles. Trois données peuvent ainsi être exploitées : il s'agit du délai entre la chirurgie et la radiothérapie, le délai entre la radiothérapie et le début du protocole de vaccination, et enfin le délai entre la chirurgie et le début du protocole de vaccination.

Le temps d'attente médian entre la chirurgie et le début de la radiothérapie était de 21 jours. Le temps médian entre la fin du protocole de radiothérapie et la vaccination était de 11 jours, et le temps médian entre la chirurgie et la première injection de vaccination était de 67 jours (tableau 46, figures 28, 29 et 30).

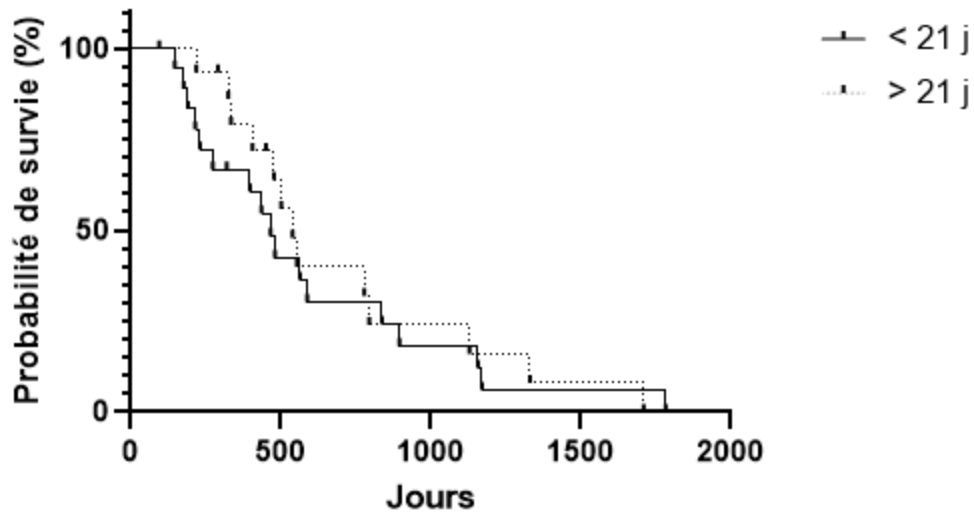
Tableau 46 : Résultats du test du Logrank et valeurs de temps et taux de survie selon le délai entre les différentes étapes thérapeutiques

		n*	TSM** (jours)	Taux de survie (%)			Test du Logrank		ICC
				1 an	2 ans	3 ans	X ²	p	
Délai chirurgie - radiothérapie	<21	19	466	57	26	16	0.21	0.64	0.58 – 2.42
	≥21	15	539	73	33	20			
Délai radiothérapie - vaccination	<11	24	436	63	21	8	0.46	0.50	0.49 – 2.08
	≥11	10	554	70	50	40			
Délai chirurgie - vaccination	<67	21	406	57	14	0	5.78	0.002	1.002 – 4.91
	≥67	13	778	77	54	46			

*n=nombre de cas concernés parmi les 34 chiens présentés dans notre étude

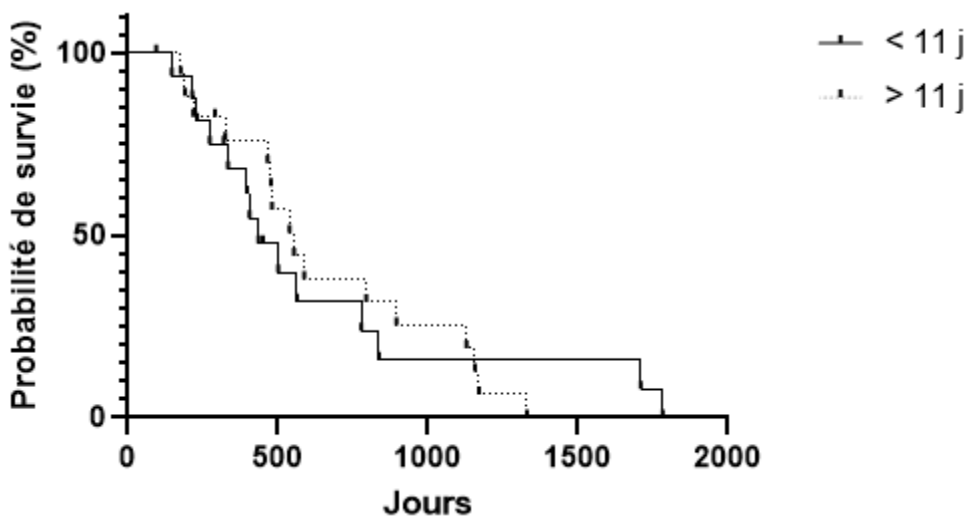
**TSM = Temps de Survie Médian

Figure 28 : Comparaison des courbes de survie selon le délai entre la chirurgie et la radiothérapie



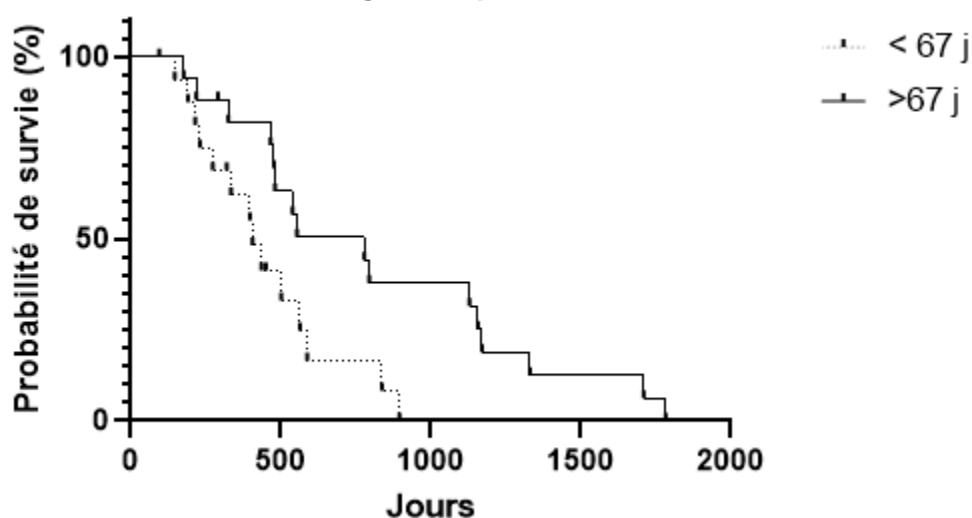
Le délai entre la chirurgie et la radiothérapie n'était pas un facteur pronostique car aucune association significative n'a été mise en évidence par le test du Logrank.

Figure 29 : Comparaison des courbes de survie selon le délai entre la radiothérapie et la première injection vaccinale



Le délai entre la radiothérapie et la première injection vaccinale n'était pas un facteur pronostique car aucune association statistique n'a été mise en évidence par le test du Logrank.

Figure 30 : Comparaison des courbes de survie en fonction du délai entre la chirurgie et le protocole de vaccination



Ainsi, un délai d'attente de plus de 67 jours est significativement associé à un allongement du temps de survie dans notre échantillon.

Nous avons analysé le taux de survie en fonction du nombre d'injections effectuées sur les animaux. Ils ont alors été séparés en deux groupes : ceux ayant suivi uniquement la primo-vaccination (4 injections à deux semaines d'intervalle) et ceux ayant reçu au moins une injection « boost » (5 injections ou plus). Les chiens ayant reçu 5 injections ou plus ont ainsi présenté une médiane de survie de 588 jours, contre 397 jours pour les chiens n'ayant reçu que la primo-vaccination (tableau 47, figure 31).

Tableau 47 : Résultat du test du Logrank et taux de survie selon le nombre d'injections réalisées

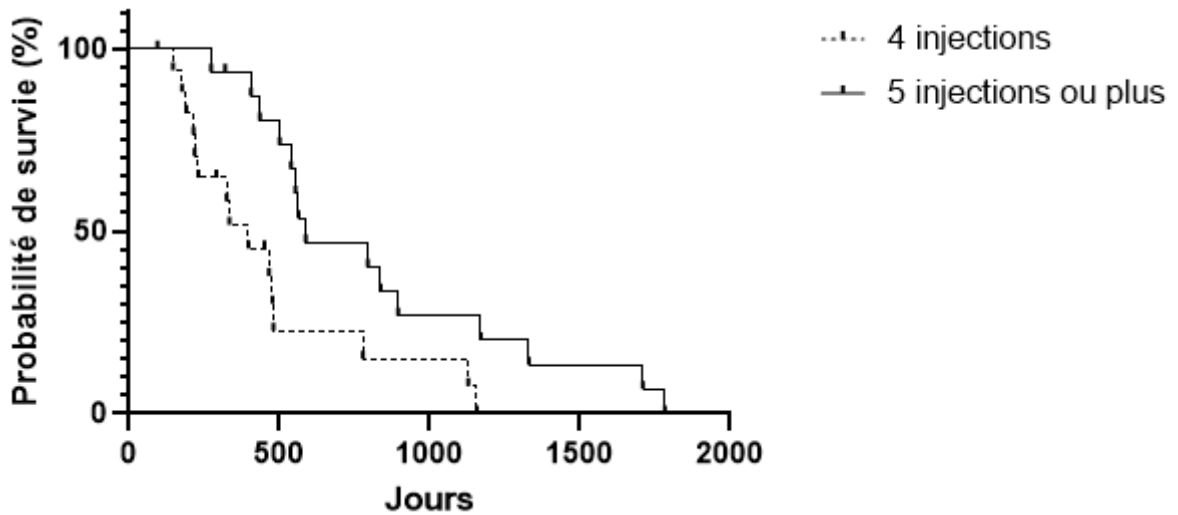
	n*	TSM** (jours)	Taux de survie (%)			Test du Logrank		ICC***	
			1 an	2 ans	3 ans	X ²	p		
Nombre d'injections	4	18	397	51.8	22.6	15.1	7.045	0.0079	1.11 – 5.35
	5 ou plus	16	588	93.8	46.9	26.8			

