

ETUDE PRELIMINAIRE SUR L'INTERET DU MARQUEUR DE PROLIFERATION Ki-67 POUR LE PRONOSTIC DES MELANOMES OCULAIRES DES CARNIVORES DOMESTIQUES

Thèse
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2005
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Frédéric, Michel FUCHS
Né le 03 mai 1978 à STRASBOURG (Bas-Rhin)

Directeur de thèse : Mme le Docteur Isabelle RAYMOND-LETRON

JURY

PRESIDENT :

M. François MALECAZE

Professeur à l'Université Paul Sabatier de
Toulouse.

ASSESEUR :

Mme Isabelle RAYMOND-LETRON

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse

M. Alain REGNIER

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de
Toulouse

Toulouse, 2005

NOM : FUCHS

PRENOM : Frédéric

TITRE : Etude préliminaire de l'intérêt du marqueur de prolifération Ki-67 pour le pronostic des mélanomes oculaires des carnivores domestiques.

RESUME :

Les mélanomes sont les tumeurs oculaires les plus fréquentes chez le chien et le chat. Ce travail présente, dans une première partie bibliographique, une synthèse des données sur ce sujet, en envisageant notamment les aspects de pathologie comparée et les éléments à valeur pronostique éventuelle.

La seconde partie de ce travail est constituée d'une étude rétrospective sur 43 cas de mélanomes oculaires du chien et du chat après diagnostic histopathologique. Des corrélations sont étudiées entre différents éléments épidémiologiques, cliniques lorsqu'ils sont connus, et histopathologiques parmi les différentes catégories de mélanomes oculaires (mélanomes de l'uvée, mélanomes épiscléaux) chez le chien et le chat. L'index de prolifération Ki-67 est aussi réalisé et confronté aux données précédentes.

MOTS-CLES : Mélanome, Œil, Chien, Chat, Pronostic, Prolifération cellulaire, Ki-67, Histopathologie, Immunohistochimie.

ENGLISH TITLE: Preliminary study of the interest of the proliferative marker Ki-67 for the prognosis of ocular melanomas of domestic pets.

ABSTRACT :

Melanomas are the most common intraocular feline and canine tumours. In the first part of this work, a bibliographic review is presented with particular focus on comparative pathology and findings with eventual prognostic value.

The second part is constituted by a retrospective study of 43 cases of feline and canine melanomas histologically diagnosed. Correlations are intended between various epidemiologic, clinical (when known), microscopic findings in different categories of ocular melanomas (uveal and episcleral melanomas) in dogs and cats. Ki-67 proliferative index is also studied and compared with previous findings.

KEY WORDS: Melanoma, Eye, Dog, Cat, Prognosis, Cell proliferation, Ki-67, Histopathology, Immunohistochemistry.

MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	: M.	P. DESNOYERS
Directeurs honoraires.....	: M.	R. FLORIO
	M.	J. FERNEY
	M.	G. VAN HAVERBEKE
Professeurs honoraires.....	: M.	A. BRIZARD
	M.	L. FALIU
	M.	C. LABIE
	M.	C. PAVAU
	M.	F. LESCURE
	M.	A. RICO
	M.	A. CAZIEUX
	Mme	V. BURGAT
	M.	D. GRIESS
	M.	J. CHANTAL
	M.	J.-F. GUELF
	M.	M. ECKHOUTTE

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **CABANIE Paul**, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. **DARRE Roland**, *Productions animales*
M. **DORCHIES Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
M. **BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **DELVERDIER Maxence**, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **MARTINEAU Guy-Pierre**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*
M. **MILON Alain**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

PROFESSEURS 2^e CLASSE

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires*
M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mme **KOLF-CLAUW Martine**, *Pharmacie -Toxicologie*
M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*

PROFESSEUR ASSOCIE

- M. **HENROTEAUX Marc**, *Médecine des carnivores*

INGENIEUR DE RECHERCHES

- M. **TAMZALI Youssef**, *Responsable Clinique équine*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAÎTRE DE CONFERENCES HORS CLASSE

M. JOUGLAR Jean-Yves, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

MAÎTRE DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

M. ASIMUS Erik, *Pathologie chirurgicale*
M. BAILLY Jean-Denis, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
M. BERGONIER Dominique, *Pathologie de la Reproduction*
M. BERTAGNOLI Stéphane, *Pathologie infectieuse*
Mme BOUCRAUT-BARALON Corine, *Pathologie infectieuse*
Mlle BOULLIER Séverine, *Immunologie générale et médicale*
Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. BOUSQUET-MELOU Alain, *Physiologie et Thérapeutique*
Mme BRET-BENNIS Lydie, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. BRUGERE Hubert, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
Mlle CADIERGUES Marie-Christine, *Dermatologie*
Mme CAMUS-BOUCLAINVILLE Christelle, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mme COLLARD-MEYNAUD Patricia, *Pathologie chirurgicale*
Mlle DIQUELOU Armelle, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. DOSSIN Olivier, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. FOUCRAS Gilles, *Pathologie du bétail*
Mme GAYRARD-TROY Véronique, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. GUERIN Jean-Luc, *Productions animales*
Mme HAGEN-PICARD Nicole, *Pathologie de la Reproduction*
M. JACQUIET Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. JAEG Jean-Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
M. LYAZRHI Faouzi, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. MARENDA Marc, *Pathologie de la reproduction*
M. MATHON Didier, *Pathologie chirurgicale*
Mme MESSUD-PETIT Frédérique, *Pathologie infectieuse*
M. MEYER Gilles, *Pathologie des ruminants*
M. MONNEREAU Laurent, *Anatomie, Embryologie*
Mme PRIYMENKO Nathalie, *Alimentation*
Mme RAYMOND-LETRON Isabelle, *Anatomie pathologique*
M. SANS Pierre, *Productions animales*
Mlle TRUMEL Catherine, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*
M. VERWAERDE Patrick, *Anesthésie, Réanimation*

MAÎTRE DE CONFERENCES CONTRACTUELS

M. CASSARD Hervé, *Pathologie du bétail*
N. DESMAIZIERES Louis-Marie, *Clinique équine*
M. LEON Olivier, *Elevage et santé en productions avicoles et porcines*

MAÎTRE DE CONFERENCES ASSOCIE

M. REYNOLDS Brice, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

M. CORBIERE Fabien, *Pathologie des ruminants*
Mlle LACROUX Caroline, *Anatomie pathologique des animaux de rente*
Mme MEYNADIER-TROEGELER Annabelle, *Alimentation*
M. MOGICATO Giovanni, *Anatomie, Imagerie médicale*
Mlle PALIERNE Sophie, *Chirurgie des animaux de compagnie*

A notre Président de thèse,

Monsieur le Professeur François MALECAZE,
Professeur des Universités et Praticien hospitalier
Service d'ophtalmologie,

Qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse

A notre jury de thèse,

Madame le Docteur Isabelle RAYMOND-LETRON,
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Service d'Anatomie pathologique,

Qui nous a fait l'honneur de présenter ce travail et de guider sa réalisation.

Monsieur le Professeur Alain REGNIER,
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Service de Physiopathologie oculaire,

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse.
Hommage respectueux.