*n=nombre de cas concernés parmi les 34 chiens présentés dans notre étude

**TSM = Temps de Survie Médian

***Intervalle de confiance à 95 %

Figure 31 : Comparaison des courbes de survie en fonction du nombre d'injections réalisées



Le test du Logrank a permis de montrer une différence significative entre les chiens qui avaient reçu uniquement 4 injections et les chiens qui avaient reçu 5 injections ou plus dans notre échantillon. L'intervalle de confiance ne comprenant pas la valeur 1, ce résultat est bien significatif.

Certains animaux avaient déjà reçu une première chirurgie avant la mise en place de l'approche multimodale. Nous avons donc comparé la survie des animaux ayant reçu plus d'une chirurgie avant le protocole de radiothérapie, avec ceux qui n'en avaient reçu qu'une seule (tableau 48, figure 32).

Tableau 48 : Résultat du test du Logrank et taux de survie selon le nombre de chirurgies réalisées avant la mise en place du protocole de radiothérapie

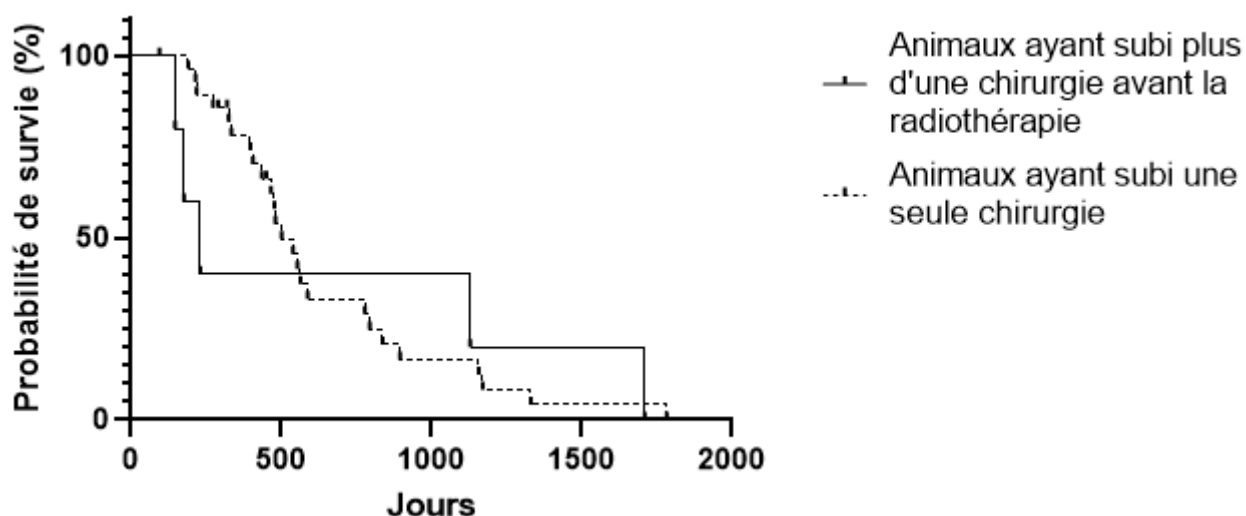
		n*	TSM** (jours)	Taux de survie (%)			Test du Logrank		ICC***
				1 an	2 ans	3 ans	X ²	p	
Nombre de chirurgies	Une seule	28	502	77.9	24.8	16.6	7.045	0.0079	1.11 – 5.35
	Plus d'une	6	231	40	40	40			

*n=nombre de cas concernés parmi les 34 chiens présentés dans notre étude

**TSM = Temps de Survie Médian

***Intervalle de confiance à 95 %

Figure 32 : Comparaison des courbes de survie selon l'existence de plus d'une chirurgie avant le protocole de radiothérapie



La réalisation d'une chirurgie antérieure à la mise en place de l'approche thérapeutique multimodale était ainsi un facteur pronostique péjoratif. En effet le test du Logrank permet ici d'établir une association significative dans notre échantillon.

La présence ou l'absence de récurrence locale était une caractéristique du suivi influençant potentiellement la survie des animaux. Les animaux ayant présenté une récurrence locale avaient ainsi une médiane de survie de 502 jours, contre 477 jours pour les animaux n'en ayant pas présenté (tableau 49, figure 33).

Tableau 49 : Résultats du test du Logrank et taux de survie selon l'apparition d'une récurrence locale après le début du protocole

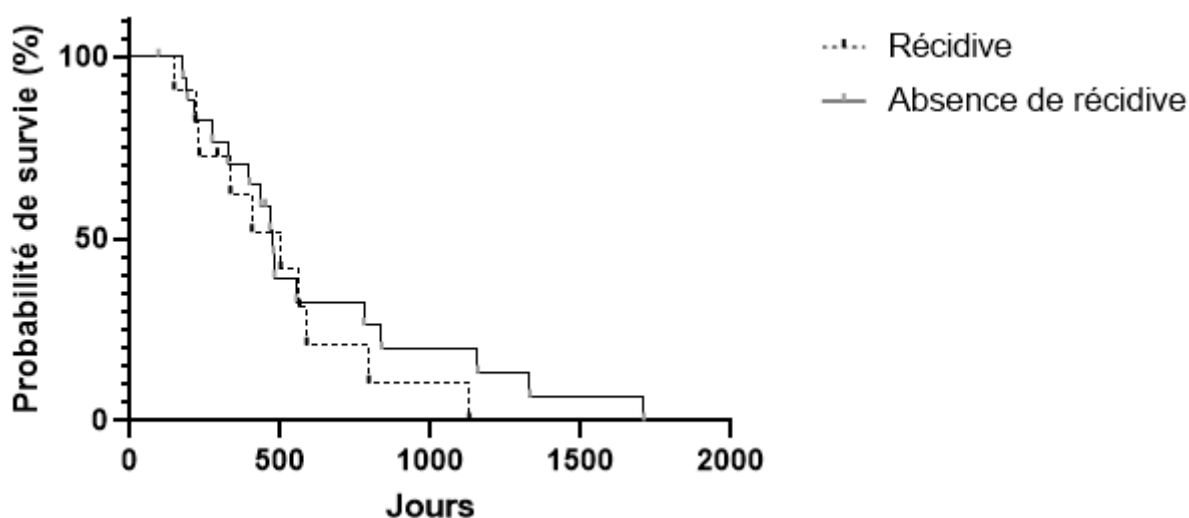
		n*	TSM** (jours)	Taux de survie (%)			Test du Logrank		ICC***
				1 an	2 ans	3 ans	X ²	p	
Récurrence	Oui	11	502	62	21	10	0.53	0.47	0.58 – 3.0
	Non	18	477	71	33	20			

*n=nombre de cas concernés parmi les 34 chiens présentés dans notre étude

**TSM = Temps de Survie Médian

***Intervalle de confiance à 95 %

Figure 33 : Comparaison des courbes de survie selon l'apparition d'une récurrence locale ou pas



L'apparition d'une récurrence locale n'était donc pas un facteur influençant la survie des animaux car le test du Logrank n'a montré aucune association significative.

Le protocole de vaccination consistait en 4 injections à deux semaines d'intervalle (primovaccination), puis une injection rappel tous les 6 mois (injections « boost »). Certains chiens sont donc restés à jour de leur vaccination jusqu'au bout, tandis que d'autres animaux ont arrêté le protocole après un certain nombre d'injection. Les animaux ont donc été séparés en deux groupes selon le statut vaccinal. Les animaux « à jour » étaient les animaux décédés ou perdus de vue moins de 6 mois après leur dernière injection. Les animaux non « à jour » étaient les animaux décédés plus de 6 mois après leur dernière injection vaccinale. Ainsi, les animaux « à jour » ont montré une médiane de survie de 325 jours contre 588 jours pour les animaux non « à jour » (tableau 50, figure 34).

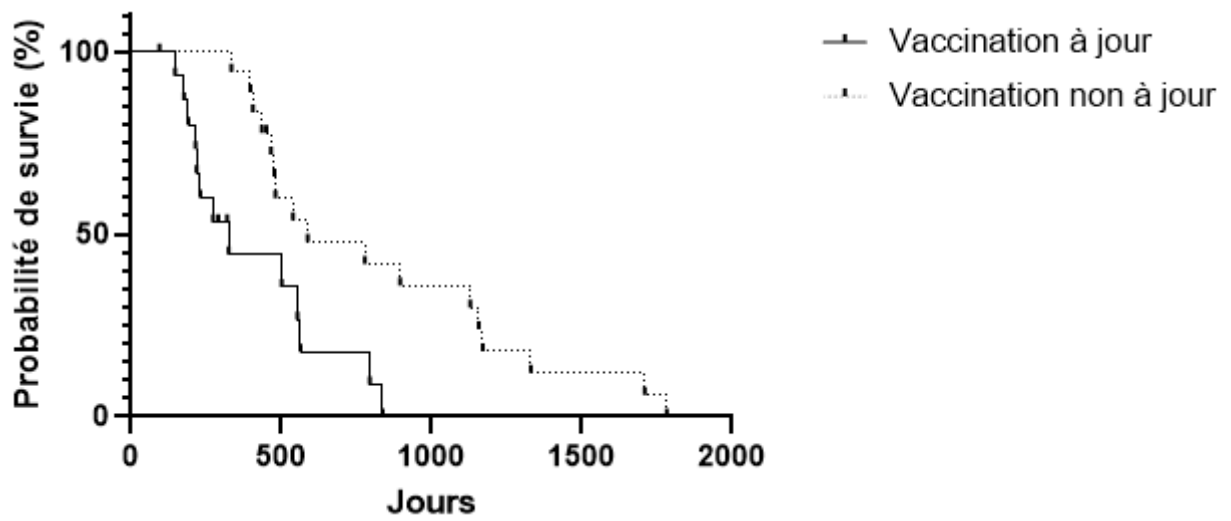
Tableau 50 : Résultats du test du Logrank et taux de survie selon le suivi de rappel de vaccination

		n*	TSM** (jours)	Taux de survie (%)			Test du Logrank		ICC***
				1 an	2 ans	3 ans	X ²	p	
Vaccination	A jour	16	325	44.4	17.8	0	8.47	0.004	1.12 – 6.20
	Non à jour	18	588	94.4	47.9	35.9			

*n=nombre de cas concernés parmi les 34 chiens présentés dans notre étude

**TSM = Temps de Survie Médian

Figure 34 : Comparaison des courbes de survie selon le suivi de rappel de vaccination



Le test du Logrank permet de montrer une différence significative entre les animaux non « à jour » qui ont ainsi vécu significativement plus longtemps que les animaux « à jour ».

TROISIÈME PARTIE : DISCUSSION

Peu d'études se sont intéressées à l'approche vaccinale du mélanome buccal à l'heure actuelle. A notre connaissance, aucune d'entre elle ne s'est penchée sur une approche thérapeutique systématisée associant la chirurgie, la radiothérapie adjuvante et l'immunothérapie. Cette étude avait donc pour but d'évaluer la tolérance de cette approche thérapeutique, mais également son efficacité vis-à-vis de ce cancer. Notre étude s'est donc penchée sur les récurrences, la survie des animaux et l'apparition de métastases.

Notre population était composée de chiens d'âge médian de 11.1 ans. Les mâles étaient discrètement surreprésentés avec un ratio mâle/ femelle 1,4 :1. Cette discrète surreprésentation est cohérente avec celle retrouvée dans la littérature (Head, 1976 ; Hoyt et Withrow, 1984 ; Blackwood et Dobson, 1996). Le poids médian des animaux était de 16,1 kg, ce qui correspond à l'épidémiologie habituellement décrite quant au format des chiens concernés (Hoyt et Withrow, 1984). Les principales races retrouvées étaient le Cocker Spaniel, le Golden Retriever et les chiens croisés. Le Cocker Spaniel était fortement représenté dans notre échantillon, en effet 23.5 % (8/34) des chiens appartenaient à cette race. Cependant, notre échantillon reste de taille modeste.

Les tumeurs primaires étaient plus souvent caudales à PM4 (20 chiens sur 34) et concernaient le plus souvent la muqueuse labiale (47 %), les gencives (35 %), le palais dur et le palais mou (9 % chacun). Les chiens présentaient une tumeur achromique dans 78 % des cas, ce qui est supérieur en proportion aux autres études. Cependant, cette information n'était disponible que dans 18 cas (53 %). Le caractère achromique ou pigmenté a été obtenu lors de l'entretien téléphonique avec les vétérinaires traitants, et seize d'entre eux ne parvenaient plus à se souvenir de la présence de la pigmentation. Pour expliquer ce résultat, nous évoquons l'hypothèse d'un biais de sélection. Le caractère pigmenté des tumeurs primaires a peut-être été un résultat attendu et peu surprenant pour les vétérinaires traitants si bien que pour un grand nombre de tumeur pigmentées, les vétérinaires traitants n'en avaient pas souvenir.

Dans notre étude, les animaux ont été classés selon les stades cliniques de l'OMS. Cependant, la détermination des stades cliniques selon l'OMS repose en partie sur la détection de métastases loco-régionales sur les nœuds lymphatiques mandibulaires, parotidiens et rétropharyngiens. Dans notre étude, seuls les nœuds lymphatiques mandibulaires ont été cytoponctionnés car ce sont les seuls facilement accessibles en l'absence d'adénomégalie. Les nœuds lymphatiques parotidiens et rétropharyngiens ont été visualisés à l'examen tomographique mais n'ont pas subi d'analyse anatomo-pathologique, et la taille n'est pas reliée à l'infiltration métastatique. Dans notre étude, parmi les chiens qui ont présenté des métastases aux nœuds lymphatiques mandibulaires, 60 % (3/5) présentaient une adénomégalie et

40 % (2/5) n'en présentaient pas. De plus, parmi les chiens présentant une adénomégalie, seulement 27 % (3/11) présentaient une infiltration métastatique. Dans ce contexte, l'établissement de stade des différents patients reste incertain car une infiltration métastatique est possiblement non détectée. Une exploration par les nœuds lymphatiques satellites aurait été une approche intéressante dans le contexte d'une tumeur de la cavité buccale, afin de déterminer quel nœud lymphatique est le plus susceptible de présenter une infiltration métastatique précoce. Une classification TNM alternative a été proposée par une étude (Hahn *et al.*, 1994). Elle repose sur des données cliniques mais également sur des facteurs histologiques. Nous n'avons pas pu utiliser cette classification par manque de données sur l'aspect histologique des différentes tumeurs.

Dans notre population d'étude, 17.6% (6/34) des animaux étaient déjà atteints d'une affection concomitante. Trois d'entre eux étaient atteints d'un syndrome de cushing, et trois autres présentaient respectivement une insuffisance cardiaque, un circumanalum et un carcinome épidermoïde nasal.

Les complications étaient fréquentes dans notre étude. En effet 67.6 % (23/34) ont présenté au moins une complication mineure, suite à la chirurgie, et/ou à la radiothérapie, et/ou aux injections vaccinales. Seulement 23.5% (8/34) des animaux n'ont présenté aucune complication lors de la mise en place des traitements. Les complications observées suite à la chirurgie étaient très rares. Cependant, nous pouvons émettre l'hypothèse d'un biais dans notre étude, car les chirurgies étaient réalisées avant la présentation au centre MICEN VET. Les complications mineures suite aux chirurgies étaient probablement déjà résolues, et lors des entretiens téléphoniques avec les vétérinaires ayant réalisés ces chirurgies, ils ont pu considérer ces complications comme négligeables. Néanmoins, il semble raisonnable de penser que des complications majeures auraient été rapportées par les vétérinaires traitants. Dans ce contexte, le nombre de complications majeures suite aux chirurgies semble fiable. Ces complications majeures étaient donc rares, et ne mettaient pas le pronostic vital des animaux en jeu. Les complications majeures qui ont fait suite à la radiothérapie étaient très rares. En effet seulement 3.0 % (1/34) des chiens ont reçu un traitement spécifique (corticothérapie) suite à une inflammation importante. Les autres complications observées étaient toutes mineures et leur fréquence d'apparition était semblable à d'autres études (Freeman *et al.*, 2003). Les complications observées suite aux injections vaccinales étaient fréquentes (59 % (20/34)) des animaux ont présenté au moins une complication suite à une injection vaccinale) mais n'étaient jamais des complications majeures, c'est-à-dire qu'elles n'ont jamais nécessité un traitement spécifique. Ces données sont similaires aux études rapportant les effets secondaires observés lors des injections vaccinales (Grosenbaugh *et al.*, 2011). Ainsi, les complications de notre étude étaient fréquentes mais étaient très majoritairement mineures et ne mettaient donc pas en jeu le pronostic vital des animaux. Ceci est à comparer aux études s'intéressant aux chirurgies larges voir radicales de la cavité

buccale, qui s'accompagnent de complications majeures dans un grand nombre de cas, et peuvent mettre en péril la survie des animaux. (Schwarz *et al.*, 1991 ; Griffon et Hamaide, 2016).