A ma mère,

toujours présente et toujours à l'écoute ; je ne te serai jamais assez reconnaissant pour tout le soutien que tu m'as apporté,

A ma famille,

A mes amis,

A Arnaud, en souvenir de ces dernières années,

A Guillaume, toujours bon perdant au badminton,

A Marlène,

en espérant que ces trois années passées ne soient que les premières d'une longue histoire,

...soyez tous certains de l'affection que je vous porte.

SOMMAIRE

Introduction	11
--------------------	----

Première partie : synthèse bibliographique

I. Etude bibliographique comparée des mélanomes oculaires de l'uvée chez l'Homme et chez les Carnivores domestiques.	15
1. Incidence et facteurs de risque.	15
2. Localisation	16
3. Signes cliniques associés.	18
4. Diagnostic différentiel des mélanomes oculaires.....	19
a. Lésions tumorales et pseudo tumorales pouvant simuler un mélanome irien chez l'Homme.	20
b. Diagnostic différentiel des pigmentations iriennes chez les carnivores domestiques.	21
c. Autres types tumoraux.	23
5. Mélanome oculaire et pronostic vital.	23
a. Pronostic vital lors de mélanome uvéal chez l'Homme.	23
b. Pronostic vital lors de mélanome uvéal chez les carnivores domestiques.	24
c. Les métastases des mélanomes oculaires des carnivores domestiques existent-elles réellement ?	25
6. Méthodes d'évaluation pronostique des mélanomes oculaires en médecine humaine.	26
a. Influence des caractéristiques histopathologiques tumorales.	27
b. La composition de la tumeur.	28
c. Influence de l'extension tumorale.	29
d. Profil du patient et autres paramètres tumoraux.	29
e. Le choix du traitement.	29
7. Méthodes d'évaluation pronostique des mélanomes oculaires en médecine vétérinaire.	30
a. Intérêt pronostique de la classification de Callender pour les mélanomes oculaires canins.	30
b. Analyse histologique des mélanomes oculaires adaptée à l'espèce canine selon Bussanich.....	32
c. Mélanomes oculaires et intérêt pronostique de l'index mitotique selon Wilcock.	34
8. Particularités des mélanomes oculaires félins.....	36

II. Intérêt pronostique du marqueur de prolifération tumorale Ki-67.....	37
1. Structure et fonction.....	37
2. Expression.....	38

Deuxième partie : étude expérimentale

I. Matériel et méthode.....	43
1. Echantillonnage et prélèvements.....	43
2. Fiches de renseignements.....	43
3. Technique histologique conventionnelle.....	44
4. Technique immunohistochimique.....	44
a. Trypsinisation.....	45
b. Traitement au four à micro-ondes.....	45
5. Analyse histopathologique.....	46
a. Critères architecturaux.....	46
b. Critères cytologiques.....	47
6. Analyse immunohistochimique.....	48
II. Résultats.....	49
1. Epidémiologie.....	49
2. Evolution clinique.....	52
3. Résultats des analyses histopathologiques et immunohistochimiques. ...	52
a. Mode de croissance.....	52
b. Architecture.....	52
c. Vascularisation et emboles.....	53
d. Stroma réaction.....	53
e. Remaniements.....	53
f. Pigmentation tumorale.....	54
g. Atypies cytonucléaires.....	54
h. Type cellulaire.....	55
i. Index mitotique.....	57
j. Marqueur de prolifération Ki-67.....	57
k. Classification de Callender.....	58
l. Classification de Bussanich.....	58
m. Cas particulier des 2 mélanomes épibulbaires félines.....	59

III. Discussion.	61
1. Echantillonnage.	61
2. Suivi post-opératoire.	61
3. Aspect épidémiologique.	62
4. Nature et distribution des lésions.	63
5. Critères histologiques.	64
a. La pigmentation tumorale.....	64
b. Architecture et mode de croissance.....	64
c. Stroma réaction et remaniements.....	65
d. Index mitotique et atypies cytonucléaires.....	65
e. Type cellulaire.....	66
f. Vascularisation et emboles.....	66
6. Critères immunohistochimiques.	67
7. A travers nos connaissances actuelles, quelle conduite convient-il de tenir face à un mélanome oculaire ?	67
a. Considérations générales sur le traitement des mélanomes oculaires en médecine humaine.....	67
b. Traitement des mélanomes oculaires en médecine vétérinaire.....	68
Conclusion.	71
BIBLIOGRAPHIE	73
Table des illustrations	81
Annexes	83
Annexe 1 : glossaire.	
Annexe 2 : fiche de suivi clinique (exemple).	
Annexe 3 : grille de lecture histologique.	
Annexe 4 : résultats épidémiologiques et de suivi bruts.	
Annexe 5 : Résultats bruts de l'analyse histologique.	
a- mélanomes uvéaux canins.	
b- mélanomes épibulbaires félines.	
c- mélanomes épibulbaires canins.	
d- mélanomes uvéaux félines.	
Annexe 6 : illustrations photographiques	

Introduction

Les mélanomes oculaires, bien que relativement rares, constituent la tumeur oculaire la plus fréquente chez les carnivores domestiques. En outre, par leur diversité morphologique et clinique, ils constituent un défi diagnostique pour le vétérinaire praticien, tout comme par ailleurs en médecine humaine, où les erreurs diagnostiques dans ce domaine sont actuellement de l'ordre de 2% (d'après L. Zografos, 2002). Or, si ils sont si importants à déceler, c'est notamment du fait de leur malignité potentielle, qui apparaît fréquente chez l'Homme, rare chez le chien et prépondérante chez le chat.

Très tôt en médecine humaine, on s'est donc attaché à définir des critères pronostiques permettant d'estimer l'évolution tumorale et donc le temps moyen de survie, préalable à toute étude sur les avantages des différentes thérapeutiques. Un certain nombre de paramètres ont ainsi été évoqués, dont l'importance du type cellulaire constituant chaque tumeur.

Malheureusement, en médecine vétérinaire, aucun outil pronostique fiable n'a pu jusqu'à présent être proposé de manière statistiquement significative.

Dans cette étude, nous nous attacherons donc dans un premier temps à réaliser une synthèse bibliographique sur les mélanomes oculaires des carnivores domestiques, en les comparant aux mélanomes oculaires humains et en évoquant les différentes théories pronostiques. Puis, nous essayerons d'évaluer dans une deuxième partie expérimentale l'intérêt de chacune de ces théories et celui du marqueur immunohistochimique de prolifération cellulaire Ki-67 à partir d'une analyse rétrospective de cas.

Première partie :
Synthèse bibliographique.

I. Etude bibliographique comparée des mélanomes oculaires de l'uvée chez l'Homme et chez les Carnivores domestiques.

Au début du 19^{ème} siècle, Laennec décrit pour la première fois les tumeurs pigmentées cutanées et oculaires, qu'il appela "mélanoses". Suivirent ensuite différentes études descriptives dont celle de Knapp en 1868 ou de von Graefe en 1873. Etant donné que les premières analyses histopathologiques localisèrent les mélanomes dans l'uvée, ces tumeurs furent qualifiées d'origine mésenchymateuses et appelées mélanosarcomes. De nombreuses théories complémentaires ou au contraire totalement contradictoires se succédèrent ensuite durant près d'un siècle, jusqu'à celle de Westerveld-Brandon en 1952 qui démontra l'origine neurectodermique des mélanocytes tumoraux (d'après Zografos, 2002).