Les récurrences locales étaient fréquentes pour les chiens de notre étude : 32.4% (11/34) des chiens ont présenté une récurrence locale avec une médiane de temps d'apparition de 870 jours. Ce taux de récurrence est inférieur à certaines études s'intéressant à la chirurgie sans thérapie adjuvante (Dank *et al.*, 2014) (41% de récurrences locales) mais plus important que le taux de récurrence obtenu dans une étude ayant recherché les effets d'une exérèse large sur le mélanome buccal (Tuohy *et al.*, 2014) (taux de récurrence de 17.1%).

Concernant les facteurs de risque étudiés dans notre étude, il n'y avait pas de lien statistique entre le taux de récurrence et la présence d'une ostéolyse au scanner, ni avec le type de chirurgie effectuée. Enfin, aucun lien statistique n'a été mis en évidence entre le taux de récurrence et l'état des marges d'exérèse. Le taux de récurrence global semble être plus important avec une chirurgie cyto-réductrice qu'avec une chirurgie plus large, même avec un protocole de radiothérapie adjuvante. Cependant, le taux de complications pour cette chirurgie est très inférieur. De plus, ce type de chirurgie présente une difficulté technique moins importante et ne nécessite donc pas l'intervention d'un chirurgien spécialiste. Elle est donc plus accessible pour les propriétaires.

Des métastases au cours du suivi ont été détectées chez 32.4 % (11/34) des chiens de notre échantillon. Dans la plupart des cas, elles étaient pulmonaires (63.6 %), puis touchaient les nœuds lymphatiques loco-régionaux (27.2 %) ; enfin, un chien a présenté une métastase cutanée (9.1 %). L'interprétation du taux de métastases pulmonaires reste cependant délicate. En effet, les métastases pulmonaires peuvent être détectées par imagerie avec une plus grande sensibilité du scanner par rapport à la radiographie. Les contrôles d'imagerie après la mise en place du protocole de thérapie multimodale ont été plus ou moins fréquents selon les chiens. Ainsi, pour les chiens n'ayant pas présenté de métastases pulmonaires, le temps médian entre le dernier contrôle par imagerie et le décès de l'animal ou la perte de vue était de 209 jours (76 – 328). Il est donc difficile d'affirmer avec certitude que ces chiens n'ont pas présenté de métastases pulmonaires, et donc d'établir un réel temps de rémission. De même, les nœuds lymphatiques loco-régionaux n'ont pas été ponctionnés lors du décès des animaux, ce qui n'exclut pas une infiltration métastatique. Notre taux de métastases est en effet plus faible que celui décrit dans les études ayant réalisé des examens nécropsiques systématiques (Todoroff et Brodey, 1979).

Les animaux de notre étude ont présenté une médiane de survie de 502 jours (soit 16.7 mois). Les études s'étant penchées sur la médiane de survie en utilisant la chirurgie comme seule approche thérapeutique ont obtenu des médianes de survie entre 180 et 1020 jours (Withrow et Holmberg, 1983 ; Bradley *et al.*, 1984 ; Kosovsky *et al.*, 1991 ; Schwarz *et al.*, 1991 ; Esplin, 2008 ;

Tuohy *et al.*, 2014). Cependant, pour une de ces études (Esplin, 2008), les seuls animaux qui ont été inclus dans l'études étaient les chiens présentant un mélanome buccal bien différencié à l'examen histologique. C'est cette même étude qui a obtenu la meilleure médiane de survie (1020 jours). Les autres études qui ont inclut tous les mélanomes buccaux sans exclusion sur des critères histologiques ont ainsi obtenu des médianes de survie entre 180 et 723 jours. Parmi ces études, celles qui ont obtenu les meilleures médianes de survie sont celles ayant réalisé des exérèses larges (Withrow et Holmberg, 1983 ; Tuohy *et al.*, 2014) et les médianes de survie allaient de 570 à 723 jours. Finalement, les études s'étant intéressées à la chirurgie seule sans marges larges, ont obtenu des médianes de survie entre 180 et 297 jours (Bradley *et al.*, 1984 ; Kosovsky *et al.*, 1991 ; Schwarz *et al.*, 1991). Ainsi, la radiothérapie et l'immunothérapie comme thérapies adjuvantes semblent apporter un réel bénéfice sur le temps de survie des animaux, car notre médiane de survie semble plus longue que les études dans lesquelles seule la chirurgie avec des marges restreintes ont été réalisées.

De plus, notre médiane de survie (502 jours) semble plus élevée que les études dans lesquelles une radiothérapie adjuvante a été réalisée. Ainsi, Proulx *et al* (2003) ont obtenu une médiane de survie de 447 jours après un protocole d'irradiation réalisé sur des mélanomes buccaux microscopiques.

De façon étonnante, les deux études ayant réalisé un des essais thérapeutiques associant les trois mêmes modalités que les nôtres, mais non systématisées ; ont eu des temps de survie assez différents. En effet, dans l'étude de Grosenbaugh *et al* (2011) la de médiane de survie n'a pas été atteinte, tandis que la médiane de survie obtenue de Treggiari *et al* (2016) était de 335 jours. Dans ces deux études, la radiothérapie n'était pas une modalité thérapeutique systématique, mais utilisée uniquement sur les cas de marges non saines. Dans les deux cas, les auteurs n'ont trouvé aucune différence entre les deux groupes (traités avec radiothérapie ou non). L'étude de Grosenbaugh *et al* (2011) n'ont cependant pas suivi leurs animaux sur un temps aussi long que dans notre cas. En effet, 14 % (8/58) des animaux étaient encore vivants à la fin de l'étude, avec un temps médian de suivi de 437 jours seulement (dans notre étude, seulement 3.0 % (1/34) des animaux étaient encore vivants à la fin de l'étude, et était donc censuré au bout de 450 jours). De plus, 18 % (10/58) des animaux ont été perdus de vue, ce qui peut fortement biaiser l'estimation de la courbe de survie obtenue, et donc l'absence de médiane de survie. Ainsi, il est difficile d'estimer quelle médiane de survie aurait été obtenue dans le cas où le suivi aurait été plus long. Notre étude a finalement permis d'obtenir une médiane de survie supérieure à celle de Treggiari *et al* (2016) qui était de 335 jours.

Dans notre étude les chiens ayant eu une marge d'exérèse saine vivaient significativement moins longtemps que les chiens ayant une marge d'exérèse envahie (médiane de survie de 480 jours pour les animaux avec des marges saines, contre 1013 jours pour les animaux avec des

marges infiltrées). Cependant, l'information sur l'état des marges d'exérèse n'était disponible que chez 50 % (17/34) des animaux. Nous évoquons la possibilité d'un biais de sélection sur cette donnée. En effet, les vétérinaires ayant obtenu un diagnostic par cytologie ou biopsie ont alors eu l'information sur la nature de la tumeur et de sa potentielle agressivité. Ces vétérinaires ont alors pu envisager une exérèse légèrement plus large, mais sans envoyer la pièce d'exérèse, connaissant déjà la nature de la masse retirée. Plusieurs études ont failli à mettre en évidence une différence significative entre une chirurgie marginale et large (Boston *et al.*, 2014), ou selon l'envahissement des marges (Tuohy *et al.*, 2014).

Notre étude a également permis de montrer que les animaux ayant présenté plus d'une chirurgie avant la mise en place du protocole de radiothérapie vivaient significativement moins longtemps que les chiens présentés suite à leur première chirurgie (502 jours de médiane de survie pour les animaux n'ayant présenté qu'une chirurgie contre 231 jours pour les animaux ayant déjà reçu une intervention chirurgicale préalable). Ceci souligne le fait que la première approche thérapeutique reste toujours la meilleure. Afin d'appuyer cet aspect, il est intéressant de se pencher sur un autre résultat de notre étude : la taille de la tumeur primaire était un facteur pronostic négatif. En effet, les tumeurs primaires de moins de 2 cm étaient associées à une médiane de survie 546.5 jours, les chiens avec une tumeur primaire mesurant entre 2 et 4 cm ont présenté une médiane de survie de 406 jours, et les chiens ayant une tumeur primaire de plus de 4 cm ont présenté une médiane de survie de 319 jours. La principale hypothèse avancée est qu'une plus longue attente avant la mise en place d'un protocole à visée curative augmente probablement le risque de métastases, rendant donc une immunothérapie moins efficace. Cependant, il était difficile d'établir un lien entre avec le taux de métastases car peu d'animaux ont réalisé un suivi régulier en imagerie, ce qui implique l'existence de faux négatifs dans notre échantillon. Ces résultats sont à mettre en lien avec un des principes fondamentaux de l'oncochirurgie qui est d'intervenir le plus vite possible.

Les animaux qui avaient reçu 5 vaccinations ou plus ont vécu significativement plus longtemps que les animaux n'ayant suivi que la primo-vaccination. Cependant, on peut émettre l'hypothèse que les chiens qui n'ont suivi que la primo-vaccination sont morts avant de pouvoir réaliser une injection « boost ». C'est pourquoi il semble plus intéressant de considérer la dernière injection vaccinale avant la mort. Pour rappel, tous les animaux de notre étude avaient correctement effectué leur primo-vaccination (4 injections à 2 semaines d'intervalle), mais suite à cette primo-vaccination, tous les animaux n'ont pas procédé aux rappels ou « boost » préconisés tous les 6 mois après la primo-vaccination. Ainsi, au moment du décès ou de la perte de vue des différents patients, le dernier rappel de vaccination était plus ou moins ancien. Il est ainsi légitime de se demander si au moment de leur décès, les animaux étaient « à jour » de leur vaccination ou pas. Pour se faire, il convient de séparer les animaux en deux groupes, ceux qui ont reçu leur

dernière injection moins de 6 mois avant leur décès (animaux « à jour ») et ceux qui ont reçu leur dernière injection plus de 6 mois avant leur décès (animaux non « à jour »). Il y avait ainsi 16 animaux « à jour » au moment de leurs décès et 18 animaux non « à jour ».

Les animaux non à jour de leur vaccination ont vécu statistiquement plus longtemps que les animaux à jour de leur vaccination dans la population de notre étude (médiane de survie de 325 jours pour les animaux « à jour » contre 588 jours de médiane de survie pour les animaux non « à jour »). Pour tenter d'expliquer ce résultat, nous pouvons considérer le taux de récurrence et/ou de métastases apparues dans ces deux groupes. Ainsi, parmi les 16 animaux « à jour », 9 (56 %) ont présenté une récurrence locale, des métastases, ou les deux. De plus, dans ce même groupe, parmi les 7 animaux n'ayant présenté ni récurrence ni métastase 2 ont été perdus de vue. Ensuite, parmi les 18 animaux non « à jour », 8 (44 %) ont présenté une récurrence locale, des métastases ou les deux. Il semble ainsi que les animaux du groupe « à jour » ont présenté plus fréquemment des récurrences ou métastases, ce qui a pu diminuer le temps de survie global du groupe.

Il est également difficile d'établir un lien entre la vaccination et les récurrences locales. En effet, parmi les 11 chiens ayant présenté une récurrence locale, 36.4 % (4/11) sont apparues avant la vaccination ou pendant la primo-vaccination, ce qui n'a pas laissé le temps au vaccin d'avoir un réel effet.

Dans notre étude, nous avons divisé les chiens en deux groupes selon le délai entre la chirurgie et la mise en place du protocole de vaccination. Les animaux faisant partis du groupe au délai le plus long (plus de 76 jours) vivaient significativement plus longtemps que les animaux ayant eu un délai plus court. Dans la majorité des cas, la chirurgie était suivie de la radiothérapie, ce qui impliquait un grand nombre d'anesthésies générales en peu de temps. Ce grand nombre d'anesthésies a pu mettre en défaut le système immunitaire et empêcher la primo-vaccination d'être efficace. Ce résultat n'est cependant pas retrouvé dans une étude ayant analysé le délai entre la chirurgie et la primo-vaccination avec ou sans radiothérapie adjuvante (Treggiari *et al.*, 2016). Dans cette étude, les animaux avaient été divisés en deux groupes, ceux pour qui le délai avait été de plus de 56 jours, et ceux pour qui ce délai était plus court, et aucune différence n'avait été observée. Dans cette même étude, la radiothérapie n'était pas systématique, et donc les anesthésies générales beaucoup moins nombreuses, ce qui peut expliquer l'absence de différence entre les deux groupes.

Une étude a permis de montrer un pronostic très différent pour les animaux atteints de mélanomes buccaux bien différenciés (Esplin, 2008). Il aurait été intéressant de distinguer dans notre étude les animaux présentant des mélanomes buccaux histologiquement bien différenciés et de les comparer aux autres animaux. Les critères histologiques de cette bonne différenciation n'ont pu être comparés dans notre cas, les prélèvements histologiques ayant été envoyés dans

différents laboratoires d'analyses, empêchant une uniformité des résultats histologiques. Dans notre étude, les chiens ayant présenté une tumeur primitive pigmentée ont vécu significativement plus longtemps que les animaux ayant présenté une tumeur primitive achromique. Deux hypothèses peuvent être mise en avant. La première étant que les tumeurs pigmentées présentent un caractère plus différencié que les tumeurs achromiques. La deuxième hypothèse est une plus grande efficacité de l'immunothérapie sur ces tumeurs. En effet le vaccin vise une enzyme du métabolisme cellulaire des mélanocytes impliquée dans la synthèse de la mélanine. Dans les tumeurs pigmentées, cette enzyme est conservée, alors qu'elle peut être modifiée (dans sa structure ou dans son expression) et peut réduire l'efficacité du vaccin, la cible des anticorps étant modifiée dans sa structure ou moins présente. Cependant, l'information sur la pigmentation des tumeurs manquait pour 47 % (16/34), un biais est donc possible.

Parmi les 34 animaux de notre étude, il convient de relever un résultat en particulier : 6 des animaux ont développé un autre cancer suite à cette approche multimodale. Carcinome canalaire apocrine type solide sur la face interne de la cuisse, sarcome des tissus mous type schwanome/neurofibrosarcome, ostéosarcome à la base de la langue, sarcome à petites cellules sur la lèvre supérieure gauche, hémangiosarcome cutané avec des métastases spléniques, ADK tubulo-papillaire apocrine cutanée. Ces cancers concernaient le tissu cutané ou sous-cutané pour 5 des 6 cas. Pour un de ces cas, nous pouvons émettre l'hypothèse d'une tumeur radio-induite (ostéosarcome à la base de la langue). L'âge de ce groupe d'animaux n'était pas significativement plus élevé : médiane de 10.45 ans au moment du début du protocole. Cependant, les animaux ayant présenté ces pathologies font partie des animaux ayant vécu le plus longtemps (médiane de survie de 807.5 jours) comparés aux animaux n'ayant pas présenté d'autre cancer (médiane de survie de 422 jours). Ce résultat, bien que non significatif, nous permet d'émettre l'hypothèse que les animaux ont développé plus de tumeurs car ils font partie des patients ayant survécu le plus longtemps, l'âge étant souvent associé à l'apparition de tumeurs.

CONCLUSION

Le mélanome buccal est la tumeur buccale la plus fréquente du chien. C'est un cancer considéré très majoritairement comme agressif, aussi bien localement qu'en terme de développement métastatique. Plusieurs études ont permis de mettre en évidence qu'un contrôle local était possible par une chirurgie large ou par une chirurgie plus marginale avec un protocole de radiothérapie adjuvante. Les études portant sur les protocoles de chimiothérapie montrent une inefficacité des protocoles actuels pour lutter contre le pouvoir métastatique du mélanome buccal. Une approche par immunothérapie est plus sérieusement envisagée depuis quelques années. Notre étude s'est portée sur une approche thérapeutique multimodale, qui incluait une chirurgie, un protocole de radiothérapie adjuvante et la mise en place d'un protocole d'immunothérapie.

La chirurgie était effectuée dans la majorité des cas par les vétérinaire traitant et le reste des modalités thérapeutiques étaient réalisées au centre MICEN VET de Créteil sur des chiens reçus pour mélanome buccal entre le 1^{er} Janvier 2012 et le 1^{er} Juin 2020. L'objectif de notre étude était d'étudier l'efficacité de cette approche multimodale sur la durée de survie, le taux de récurrence, et d'évaluer la sécurité de ce traitement.

Notre médiane de survie était de 502 jours, les taux de survie à 1,2 et 3 ans étaient respectivement de 72.2 %, 34.7 % et 20.8 %. Une analyse statistique par le test du Logrank nous a permis de mettre en évidence qu'un certain nombre d'expositions n'avaient pas d'influence sur la survie des animaux (le sexe, le poids, l'âge, la présence d'une maladie concomitante, le stade clinique, une infiltration métastatique loco-régionale, la présence d'ostéolyse au scanner, la pigmentation de la tumeur primaire, le type d'exérèse réalisée et l'infiltration des marges d'exérèse étaient des expositions sans influence sur la durée de survie dans notre échantillon). Certaines associations statistiques ont cependant été mises en évidence grâce au test du Logrank. Ainsi, la taille de la tumeur primaire était un facteur pronostique négatif, de même, une augmentation du délai entre la chirurgie et la vaccination était associée à une augmentation du temps de survie des animaux. Enfin, certains animaux avaient subi plus d'une intervention chirurgicale avant la mise en place du protocole de radiothérapie. Ces animaux ont vécu significativement moins longtemps que les autres animaux dans notre échantillon. Ceci souligne qu'une intervention chirurgicale rapide dans une optique curative améliore grandement le pronostic des animaux traités.

Le taux de récurrence locale était de 35.3 %, ce qui reste supérieur aux taux de récurrences locales présentés dans les études ayant réalisé des chirurgies plus larges. Cependant, les

chirurgies réalisées étaient moins invasives et présentaient un taux de complication très inférieur à ce qui est décrit pour les chirurgies larges. Elles ne nécessitent pas d'être réalisées par un vétérinaire spécialisé en chirurgie et sont donc plus accessibles pour les propriétaires des animaux. Le taux de métastase était de 32.4 %. Les complications étaient fréquentes et ont concerné 67.6 % des animaux, mais étaient mineures dans une très grande majorité des cas.