1. Incidence et facteurs de risque.

En médecine humaine, différents travaux portant sur l'incidence des mélanomes de l'uvée ont établi que celle-ci se situe dans un intervalle compris entre 0,49 (Shammas, 1977) et 0,89 (Grönwall, 1963) cas par 100 000 habitants et par an.

Toutefois, certains facteurs de risques modifient ou modifieraient sensiblement ces valeurs, comme :

- la présence de mélanocytose oculaire ou oculo-palpébrale qui multiplie le risque de développement d'un mélanome oculaire chez les individus concernés par un facteur de 35 d'après Gonder et al. (1982) et par 30 selon Velazquez et Jones (1983).
- l'appartenance au type caucasien qui prédispose 86 fois plus aux mélanomes oculaires que le type africain selon une étude nord-américaine (Margo, 1984); sans pour autant que celle-ci ne préjuge de l'effet direct de la pigmentation cutanée (génétique) ou indirecte (moindre exposition aux UV, dont le rôle n'est par ailleurs pas prouvé).
- l'origine héréditaire, envisagée à partir de plusieurs cas isolés (Zografos, 2002).

*** Le cas le plus probant est certainement celui d'une famille anglaise qui vécut à Londres au cours de la seconde moitié du XIXème siècle. Il fut décrit par Silcock en 1892, puis repris par Parsons en 1905 et par Davenport en 1927 : une femme énucléée à 38 ans pour un mélanome de l'uvée développa par la suite un carcinome du sein et décéda quelques années plus tard de probables métastases. Or :*
- son père et sa soeur jumelle furent aussi énucléés pour des affections non traumatiques;
- deux de ses filles présentèrent également un mélanome oculaire;
- celle de ces deux filles qui présenta en plus un carcinome du sein eut aussi deux filles qui développèrent un mélanome uvéal;
soit un total de sept personnes atteintes au sein d'une même famille.

- la présence de naevi, l'influence d'hormones (hormones sexuelles (Shields, 1991) et la Melanin Stimulating Hormon (MSH)) ou l'exposition à des substances chimiques, sans que des analyses statistiques ne soient parvenues à confirmer ces hypothèses.

En médecine vétérinaire des carnivores domestiques par contre, aucune étude n'a permis d'estimer l'incidence des mélanomes oculaires uvéaux, ni de mettre en évidence des facteurs de risque. Les auteurs s'accordent uniquement à dire que ces tumeurs sont plus rares dans l'espèce féline que dans l'espèce canine.

2. Localisation

La localisation préférentielle des mélanomes de l'uvée est également très différente entre médecines humaine et vétérinaire.

Ainsi, chez l'Homme, les mélanomes uvéaux sont le plus souvent situés dans la choroïde postérieure, où la symptomatologie précoce qu'ils entraînent autorise un diagnostic rapide. Contrairement à ces tumeurs de petite taille, celles des corps ciliaires sont généralement plus volumineuses car détectées plus tardivement du fait de leur clinique plus frustrante. Enfin, les mélanomes iriens sont les seuls détectables par le patient lui-même.

Les mélanomes uvéaux se retrouvent donc principalement dans la choroïde (80-90% des cas), dans les corps ciliaires (7-15%) et dans l'iris (2-5%) en médecine humaine. Toutefois, leur description ne se limite pas à leur seule localisation, et on distingue notamment des formes particulières, comme les mélanomes oculaires à localisation multiple, les mélanomes bilatéraux au pronostic fonctionnel sombre, les mélanomes annulaires (qui tendent à envahir l'angle irido-cornéen provoquant des glaucomes), les mélanomes parapapillaires, les mélanomes plats ou diffus ou encore les mélanomes métastatiques.

En médecine vétérinaire, la distinction est jusqu'à présent beaucoup moins complexe. Il est ainsi commun de regrouper sous le terme de mélanomes oculaires :

- *Les mélanomes de l'uvée antérieure (70-80%)*

Débutant souvent au niveau des corps ciliaires, ils sont diagnostiqués assez tardivement dans la majorité des cas. En effet, l'examen oculaire n'étant pas systématique, la mise en évidence de ces tumeurs n'est généralement permise que lorsqu'elles ont infiltré l'iris, l'angle irido-cornéen ou le limbe; la modification d'aspect de l'oeil (déformation irienne ou/et limbique, hyperpigmentation), mais aussi les éventuels signes cliniques associés (uvéite, glaucome, hyphéma...) constituant les motifs de consultation. Ce sont par ailleurs des tumeurs d'autant plus difficiles à diagnostiquer que leur aspect morphologique est très varié avec des tumeurs focales ou diffuses, nodulaires ou planes, pigmentées ou achromiques. **

Au niveau macroscopique, les mélanomes uvéaux antérieurs canins sont actuellement classés en 3 groupes selon leur mode de croissance (d'après Peiffer, 2001). On distingue ainsi :

- * Les mélanomes des corps ciliaires, les plus fréquents. Ils ont tendance à envahir l'iris antérieurement, la choroïde postérieurement et la sclère.
- * Les mélanomes de l'iris, s'étendant principalement dans le segment antérieur.
- * Les mélanomes iriens à croissance circonférentielle, plus ou moins symétrique, appelés mélanomes annulaires.

Toutefois, toutes les variantes entre ces trois groupes sont envisageables, et, dans chaque cas, il est notamment possible de rencontrer des effractions transsclérales, des atteintes cornéennes ou des comblements de l'angle irido-cornéen par des cellules tumorales.

- *Les mélanomes du limbe et de la sclère ou mélanomes épibulbaires ou mélanomes limbiques (20-30%).*

Ils se situent majoritairement en position dorsale sur le limbe et la sclère, si bien qu'on pense que les radiations solaires sont à l'origine de ces tumeurs. (schéma1)
Par ailleurs, une prédisposition raciale a été évoquée, notamment par Diters (1983), qui dans son étude sur 12 mélanomes épibulbaires en a recensé 9 sur des Bergers Allemands.

Enfin, étant parfois difficilement distinguables d'un mélanome de l'uvée antérieure avec effraction transsclérale, ces tumeurs nécessitent, outre la confirmation histologique, la réalisation d'un examen gonioscopique pour tenter de les différencier, l'angle irido-cornéen étant beaucoup moins souvent envahi dans le cas des mélanomes épibulbaires.

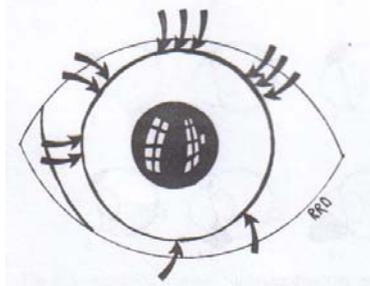


Schéma 1: Répartition des 12 cas de mélanomes épibulbaires publiés par Ditters.

** Les mélanomes peuvent même être difficiles à distinguer à l'examen anatomopathologique. Les mélanomes peu pigmentés à achromiques notamment sont parfois difficilement différenciables des tumeurs des corps ciliaires ou des fibrosarcomes intra-oculaires. En marquant le tissu avec la protéine S-100, on ne détecte pas d'antigène dans les tumeurs des corps ciliaires et dans les fibrosarcomes, alors qu'on obtient un résultat positif lors de mélanomes oculaires. Il existe aussi des anticorps anti-mélanocytaires comme le Mélan A, qui autorisent un diagnostic de certitude. Enfin, dans le cas de mélanomes hyperpigmentés, il arrive aussi de blanchir les tissus avec du permanganate de potassium pour apprécier la morphologie cellulaire.

- *Les mélanomes choroïdiens (5%).*

Les mélanomes uvéaux envahissant les corps ciliaires et la choroïde sont considérés comme étant des mélanomes de l'uvée antérieure avec extension postérieure. Ainsi, seules les tumeurs présentant uniquement dans la choroïde sont appelées mélanomes choroïdiens.

Bien que peu de cas aient été décrits dans la littérature, il semble que ces tumeurs soient majoritairement situées dans la choroïde à proximité du nerf optique, de forme conique aplatie et sans image d'anaplasie. Cette forme de mélanome oculaire, apparemment bénigne (index mitotique faible à nul, absence de cas décrit d'évolution maligne), est cependant de pronostic fonctionnel sombre, dans la mesure où elle s'accompagne fréquemment de décollements de la rétine.

3. Signes cliniques associés.

Ils dépendent essentiellement de la localisation tumorale. Or, comme la répartition de ces tumeurs chez l'Homme et chez les carnivores domestiques est très différente comme nous l'avons vu plus haut, les principaux symptômes varient significativement selon l'espèce considérée.

Ainsi, chez les animaux, les signes prédominants sont le glaucome, l'uvéite, la modification d'aspect oculaire, voire la cécité; tandis qu'en médecine humaine, l'atteinte visuelle constitue un motif prépondérant de consultation (tableau 1).

L'hypothèse selon laquelle la localisation tumorale est à l'origine de la clinique observée est en outre étayée par le fait que les mélanomes iriens humains, qu'ils soient circonscrits, diffus ou mixtes, se traduisent par une symptomatologie semblable à celle des mélanomes de l'uvée antérieure des carnivores domestiques : glaucome, hyphéma, uvéite, cataracte, altération de l'endothélium cornéen en cas d'invasion massive du segment antérieur...

Symptômes	Nombre de cas	Pourcentage (%)
Absents	340	10,5
Diminution de l'acuité visuelle	1578	48,8
Phosphènes	968	29,9
Scotome	620	19,2
Myodésopsies	587	18,2
Impression de voile	524	16,2
Métamorphopsies	468	14,8
Dilatation vasculaire épibulbaire	299	9,2
Micropsies	289	8,9
Xanthopsies	122	3,8
Douleurs oculaires	81	2,5
Inflammation, larmoiement	73	2,3
Oscilloscopies	53	1,6
Tumeur visible	38	1,2
Perte de vision stéréoscopique	36	1,1
Diplopie monoculaire	19	0,6
Fatigue visuelle	18	0,6
Diplopie	13	0,4
Diminution de la sensibilité lumineuse	12	0,4
Trouble de la sensation colorée	11	0,3
Photophobie	10	0,3
Hypermétropisation	4	0,1
Héméralopie	3	0,1
Perception d'un halo coloré	3	0,1
Divers	11	0,3

Tableau 1 : Symptomatologie des mélanomes de l'œil chez l'Homme. Evaluation de 3234 cas de mélanome de la choroïde et des corps ciliaires traités à l'unité d'oculo-oncologie de l'hôpital Jules Gonin à Lausanne, entre 1980 et 2000 (d'après L. Zografos, 2002).

4. Diagnostic différentiel des mélanomes oculaires.

Etant donné l'éventuelle malignité de ces tumeurs, il convient de réaliser un diagnostic précis de ces mélanomes, et d'inclure dans le diagnostic différentiel des phénomènes physiologiques ou pathologiques, dont la mise en évidence conditionne des approches pronostiques et thérapeutiques spécifiques.

Ainsi, le diagnostic de mélanome de l'uvée est établi en médecine humaine grâce à différents examens comme l'angiographie fluorescéinique, l'ultrasonographie, la gonioscopie, la diaphanoscopie, la tomодensitométrie, l'IRM ou la biopsie tumorale. Un examen est aussi pratiqué pour rechercher la présence d'éventuelles métastases, même si seulement 1 à 3% des patients présentent une dissémination métastatique de la tumeur au moment de sa mise en évidence. C'est pourquoi il est recommandé de réaliser un examen clinique général, avec examen de la surface cutanée, un bilan sanguin incluant PAL, LDH, γ GT, SGOT, SGPT, une radiographie pulmonaire, une ultrasonographie et une tomодensitométrie hépatique, voire une scintigraphie osseuse. Néanmoins, le diagnostic de mélanome de l'uvée reste difficile avant énucléation et analyse histopathologique.

En médecine vétérinaire, des contraintes matérielles et économiques rendent impossible la pratique de l'ensemble de ces examens. Aussi, lors de lésions pigmentées de l'oeil chez un carnivore domestique, un examen oculaire d'autant plus rigoureux doit permettre au clinicien de disposer de critères de temporisation ou au contraire d'intervention rapide.

Dans la mesure où les mélanomes choroïdiens sont rares chez les animaux et comme nous ne disposons pas pour le moment du matériel nécessaire au diagnostic différentiel avant énucléation en médecine vétérinaire, nous allons à présent nous contenter du diagnostic différentiel des pigmentations iriennes.

a. Lésions tumorales et pseudo tumorales pouvant simuler un mélanome irien chez l'Homme.

Afin d'éviter un trop fort taux d'erreurs diagnostiques et donc de sanctions thérapeutiques inutiles, il convient de connaître les principales lésions pouvant simuler un mélanome irien que sont :

* les naevi iriens et mélanocytomes du complexe iridociliaire difficiles à distinguer des mélanomes.

* les kystes iriens qui comprennent :

- les kystes iriens primaires
 - originaires du stroma
 - kystes congénitaux du stroma
 - kystes acquis du stroma
 - originaires de l'épithélium pigmentaire
 - kystes péri pupillaire
 - kystes intermédiaires
 - kystes périphériques iridociliaires
 - kystes disloqués (qu'ils soient repositionnés et fixés ou qu'ils flottent librement dans le vitré ou le segment antérieur).
- les kystes secondaires
 - kystes post-chirurgicaux
 - kystes et pseudo kystes liés à une tumeur
 - kystes parasitaires

* l'adénome de l'épithélium pigmentaire irien

* les hémangiomes iriens et les anomalies vasculaires de l'iris

* les léiomyomes de l'iris (mimant un mélanome achromique)

* les métastases, dont les métastases de carcinome.

* le syndrome endothélial irido-cornéen.