Notre étude est la seule à avoir associé les trois approches thérapeutiques sur un aussi grand nombre d'animaux et avec un suivi sur un aussi long terme. C'est une approche qui semble être une alternative intéressante au traitement par exérèse large, car elle permet d'effectuer un geste chirurgical plus simple et moins traumatique, présente un taux de complications majeures moins important, mais s'accompagne toutefois d'un taux de récurrence non négligeable, et d'une espérance de survie non supérieure.

Il aurait néanmoins été intéressant de pouvoir établir un véritable lien avec le taux de métastases avec un suivi par imagerie plus systématique, ou par un examen nécropsique sur tous les animaux. De plus, une meilleure standardisation des données histologiques des tumeurs de notre échantillon aurait pu apporter des informations supplémentaires sur les facteurs de risque.

Liste des références bibliographiques

- BATEMAN K., CATTON P., PENNOCK P., KRUTH S. (1994) Radiation Therapy for the Treatment of Canine Oral Melanoma. *J. Vet. Intern. Med.* 8(4), 267-272
- BEER P., POZZI A., ROHRER BLEY C., *et al.* (2018) The role of sentinel lymph node mapping in small animal veterinary medicine: A comparison with current approaches in human medicine. *Vet Comp Oncol* 16(2), 178-187
- BERGMAN P.J., MCKNIGHT J., NOVOSAD A., *et al.* (2003) Long-term survival of dogs with advanced malignant melanoma after DNA vaccination with xenogeneic human tyrosinase: a phase I trial. *Clin. Cancer Res.* 9(4), 1284-1290
- BERGMAN P.J. (2012) Paraneoplastic hypercalcemia. *Top Companion Anim Med* 27(4), 156-158
- BLACKWOOD L., DOBSON J.M. (1996) Radiotherapy of oral malignant melanomas in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 209(1), 98-102
- BONFANTI U., BERTAZZOLO W., GRACIS M., *et al.* (2015) Diagnostic value of cytological analysis of tumours and tumour-like lesions of the oral cavity in dogs and cats: a prospective study on 114 cases. *Vet. J.* 205(2), 322-327
- BONNETT B.N., EGENVALL A., HEDHAMMAR A., OLSON P. (2005) Mortality in over 350,000 insured Swedish dogs from 1995-2000: I. Breed-, gender-, age- and cause-specific rates. *Acta Vet. Scand.* 46(3), 105-120
- BORIA P.A., MURRY D.J., BENNETT P.F., *et al.* (2004) Evaluation of cisplatin combined with piroxicam for the treatment of oral malignant melanoma and oral squamous cell carcinoma in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 224(3), 388-394
- BOSTOCK D.E. (1979) Prognosis after surgical excision of canine melanomas. *Vet. Pathol.* 16(1), 32-40
- BOSTON S.E., LU X., CULP W.T.N., *et al.* (2014) Efficacy of systemic adjuvant therapies administered to dogs after excision of oral malignant melanomas: 151 cases (2001-2012). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 245(4), 401-407
- BRADLEY R.L., MACEWEN E.G., LOAR A.S. (1984) Mandibular resection for removal of oral tumors in 30 dogs and 6 cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 184(4), 460-463

- BRODEY R.S. (1970) The biological behaviour of canine oral and pharyngeal neoplasms. *J Small Anim Pract* 11(1), 45-53
- BRØNDEN L.B., ERIKSEN T., KRISTENSEN A.T. (2009) Oral malignant melanomas and other head and neck neoplasms in Danish dogs--data from the Danish Veterinary Cancer Registry. *Acta Vet. Scand.* 51, 54
- BROOMFIELD S., CURRIE A., VAN DER MOST R.G., *et al.* (2005) Partial, but not complete, tumor-debulking surgery promotes protective antitumor memory when combined with chemotherapy and adjuvant immunotherapy. *Cancer Res.* 65(17), 7580-7584
- BURNS G.O., SCRIVANI P.V., THOMPSON M.S., ERB H.N. (2008) Relation between age, body weight, and medial retropharyngeal lymph node size in apparently healthy dogs. *Vet Radiol Ultrasound* 49(3), 277-281
- CATCHPOLE B., GOULD S.M., KELLETT-GREGORY L.M., DOBSON J.M. (2002) Immunosuppressive cytokines in the regional lymph node of a dog suffering from oral malignant melanoma. *J Small Anim Pract* 43(10), 464-467
- CHANG A., HUNT M., PARKINSON D.R., HOCHSTER H., SMITH T.J. (1993) Phase II trial of carboplatin in patients with metastatic malignant melanoma. A report from the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am. J. Clin. Oncol.* 16(2), 152-155
- CHOI C., KUSEWITT D.F. (2003) Comparison of tyrosinase-related protein-2, S-100, and Melan A immunoreactivity in canine amelanotic melanomas. *Vet. Pathol.* 40(6), 713-718
- CHUDNOVSKY Y., KHAVARI P.A., ADAMS A.E. (2005) Melanoma genetics and the development of rational therapeutics. *J. Clin. Invest.* 115(4), 813-824
- COULIE P.G., BRICHARD V., VAN PEL A., *et al.* (1994) A new gene coding for a differentiation antigen recognized by autologous cytolytic T lymphocytes on HLA-A2 melanomas. *J. Exp. Med.* 180(1), 35-42
- CULLEN J., PAGE R., MISDORP W. (2002) An overview of cancer pathogenesis, diagnosis, and management. *In Tumors in domestic animals*, 4^e ed. Iowa state press, pp 3-44
- DANK G., RASSNICK K.M., SOKOLOVSKY Y., *et al.* (2014) Use of adjuvant carboplatin for treatment of dogs with oral malignant melanoma following surgical excision. *Vet Comp Oncol* 12(1), 78-84

- DEVAUCHELLE P. (1994) Principes et indications de la radiothérapie. *Encyclopédie Vétérinaire* 1(700), 1-8
- DORN C.R., PRIESTER W.A. (1976) Epidemiologic analysis of oral and pharyngeal cancer in dogs, cats, horses, and cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 169(11), 1202-1206
- DUNN K.J., WILLIAMS B.O., LI Y., PAVAN W.J. (2000) Neural crest-directed gene transfer demonstrates Wnt1 role in melanocyte expansion and differentiation during mouse development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97(18), 10050-10055
- ESPLIN D.G. (2008) Survival of dogs following surgical excision of histologically well-differentiated melanocytic neoplasms of the mucous membranes of the lips and oral cavity. *Vet. Pathol.* 45(6), 889-896
- ETTINGER S.J., FELDMAN E.C. (2010) Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and the cat. St Louis, (Mo), Saunders Elsevier
- FOLBERG R., HENDRIX M.J., MANIOTIS A.J. (2000) Vasculogenic mimicry and tumor angiogenesis. *Am. J. Pathol.* 156(2), 361-381
- FREEMAN K.P., HAHN K.A., HARRIS F.D., KING G.K. (2003) Treatment of dogs with oral melanoma by hypofractionated radiation therapy and platinum-based chemotherapy (1987-1997). *J. Vet. Intern. Med.* 17(1), 96-101
- FRESE K. (1978) Verlaufsuntersuchungen bei Melanomen der Haut und der Mundschleimhaut des Hundes. *Vet Pathol* 15(4), 461-473
- GHIRELLI C.O., VILLAMIZAR L.A., PINTO A.C.B.C.F. (2013) Comparison of standard radiography and computed tomography in 21 dogs with maxillary masses. *J Vet Dent* 30(2), 72-76
- GIUDICE C., CECILIANI F., RONDENA M., STEFANELLO D., GRIECO V. (2010) Immunohistochemical investigation of PNL2 reactivity of canine melanocytic neoplasms and comparison with Melan A. *J. Vet. Diagn. Invest.* 22(3), 389-394
- GOLDSCHMIDT M.H. (1985) Benign and malignant melanocytic neoplasms of domestic animals. *Am J Dermatopathol* 7 Suppl, 203-212
- GRASS G.D., KRISHNA N., KIM S. (2016) The immune mechanisms of abscopal effect in radiation therapy. *Curr Probl Cancer* 40(1), 10-24
- GRIFFON D., HAMAIDE A. (2016) Complications in Small Animal Surgery, wiley Blackwell. ed. Chichester UK, John Wiley & Sons, Ltd

- GRIMES J.A., SECREST S.A., NORTHRUP N.C., SABA C.F., SCHMIEDT C.W. (2017) Indirect computed tomography lymphangiography with aqueous contrast for evaluation of sentinel lymph nodes in dogs with tumors of the head. *Vet Radiol Ultrasound* 58(5), 559-564
- GROSENBAUGH D.A., LEARD A.T., BERGMAN P.J., *et al.* (2011) Safety and efficacy of a xenogeneic DNA vaccine encoding for human tyrosinase as adjunctive treatment for oral malignant melanoma in dogs following surgical excision of the primary tumor. *Am. J. Vet. Res.* 72(12), 1631-1638
- GUO Y., MA J., WANG J., *et al.* (1994) Inhibition of human melanoma growth and metastasis in vivo by anti-CD44 monoclonal antibody. *Cancer Res.* 54(6), 1561-1565
- HAHN K.A., DENICOLA D.B., RICHARDSON R.C., HAHN E.A. (1994) Canine oral malignant melanoma: Prognostic utility of an alternative staging system. *Journal of Small Animal Practice* 35(5), 251-256
- HAKENJOS L., BAMBERG M., RODEMANN H.P. (2000) TGF-beta1-mediated alterations of rat lung fibroblast differentiation resulting in the radiation-induced fibrotic phenotype. *Int. J. Radiat. Biol.* 76(4), 503-509
- HARVEY H.J., MACEWEN E.G., BRAUN D., *et al.* (1981) Prognostic criteria for dogs with oral melanoma. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 178(6), 580-582
- HARVEY C.E. (1986) Oral surgery. Radical resection of maxillary and mandibular lesions. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 16(5), 983-993
- HEAD K.W. (1976) Tumours of the upper alimentary tract. *Bull. World Health Organ.* 53(2-3), 145-166
- HEAD K.W., ELSE R., DUBIELZIG R. (2002) Tumors of the alimentary tract. *In Tumors in domestic animals*, 4th ed. Iowa state press, pp 401-482
- HERRING E.S., SMITH M.M., ROBERTSON J.L. (2002) Lymph node staging of oral and maxillofacial neoplasms in 31 dogs and cats. *J Vet Dent* 19(3), 122-126
- HOYT R., WITHROW S. (1984) Oral malignancy in the dog. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* n°20, 83
- HSU M.Y., MEIER F.E., NESBIT M., *et al.* (2000) E-cadherin expression in melanoma cells restores keratinocyte-mediated growth control and down-regulates expression of invasion-related adhesion receptors. *Am. J. Pathol.* 156(5), 1515-1525

- JOHNSTON S.A., TOBIAS K.M. (2018) Mandibulectomy and Maxillectomy. *In Veterinary Surgery Small Animal*, 2^e ed. St. Louis (MI), Elsevier, pp 1663-1677
- KIM K., DANIELS K.J., HAY E.D. (1998) Tissue-specific expression of beta-catenin in normal mesenchyme and uveal melanomas and its effect on invasiveness. *Exp. Cell Res.* 245(1), 79-90
- KITCHELL B.E., BROWN D.M., LUCK E.E., *et al.* (1994) Intralesional implant for treatment of primary oral malignant melanoma in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 204(2), 229-236
- KOENIG A., BIANCO S.R., FOSMIRE S., WOJCIESZYN J., MODIANO J.F. (2002) Expression and significance of p53, rb, p21/waf-1, p16/ink-4a, and PTEN tumor suppressors in canine melanoma. *Vet. Pathol.* 39(4), 458-472
- KOSOVSKY J.K., MATTHIESEN D.T., MARRETTA S.M., PATNAIK A.K. (1991) Results of partial mandibulectomy for the treatment of oral tumors in 142 dogs. *Vet Surg* 20(6), 397-401
- KUDNIG S.T., SÉGUIN B. (2012) *Veterinary Surgical Oncology*. Ames, Iowa, Wiley-Blackwell
- LANGENBACH A., MCMANUS P.M., HENDRICK M.J., SHOFER F.S., SORENMO K.U. (2001) Sensitivity and specificity of methods of assessing the regional lymph nodes for evidence of metastasis in dogs and cats with solid tumors. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 218(9), 1424-1428
- LASCELLES B.D.X., THOMSON M.J., DERNELL W.S., *et al.* (2003) Combined dorsolateral and intraoral approach for the resection of tumors of the maxilla in the dog. *J Am Anim Hosp Assoc* 39(3), 294-305
- LASCELLES B.D.X., HENDERSON R.A., SEGUIN B., LIPTAK J.M., WITHROW S.J. (2004) Bilateral rostral maxillectomy and nasal planectomy for large rostral maxillofacial neoplasms in six dogs and one cat. *J Am Anim Hosp Assoc* 40(2), 137-146
- MACEWEN E.G., PATNAIK A.K., HARVEY H.J., HAYES A.A., MATUS R. (1986) Canine oral melanoma: comparison of surgery versus surgery plus *Corynebacterium parvum*. *Cancer Invest.* 4(5), 397-402
- MAGNOL J., MARCHAL Th., DELISLE F., DEVAUCHELLE P., FOURNEL C. (1998) *Cancérologie clinique du chien*, T. Marchal. ed. Saint-Pierre-La-Palud

- MEIER F., SATYAMOORTHY K., NESBIT M., *et al.* (1998) Molecular events in melanoma development and progression. *Front. Biosci.* 3, D1005-1010
- MILLANTA F., FRATINI F., CORAZZA M., *et al.* (2002) Proliferation activity in oral and cutaneous canine melanocytic tumours: correlation with histological parameters, location, and clinical behaviour. *Research in Veterinary Science* 73(1), 45-51
- MODIANO J.F., RITT M.G., WOJCIESZYN J. (1999) The molecular basis of canine melanoma: pathogenesis and trends in diagnosis and therapy. *J. Vet. Intern. Med.* 13(3), 163-174
- MOORE A.S. (2002) Radiation therapy for the treatment of tumours in small companion animals. *Vet. J.* 164(3), 176-187
- MURPHY S., HAYES A.M., BLACKWOOD L., *et al.* (2005) Oral malignant melanoma - the effect of coarse fractionation radiotherapy alone or with adjuvant carboplatin therapy. *Vet Comp Oncol* 3(4), 222-229
- NEMANIC S., LONDON C.A., WISNER E.R. (2006) Comparison of thoracic radiographs and single breath-hold helical CT for detection of pulmonary nodules in dogs with metastatic neoplasia. *J. Vet. Intern. Med.* 20(3), 508-515
- ORLOW S.J., BOISSY R.E., MORAN D.J., PIFKO-HIRST S. (1993) Subcellular distribution of tyrosinase and tyrosinase-related protein-1: implications for melanosomal biogenesis. *J. Invest. Dermatol.* 100(1), 55-64
- OTTNOD J.M., SMEDLEY R.C., WALSHAW R., *et al.* (2013) A retrospective analysis of the efficacy of Oncept vaccine for the adjunct treatment of canine oral malignant melanoma. *Vet Comp Oncol* 11(3), 219-229
- OWEN L.N., World health organization (1980) TNM classification of tumors in domestic animals. Geneva, WHO
- PROULX D.R., RUSLANDER D.M., DODGE R.K., *et al.* (2003) A retrospective analysis of 140 dogs with oral melanoma treated with external beam radiation. *Vet Radiol Ultrasound* 44(3), 352-359
- RAMOS-VARA J.A., BEISSENHERZ M.E., MILLER M.A., *et al.* (2000) Retrospective Study of 338 Canine Oral Melanomas with Clinical, Histologic, and Immunohistochemical Review of 129 Cases. *Veterinary Pathology* 37(6), 597-608
- RASSNICK K.M., RUSLANDER D.M., COTTER S.M., *et al.* (2001) Use of carboplatin for treatment of dogs with malignant melanoma: 27 cases (1989-2000). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 218(9), 1444-1448

- RICHTER A., MURUA ESCOBAR H., GÜNTHER K., *et al.* (2005) RAS gene hot-spot mutations in canine neoplasias. *J. Hered.* 96(7), 764-765
- ROELS S., TILMANT K., DUCATELLE R. (2001) p53 expression and apoptosis in melanomas of dogs and cats. *Res. Vet. Sci.* 70(1), 19-25
- SALISBURY S.K., RICHARDSON D., LANTZ G.C. (1986) Partial Maxillectomy and Premaxillectomy in the Treatment of Oral Neoplasia in the Dog and Cat. *Vet Surg* , 16-26
- SALISBURY S.K., LANTZ G.C. (1988) Long-Term Results of Partial Mandibulectomy for Treatment of Oral Tumors in 30 Dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 24, 285-294
- SANDE R.D. (1992) Radiography, myelography, computed tomography, and magnetic resonance imaging of the spine. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 22(4), 811-831
- SCHMIDT J.M., NORTH S.M., FREEMAN K.P., RAMIRO-IBAÑEZ F. (2010) Canine paediatric oncology: retrospective assessment of 9522 tumours in dogs up to 12 months (1993-2008). *Vet Comp Oncol* 8(4), 283-292
- SCHULTHEISS P.C. (2006) Histologic Features and Clinical Outcomes of Melanomas of Lip, Haired Skin, and Nail Bed Locations of Dogs. *J Vet Diagn Invest* 18(4), 422-425
- SCHWARZ P.D., WITHROW S.J., CURTIS C.R., POWERS B.E., STRAW R.C. (1991) Mandibular Resection as a Treatment for Oral Cancer in 81 Dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 27, 601-610
- SERRA M., RABANAL R.M., MIQUEL L., DOMENZAIN C., BASSOLS A. (2004) Differential expression of CD44 in canine melanocytic tumours. *J. Comp. Pathol.* 130(2-3), 171-180
- SERRA M., MIQUEL L., DOMENZAIN C., *et al.* (2005) V3 versican isoform expression alters the phenotype of melanoma cells and their tumorigenic potential. *Int. J. Cancer* 114(6), 879-886
- SMEDLEY R.C., LAMOUREUX J., SLEDGE D.G., KIUPEL M. (2011) Immunohistochemical diagnosis of canine oral amelanotic melanocytic neoplasms. *Vet. Pathol.* 48(1), 32-40
- SMITH M.M. (1995) Surgical approach for lymph node staging of oral and maxillofacial neoplasms in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 31(6), 514-518
- SMITH S.H., GOLDSCHMIDT M.H., MCMANUS P.M. (2002) A comparative review of melanocytic neoplasms. *Vet. Pathol.* 39(6), 651-678