* mais aussi, le xanthogranulome juvénile, le rhabdomyosarcome irien, la glande lacrymale ectopique, l'hyperplasie lymphoïde irienne, l'adénome de Fuchs, l'abcès irien, le granulome syphilitique, la sarcoïdose, la kérato-uvéite herpétique, un corps étranger, l'ectropion uvéal, la sidérose, l'hémosidérose et le glaucome pigmentaire.

b. Diagnostic différentiel des pigmentations iriennes chez les carnivores domestiques.

En médecine vétérinaire, face à une pigmentation irienne, Peiffer (1981) recommande de décrire la lésion observée selon 3 critères : son extension oculaire (lésion confinée à l'iris ou envahissant le limbe, la cornée, l'angle irido-cornéen, les segments antérieur ou postérieur), sa pigmentation irienne (focale ou diffuse) et sa morphologie (plane ou en relief).

Ces critères morphologiques doivent notamment aider à distinguer des mélanomes uvéaux antérieurs :

* les mélanoses secondaires à une inflammation chronique :

Ces inflammations peuvent être granulomateuses ou non granulomateuses et sont généralement présentes lors d'uvéites chroniques subcliniques. Il convient alors de rechercher toute cause d'uvéite, comme la résorption de cataracte hypermûre.

* les mélanomes limbiques :

Ces tumeurs généralement très pigmentées sont situées sur le limbe ou la sclère. Or, comme les mélanomes uvéaux présentent parfois des effractions trans-sclérales au cours de leur croissance, il peut être difficile de les distinguer sans gonioscopie (les mélanomes limbiques n'envahissant que très rarement l'angle irido-cornéen).

* les éphélides (« freckles » dans la littérature anglo-saxonne) et les *naevi* :

On peut observer des mélanoses physiologiques (éphélides), correspondant à des accumulations focales bénignes de mélanocytes normaux, et des naevi, proliférations bénignes (encore que certaines puissent évoluer en mélanomes) de mélanocytes non totalement différenciés. L'attitude médicale à tenir consiste alors en une réévaluation régulière de ces pigmentations, la croissance en relief ou l'envahissement de l'angle irido-cornéen observable par gonioscopie devant, par précaution, orienter sur un diagnostic de mélanome.

* les kystes iriens et de l'épithélium postérieur de l'iris ou des corps ciliaires :

Ces kystes se présentent sous la forme d'une sphère creuse bordée de cellules épithéliales pigmentées ou non. Souvent observés une fois détachés, ils peuvent flotter dans le segment antérieur ou venir se fixer sur la cornée ou sur l'iris. Simples ou multiples, et pouvant encore augmenter de volume une fois libres, ils sont quasiment toujours asymptomatiques et se distinguent notamment des mélanomes par leur aspect sphérique très régulier et par leur transparence très nettement visualisable par transillumination.

* le glaucome pigmentaire :

Ce type de glaucome est dû à une hyperpigmentation oculaire bilatérale qui se traduit par un épaississement de l'iris et un envahissement par des cellules pigmentées de la sclère et de l'angle irido-cornéen, ce qui conduit à une diminution du débit de filtration et donc au glaucome. Cette pathologie, que l'on rencontre presque exclusivement chez les Cairn terriers, peut ainsi faire penser à un mélanome du fait de la pigmentation irienne et sclérale et de l'hypertension oculaire. Toutefois, la composante raciale et l'aspect bilatéral amènent généralement à exclure l'hypothèse de mélanome uvéal.

* les tumeurs pigmentées de l'iris et des corps ciliaires :

Ces tumeurs (adénomes, adénocarcinomes...) ne sont pas différenciables macroscopiquement des mélanomes. Seule l'analyse histopathologique est à même de les distinguer.

Ainsi, le diagnostic de mélanome de l'uvée reste difficile avant énucléation et analyse histopathologique. Il est à ce propos admis qu'un risque d'erreur de diagnostic clinique de 1 à 2% existe encore en médecine humaine aujourd'hui.

c. Autres types tumoraux.

Le diagnostic différentiel des mélanomes de la choroïde (suspectés par ophtalmoscopie directe ou indirecte, échographie ou angiographie fluorescéinique) doit comprendre :

- les autres causes de masses sous-rétiniennes (tumeurs, granulomes, hématomes...)
- les autres causes de pigmentation (pigmentation post-inflammatoire, naevi...)
- les pathologies à l'origine de décollements rétiniens.

Le diagnostic différentiel des mélanomes achromiques comprend essentiellement :

- les fibrosarcomes intra-oculaires souvent post-traumatiques, dans l'espèce féline
- les tumeurs des corps ciliaires
- les tumeurs oculaires métastatiques.

Enfin, le diagnostic différentiel des mélanomes épibulbaires comprend entre autres les mélanomes uvéaux antérieurs et les hernies choroïdiennes.

5. Mélanome oculaire et pronostic vital.

a. Pronostic vital lors de mélanome uvéal chez l'Homme.

Les premières études sur le pronostic vital des patients traités par énucléation pour mélanome uvéal ont été publiées par Callender en 1931.

Paul et al. en 1962 lors de travaux sur 2652 cas définirent une mortalité liée à la tumeur de 29% à 5 ans, de 40% à 10 ans et de 46% 15 ans après le traitement.

Par la suite, d'autres travaux abondèrent en leur sens, si bien que ces valeurs sont aujourd'hui classiquement admises et font référence.

Le fort pouvoir métastatique des mélanomes de la choroïde et des corps ciliaires est ainsi à l'origine d'un pronostic vital réservé à sombre. Sur une étude menée à l'Hôpital Gonin de Lausanne (d'après L. Zografos, 2002) sur des mélanomes traités par faisceau de protons accélérés, 338 (nombre total de cas non connu) métastasèrent avec une forte dissémination vers le foie (91,4% des cas), vers les poumons (16,5%) et vers les os (10,9%), d'autres distributions métastatiques étant rencontrées, comme, entre autres, les régions cutanées et sous-cutanées, ganglionnaires, gastro-intestinales, cérébrales ou encore rénales.

Les mélanomes iriens semblent quant à eux d'un meilleur pronostic. En effet, plusieurs travaux ont démontré le faible potentiel métastatique de ce type tumoral. Par exemple, Geisse et Robertson en 1985 ne diagnostiquèrent sur 1043 mélanomes iriens que 31 cas de dissémination (soit 3%) et Rones et Zimmermann en 1956, relevèrent sur 72 cas traités par iridectomie, une mortalité liée à la tumeur de 1,4% à 5 ans, de 3,3% à 10 ans et de 5,9% à 15 ans.

b. Pronostic vital lors de mélanome uvéal chez les carnivores domestiques.

Sur un répertoire total de 220 cas de mélanomes intraoculaires canins publiés dans la littérature (tableau 2) de 1957 à nos jours, une évolution métastatique n'est rapportée de façon certaine que chez 12 animaux (à noter toutefois que le suivi n'a pas toujours été possible et que les suivis réalisés n'ont pas tous été réalisés sur une même durée). Les mélanomes uvéaux apparaissent donc moins agressifs chez le chien que ce qu'ils ne le sont chez l'Homme dans leur ensemble, mais il faut cependant noter que dans la très grande majorité des cas, il s'agit de mélanomes de l'uvée antérieure, qui semblent métastaser assez peu chez le chien comme chez l'Homme.

La connaissance de ces données semble dès lors indiquer que la localisation tumorale est un facteur prédominant du risque métastatique.

Auteurs	Nombre de cas	Nombre de cas ayant métastasé
Saunders et Baron (1957)	11	2
Carter (1965)	1	/
Blodi (1967)	1	/
Magrane (1971)	6	1
Weisse (1971)	1	/
Peiffer (1981)	12	/
O' Toole (1983)	1	/
Diters (1983)	23	/
Ryan (1984)	31	2
Aguirre (1984)	1	/
Trucksas (1985)	29	/
Dubielzig (1985)	3	/
Weisse (1985)	1	/
Wilcock (1986)	72	3
Bussanich (1986)	14	1
Friedman (1989)	1	1
Minami (1992)	1	1
Schoster (1993)	1	/
Morgan (1993)	1	/
Collinson (1993)	8	/
Rovesti (2001)	1	1
Total	220	12

Tableau 2 : Revue de cas de mélanomes intra-oculaires canins publiés dans la littérature vétérinaire.

Pour autant, 2 observations nuancent cette théorie. (à moins que la localisation tumorale n'ait pas le même impact selon l'espèce considéré).

Tout d'abord, aucun des cas de mélanomes choroïdiens canins publiés dans la littérature n'a métastasé. Ensuite, les mélanomes félines, essentiellement originaires de l'uvée antérieure, présentent un pouvoir de dissémination beaucoup plus élevé que chez le chien : 56% de métastases selon Duncan et Peiffer (étude sur 9 cas), et 63% d'après Patnaik et Mooney dans une étude portant sur 16 cas.

Le pronostic vital ne peut donc pas se limiter à la localisation du phénomène néoplasique au sein de l'œil.

c. Les métastases des mélanomes oculaires des carnivores domestiques existent-elles réellement ?

Un certain nombre d'auteurs ayant évoqué des cas de métastases de mélanomes oculaires sans en apporter la preuve diagnostique par une autopsie ou/et une analyse histopathologique dans leurs publications, il est légitime de se demander si de telles disséminations se produisent véritablement chez les carnivores domestiques. Or, quelques cas bien documentés, démontrent très clairement l'existence de tels processus.

Minami et Patnaik publièrent notamment en 1992 le cas d'un mélanome oculaire diagnostiqué sur une femelle croisée Berger Allemand de 10 ans. Elle présentait une douleur oculaire depuis plusieurs mois, qui ne rétrocedait pas aux traitements topiques d'antibiotiques. L'apparition d'une aggravation soudaine, marquée par une perforation cornéenne et un hyphéma important, motiva la décision d'énucléation après que des tests hémato-biochimiques et des radiographies thoraciques n'aient révélé aucune anomalie.

L'analyse histopathologique conclut ensuite à la présence d'un mélanome uvéal antérieur, composé de cellules fusiformes et de cellules ovoïdes, à tendance proliférative faible. (index mitotique égal à 3).

Or, trois mois plus tard, la chienne souffrait de difficultés respiratoires sévères. Des tumeurs pulmonaires étant découvertes, une euthanasie fut pratiquée. Quant à l'autopsie qui suivit, elle conclut à la présence de tumeurs pulmonaires, rénales et dans la paroi du ventricule droit ; masses constituées de cellules du même type histologique que celles du mélanome uvéal. Cette chienne présentait donc indiscutablement des métastases consécutives à son mélanome oculaire.

Ces métastases semblent apparaître rapidement. En effet, les 2 cas observés par Ryan, les 3 par Wilcock et celui de Bussanich ont été diagnostiqués, comme celui évoqué plus haut, dans les 4 mois suivant l'énucléation. De même, la dissémination tumorale se ferait préférentiellement vers les poumons, les reins, le foie et le cœur.

Néanmoins, ces remarques sont à nuancer puisque ces métastases peuvent être diagnostiquées (et apparaître (?)) beaucoup plus tardivement, comme cela est décrit pour un chien de 6 ans, qui présenta des métastases vertébrales 18 mois après son énucléation.

Le potentiel de malignité de ces tumeurs nécessite donc d'établir pour chaque mélanome un pronostic précis sur son évolution et sur son pouvoir métastatique dans l'espèce considérée.

6. Méthodes d'évaluation pronostique des mélanomes oculaires en médecine humaine.

De nombreux facteurs influencent directement ou indirectement le pronostic vital des patients atteints de mélanomes intraoculaires :

Caractéristiques histopathologiques tumorales

le type cellulaire, le degré de pigmentation des cellules tumorales, l'activité proliférative, les critères cytomorphométriques objectifs, les anomalies du contenu de l'ADN, les anomalies chromosomiques ;

Composition tumorale

la richesse en fibres argyrophiles, la nécrose, l'infiltration leucocytaire, l'angioarchitecture ;

Extension tumorale

la taille, la localisation et la forme de la tumeur, l'infiltration de la sclérotique, l'extériorisation, l'infiltration du nerf optique, l'envahissement du segment antérieur ;

**PRONOSTIC
VITAL DES
MELANOMES
INTRAOCULAIRES
CHEZ L'HOMME**

Profil du patient

l'âge, le sexe, la race et l'état général ;

Choix du traitement

l'énucléation associée ou non à une radiothérapie, le traitement par irradiation de contact ou externe, la photocoagulation, l'hyperthermie, l'exérèse chirurgicale.

Autres paramètres

la vitesse de croissance de la tumeur, le délai d'observation avant le traitement, la récurrence locale ;

Schéma 2 : Facteurs ayant une influence sur le pronostic vital en médecine humaine.

a. Influence des caractéristiques histopathologiques tumorales.

• Type cellulaire et pronostic vital.

En 1931, Callender démontre l'importance du type histologique des mélanomes oculaires sur une étude de 111 mélanomes choroïdiens. Il définit alors 5 types de tumeurs :

- les tumeurs à cellules fusiformes A, cellules allongées, au noyau ovalaire à structure réticulaire. Le nucléole y est absent ou mal défini. Le pronostic vital est excellent.
- les tumeurs à cellules fusiformes B, cellules allongées, dont le noyau contient toujours un nucléole bien visible. Le pronostic est favorable.
- les tumeurs à disposition fasciculaire, composées de cellules fusiformes et de cellules polygonales, disposées en palissades et en pseudo-rosettes. Le pronostic est également favorable.
- les tumeurs à cellules épithélioïdes, cellules rondes ou polygonales d'assez grande taille, souvent polymorphes. Leur noyau est arrondi et contient 1 à 2 nucléoles proéminents. Les mitoses sont fréquentes et le pronostic vital est mauvais.
- les tumeurs dites mixtes, constituées de cellules fusiformes et de cellules épithélioïdes en proportion variable.

En 1939, une sixième catégorie fut rajoutée : les mélanomes nécrotiques, dont l'importance de la nécrose empêche de reconnaître le type cellulaire. Leur pronostic semble toutefois proche de celui des tumeurs mixtes.