- SOYER C., DOLIGER S. (2011) Vade-mecum de cancérologie vétérinaire, 2^e ed. Paris, Med'com
- SPANGLER W.L., KASS P.H. (2006) The histologic and epidemiologic bases for prognostic considerations in canine melanocytic neoplasia. *Vet. Pathol.* 43(2), 136-149
- STEWART F.A., DÖRR W. (2009) Milestones in normal tissue radiation biology over the past 50 years: from clonogenic cell survival to cytokine networks and back to stem cell recovery. *Int. J. Radiat. Biol.* 85(7), 574-586
- SULAIMON S., KITCHELL B., EHRHART E. (2002) Immunohistochemical detection of melanoma-specific antigens in spontaneous canine melanoma. *J. Comp. Pathol.* 127(2-3), 162-168
- SULAIMON S.S., KITCHELL B.E. (2003) The basic biology of malignant melanoma: molecular mechanisms of disease progression and comparative aspects. *J. Vet. Intern. Med.* 17(6), 760-772
- TODOROFF R.J., BRODEY R.S. (1979) Oral and pharyngeal neoplasia in the dog: a retrospective survey of 361 cases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 175(6), 567-571
- TREGGIARI E., GRANT J.P., NORTH S.M. (2016) A retrospective review of outcome and survival following surgery and adjuvant xenogeneic DNA vaccination in 32 dogs with oral malignant melanoma. *J. Vet. Med. Sci.* 78(5), 845-850
- TUOHY J.L., SELMIC L.E., WORLEY D.R., EHRHART N.P., WITHROW S.J. (2014) Outcome following curative-intent surgery for oral melanoma in dogs: 70 cases (1998-2011). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 245(11), 1266-1273
- VERGANTI S., BERLATO D., BLACKWOOD L., *et al.* (2017) Use of Oncept melanoma vaccine in 69 canine oral malignant melanomas in the UK. *J Small Anim Pract* 58(1), 10-16
- WEBER L.W., BOWNE W.B., WOLCHOK J.D., *et al.* (1998) Tumor immunity and autoimmunity induced by immunization with homologous DNA. *J. Clin. Invest.* 102, 1258-1264
- WHITE R.A.S., JEFFERIES A.R., FREEDMAN L.S. (1985) Clinical staging for oropharyngeal malignancies in the dog. *J Small Anim Pract* 26(10), 581-594
- WHITE R. a. S. (1991) Mandibulectomy and Maxillectomy in the dog : long-term survival in 100 cases. *J Small Anim Pract* 32, 69-74

- WILLIAMS L.E., PACKER R.A. (2003) Association between lymph node size and metastasis in dogs with oral malignant melanoma: 100 cases (1987-2001). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 222(9), 1234-1236
- WITHROW S.J., HOLMBERG D.L. (1983) Mandibulectomy in the Treatment of Oral Cancer. *J Am Anim Hosp Assoc* 19, 273-286
- WITHROW S., MACEWEN E. (2013) *Small Animal Clinical Oncology*, 5^e ed. St. Louis (Mi), Elsevier
- WITHROW S., MACEWEN E. (2020) *Small Animal Clinical Oncology*, 6^e ed. St. Louis (Mi), Elsevier
- WONG C.W., LEE A., SHIENTAG L., *et al.* (2001) Apoptosis: an early event in metastatic inefficiency. *Cancer Res.* 61(1), 333-338
- YAZIJI H., GOWN A.M. (2003) Immunohistochemical markers of melanocytic tumors. *Int. J. Surg. Pathol.* 11(1), 11-15

LE MÉLANOME BUCCAL DU CHIEN : ÉTUDE RÉTROSPECTIVE SUR 34 CAS D'UN TRAITEMENT MULTIMODAL PAR CHIRURGIE, RADIOTHÉRAPIE ET IMMUNOTHÉRAPIE

AUTEUR : VINCENT MARIAUD

Le mélanome buccal est le cancer buccal le plus fréquent du chien. C'est un cancer très agressif tant du point de vue de l'infiltration locale que des métastases. Les sites de métastases les plus fréquents sont les nœuds lymphatiques et les poumons.

De nombreuses approches thérapeutiques ont déjà été envisagées, et l'exérèse large reste la meilleure option pour un contrôle local de la tumeur, bien qu'accompagnée de complications fréquentes. Les autres approches thérapeutiques, moins invasives sont accompagnées d'un taux de récurrence plus important. Les métastases sont fréquentes et les protocoles actuels de chimiothérapie ne permettent pas d'empêcher leur apparition.

Une approche par immunothérapie semble être une approche intéressante, et peu d'études se sont penchées sur l'efficacité du vaccin codant pour la tyrosinase humaine en association avec une exérèse chirurgicale et un protocole de radiothérapie par mégavoltage.

Après une synthèse sur les données actuelles des connaissances sur le mélanome buccal canin (aspects épidémiologiques, comportement biologique, modalités thérapeutiques), une étude rétrospective portant sur 34 chiens référés au centre MICEN VET pour mélanome buccal et traités de manière multimodale par exérèse chirurgicale, par radiothérapie par mégavoltage et immunothérapie a été effectuée. Cette étude avait pour but d'évaluer la médiane de survie ainsi que les taux de survie à 1, 2 et 3 ans ; d'évaluer le taux de récurrence et leurs dates d'apparition.

Le taux de récurrence dans notre échantillon était de 35.2 %, et le délai estimé était de 870 jours. Aucune exposition d'intérêt n'a été identifiée comme indicateur pronostique sur l'apparition de récurrences. Le temps de survie médian et les survies à 1, 2 et 3 ans étaient respectivement de 502 jours, et de 72.2 %, 34.7 % et 20.8 %. La taille de la tumeur primitive, le délai entre la chirurgie et la vaccination, l'existence d'une chirurgie antérieure et l'actualité de la vaccination ont été identifiés comme indicateurs pronostiques négatifs dans notre échantillon.

MOTS CLÉS : CANCÉROLOGIE / TUMEUR BUCCALE / CAVITÉ BUCCALE / MÉLANOME BUCCAL / TRAITEMENT / CHIRURGIE / RADIOTHÉRAPIE / IMMUNOTHÉRAPIE / ÉTUDE RÉTROSPECTIVE / CARNIVORE DOMESTIQUE / CHIEN

JURY :

Président : Pr. Le Corvoisier

1^{er} Assesseur : Pr. Manassero

2nd Assesseur : Dr. Reyes-Gomez

ORAL MALIGNANT MELANOMA : A RETROSPECTIVE STUDY OF A MULTIMODAL TREATMENT WITH SURGERY, RADIATION THERAPY AND IMMUNOTHERAPY ON 34 CASES

AUTHOR : VINCENT MARIAUD

Oral malignant melanoma is the most frequent oral cancer in the dog. Considering its local invasion and metastatic spread, oral malignant melanoma is considered as a very aggressive disease. The most common sites of metastasis are lymph nodes and lungs.

Several therapeutic approaches have already been explored, and wide excision is the best option for local tumor control, although commonly associated with complications. Other less invasive therapeutic approaches are associated with a higher rate of local recurrences. Whatever the technique used, metastatic spread remain of major concern and chemotherapy protocols are currently considered as ineffective.

An immunotherapy protocol should be interesting, few studies, however, looked upon the efficiency of vaccination against human tyrosinase in association with surgery and radiation therapy.

After a summary on current data of canine oral melanoma (epidemiologic aspects, biological behavior, therapeutic modalities) a retrospective study over 34 dogs referred at MICEN VET center for oral melanoma and treated by multimodal approach with surgical excision, megavoltage radiation therapy and immunotherapy has been reviewed. The goal of this study was to evaluate the median survival time as well as the 1, 2- and 3-years survival rates; and to evaluate the recurrence rate and their date of onset.

The recurrence rate in our sample was 35.2 %, and the estimated delay was 870 days. No exposure of interest has been shown to be prognostic indicator. The median survival time and the 1, 2- and 3- years survival rates were 502 days, 72.2 %, 34.7 % and 20.8 %, respectively. Tumor size, delay between surgery and immunotherapy, the presence of more than one surgery before definitive treatment have been identified as negatives prognostic indicators in our sample.

KEY WORDS: ONCOLOGY / ORAL TUMOR / ORAL CAVITY / ORAL MELANOMA / TREATMENT / SURGERY / RADIATION THERAPY / IMMUNOTHERAPY / RETROSPECTIVE STUDY / DOMESTIC CARNIVOROUS / DOG

JURY :

Président : Pr. Le Corvoisier

1^{er} Assesseur : Pr. Manassero

2nd Assesseur : Dr. Reyes-Gomez