Cette classification fut toutefois remaniée à plusieurs reprises :

* Par Zimmermann en 1958, qui, à partir des résultats d'une étude de 1872 cas suivis pendant 15 ans, regroupa les mélanomes à cellules fusiformes B et les tumeurs fasciculaires d'une part, et les mixtes et les nécrotiques d'autre part.

* Par Paul en 1962 qui démontra que les tumeurs composées de cellules épithélioïdes et les tumeurs mixtes sont beaucoup plus agressives que les autres types.

L'actuelle classification comprend 3 catégories de tumeurs :

- les naevi fusiformes :
Tumeurs de moins de 10 mm de diamètre et de moins de 3 mm d'épaisseur, conservant l'intégrité de la lame de Bruch et de la sclère, ne présentant ni nécrose ni activité mitotique et étant constitués de cellules avec un faible rapport nucléo-cytoplasmique et un nucléole petit à absent. Dans ce cas, on note une absence de décès par métastases.
- les mélanomes fusiformes :
Catégorie réunissant les mélanomes à cellules fusiformes A et B. Le pourcentage de décès par métastases est faible.
- les mélanomes mixtes :

Tumeurs au pronostic vital défavorable. On les subdivise selon deux critères :

- la présence de cellules épithélioïdes de grande taille est de plus mauvais pronostic
- le pourcentage de cellules épithélioïdes réparti en trois groupes : rares = moins de 1%, en quantité moyenne = 1 à 50% et prédominantes = plus de 50%, avec une aggravation proportionnelle du pronostic vital.

- La pigmentation tumorale.

Elle semble être un facteur indirect de pronostic. En effet, plus la pigmentation est importante, et plus le pronostic est sombre, mais les tumeurs les plus pigmentées sont aussi celles à cellules épithélioïdes ou de type mixte.

- Critères cytomorphométriques objectifs.

L'activité proliférative s'objective indirectement par la présence de noyaux et de nucléoles volumineux.

Certaines études se sont donc portées sur l'analyse de ces critères. Gamel et Mc Lean (1984) développèrent ainsi l'ISDNA (déviations standard inversées de la superficie des nucléoles) qui se révéla de très bon pronostic. Toutefois, l'utilisation d'un matériel spécifique a abouti à la mise en place d'une autre méthode, également fiable : la MLN (Mean Largest Nucleoli), basée sur le diamètre moyen des 10 nucléoles les plus volumineux à partir d'un champ d'observation prédéfini.

- Activité proliférative de la tumeur.

Elle peut être évaluée par des techniques microscopiques (index mitotique), immunohistochimiques (Ki-67 (Mooy, 1998), PC-10 (Seregard, 1998)) et par la quantification de la synthèse d'ADN (incorporation de Brd-Urd, cytométrie de flux).

b. La composition de la tumeur.

L'importance pronostique des fibres argyrophiles, de la nécrose et de l'infiltration leucocytaire ont fait l'objet d'études souvent contradictoires, si bien que ces critères ne sont généralement pas retenus. La densité vasculaire intra-tumorale par contre semble être un facteur de risque métastatique qu'il convient de prendre en compte (d'après L. Zografos, 2002).

c. Influence de l'extension tumorale.

Elle ne semble pas constituer un critère pronostique indépendant. Effectivement, la taille, la localisation, l'infiltration de la sclérotique, l'extériorisation ou encore l'envahissement du segment antérieur sont étroitement dépendants du type cellulaire. On peut toutefois noter que :

- la mortalité liée à la tumeur lors de mélanome extériorisé est de 60-70% à 5 ans.
- la forme dépend de la localisation et de la conservation de l'intégrité de la membrane de Bruch notamment.

d. Profil du patient et autres paramètres tumoraux.

Si des facteurs de risque ont pu être défini pour l'apparition des mélanomes oculaires, ni l'âge, ni le sexe, ni l'origine ethnique (et notamment la pigmentation de la peau) n'ont d'influence démontrée sur le pronostic vital.

Un autre paramètre tumoral est par contre d'importance significative sur le pronostic vital : la récurrence orbitaire. Celle-ci n'a lieu que dans 3% des énucléations (avec un pourcentage de 23% pour les énucléations sur mélanomes extériorisés (Shammas, 1977)). Les récurrences ont généralement lieu dans les deux années suivant l'intervention chirurgicale, mais elles peuvent avoir lieu plus tard. Shields et al. (1985) rapportèrent notamment le cas d'une récurrence 42 ans après l'énucléation. Le pronostic vital de ces patients est alors très sombre : 90 à 100% de mortalité dans les 5 années post-diagnostiques.

e. Le choix du traitement.

Différentes techniques ont été utilisées pour réaliser des traitements conservateurs. (photocoagulation, thermothérapie transpupillaire, irradiation, résection chirurgicale...). Cependant, les études menées sur ces pratiques n'ont pas permis de définir, de manière statistiquement significative, l'influence de leurs réalisations sur le pronostic vital.

7. Méthodes d'évaluation pronostique des mélanomes oculaires en médecine vétérinaire.

Historiquement, les mélanomes de l'uvée antérieure chez le chien ont été classés selon 3 modèles. Le plus ancien reprit le système de classification de Callender utilisé pour poser un pronostic sur les mélanomes uvéaux malins en médecine humaine et se basant sur la morphologie cellulaire. Un second système distingua 3 types cellulaires : les cellules arrondies à cytoplasme souvent très chargé en pigments (« plump cells »), les cellules fusiformes et les cellules ovoïdes, dont la répartition au sein d'une tumeur permettait une classification en trois groupes. Enfin, une troisième théorie proposa de répartir les mélanomes en deux entités, les bénins et les malins, selon la valeur de leur index mitotique.

Ce sont ces trois théories que nous allons présenter maintenant.

a. Intérêt pronostique de la classification de Callender pour les mélanomes oculaires canins.

Dans cette optique, une des premières études portant sur le mélanome oculaire canin a tenté d'observer si la classification de Callender, définie en médecine humaine, était susceptible d'être transposée à l'espèce canine. Difers et al. (1983) analysèrent ainsi 35 mélanomes oculaires : 12 de localisation épibulbaire et 23 intraoculaires.

Les mélanomes épibulbaires, observés dans 75% des cas chez des Bergers Allemands et dans 82,5% des cas en position dorsale, sont fortement pigmentés et présentent une évolution bénigne pour les 10 animaux qui purent être suivis entre 3 mois et 3 ans. L'analyse histologique démontre la prédominance de 2 types cellulaires : des cellules fusiformes, comparables aux cellules fusiformes de type A de la classification de Callender, et des cellules rondes (« plump cells »), souvent majoritaires, au cytoplasme comblé de grains de mélanines et au noyau, simple ou multiple, rond ou ovale avec un nucléole proéminent. Sur les 12 échantillons observés, seuls 3 présentent des plages de nécrose et 1 seul présente des mitoses sur une analyse de 10 champs à un grossissement de 430. Aucun n'a métastasé par la suite.

Les mélanomes intraoculaires sont quant à eux subdivisés en 4 entités, conformément à la classification de Callender, selon que leur type cellulaire est : des cellules fusiformes de type A ou B, des cellules épithélioïdes et des tumeurs mixtes, comprenant à la fois des cellules fusiformes de type B et des cellules épithélioïdes.

- Douze mélanomes à cellules fusiformes de type A sont ainsi mis en évidence. Il s'agit de tumeurs fortement pigmentées, très fermes et provenant de l'uvée antérieure. Aucun des 7 cas suivis ne métastasera. A l'histologie, les 2 mêmes types cellulaires que ceux observés dans les mélanomes épibulbaires sont retrouvés : les cellules rondes de type « plump cells », les plus nombreuses, et les fusiformes de type A, peu pigmentées, allongées et au noyau aplati et sans nucléole. Seules 4 présentent des foyers de nécrose et l'index mitotique reste faible (entre 0 et 2).

- Deux chiens présentent des mélanomes à cellules fusiformes de type B, qui diffèrent des précédents mélanomes par leur moindre teneur en cellules rondes et par leurs cellules fusiformes au noyau rond à ovale et contenant des nucléoles. Aucune métastase n'est constatée, pas plus que de foyers de nécrose. Quant à l'index mitotique, il est de 2, donc plus important que pour les précédents.

- Sept mélanomes sont mixtes, comprenant plus de cellules fusiformes de type B que de cellules épithélioïdes, en plus du contingent de cellules rondes. Ces tumeurs sont localement invasives, peu pigmentées à achromiques, avec des zones de nécrose sur 6 prélèvements et un index mitotique élevé de 7,4 [2-10]. Sur les 4 chiens suivis, 2 seront euthanasiés : l'un 20 jours après la chirurgie pour raison inconnue et l'autre 3 mois après pour masse hépatique indéterminée.

Groupe	Nombre de Cas	Pigmentation ¹	Index mitotique ²	Nombre de cas suivis	Nombre de cas décédés
Fusiformes A	12	3,5 [3-4]	0,6 [0-2]	7	0
Fusiformes B	2	2,5 [2-3]	2 [2-2]	2	0
Mixtes	7	1,4 [1-2]	7,4 [2-10]	4	2
Epithélioïdes	2	2 [1-3]	16 [2-30]	2	2

Tableau 3 : Récapitulatif et classification des cas de mélanomes intraoculaires publiés par Dítors (1983).

¹ : 1 : pas de pigmentation visible sur une section de 4-6µm ; 2 : légère pigmentation ; 3 : aspect brunâtre ; 4 : aspect noir.

² : Mitoses calculées sur 10 champs à un grossissement 430.

- Enfin, les auteurs observent 2 mélanomes à cellules épithélioïdes, tumeurs peu à pas pigmentées, très infiltrantes, composées quasi exclusivement de cellules épithélioïdes, avec un cytoplasme abondant et des noyaux arrondis et anaplasiques. Les 2 chiens seront euthanasiés dans les 3 semaines suivant l'énucléation : leur index mitotique est de 16 [2-30].

D'après cette étude, les mélanomes épibulbaires seraient donc *a priori* bénins et ne nécessiteraient qu'une résection cornéo-sclérale. Quant aux mélanomes intraoculaires, il semblerait qu'ils puissent être répartis après analyse histologique en 4 groupes conformément à la classification de Callender, mais sans pour autant en retirer les mêmes conclusions pronostiques. Aucune analyse statistique n'a effectivement pu être réalisée, bien qu'il paraisse que les mélanomes mixtes et à cellules épithélioïdes soient plus infiltrants. (morphologie, index mitotique plus élevé, évolution clinique...)

Une autre étude, menée par Ryan sur 40 mélanomes oculaires, parvint aux mêmes conclusions : l'observation d'une évolution bénigne pour les mélanomes épibulbaires et pour les mélanomes oculaires à cellules fusiformes de type A ou B, contrairement aux mélanomes à cellules épithélioïdes ou mixtes qui auraient un potentiel métastatique plus élevé. Deux chiens présentant l'une ou l'autre de ces 2 dernières formes tumorales développèrent effectivement des métastases : un Colley de 8 ans au niveau des reins, des poumons, des nœuds lymphatiques et du cœur, et un Beagle de 12 ans au niveau des reins, des poumons, du foie et de la rate.

Bien que non démontrée de manière statistiquement significative, la classification de Callender semblerait donc être, selon ces auteurs, un outil pronostique relativement fiable en médecine vétérinaire.

b. Analyse histologique des mélanomes oculaires adaptée à l'espèce canine selon Bussanich.

Bussanich, dans une analyse de 14 mélanomes oculaires canins, propose une autre classification histologique de ces tumeurs, car celles-ci se distinguent des mélanomes oculaires humains aussi bien par leur localisation, que par leur comportement et leur apparence macro/ et microscopique.

Il définit ainsi 3 types cellulaires :

- Type 1 : les grandes cellules rondes pigmentées (« plump cells ») qui sont des cellules arrondies, remplies de granules de pigment brun à marron, avec soit un noyau pycnotique et disposé à la périphérie du cytoplasme sur les cellules engorgées, soit un noyau vésiculaire et paracentral sur les cellules plus petites. Les zones de nécrose y sont fréquentes, contrairement aux nucléoles et aux figures de mitose.
- Type 2 : les cellules fusiformes, souvent en faible proportion, qui présentent un cytoplasme légèrement pigmenté et un noyau allongé et sans nucléole associé.

- Type 3 : les cellules ovoïdes, qui sont des cellules très serrées les unes contre les autres, avec des cytoplasmes qui restent toutefois distincts et peu pigmentés. Leur noyau est central, vésiculaire, avec des amas de chromatine en périphérie et des nucléoles violacés. Enfin, fait notable par rapport aux autres cellules précédemment évoquées, les figures de mitoses sont fréquentes. Ces cellules pourraient être assimilées à un croisement des cellules épithélioïdes et des cellules fusiformes de type B de la classification de Callender.

Les mélanomes sont alors classés en 3 groupes selon leur composition cellulaire :

- les tumeurs du groupe 1 sont constituées pour plus des 2/3 par des grandes cellules rondes pigmentées (« plump cells »). Les 3 mélanomes de cette étude qui appartiennent à ce groupe sont densément pigmentés, d'un volume moyen de 854 mm³, sans effraction trans-sclérale et avec un index mitotique de 0 (absence de figures de mitoses à l'analyse de 10 champs à un grossissement de 430). Aucun n'a métastasé par la suite.
- les 8 tumeurs du groupe 2 ne montrent pas de prédominance d'un des 3 types cellulaires. Elles ne métastasent pas, sont modérément pigmentées, d'un volume moyen de 2096 mm³, avec un index mitotique de 1 [0-6] et une prédisposition à se développer dans le globe oculaire ou sur la sclère, puisque 75% présentent une agressivité locale.
- enfin, les 3 tumeurs du groupe 3 se caractérisent par une forte prédominance de cellules ovoïdes, une faible pigmentation, un volume moyen de 8287 mm³ et un index mitotique élevé de 23 [10-47]. Une d'entre elles métastasera, sur un Rottweiler de 11 ans, qui sera euthanasié 5 mois après l'énucléation pour métastases rénales, pulmonaires et hépatiques.

Groupe	Nombre de cas	Pourcentage des types cellulaires			Volume moyen (cm ³)	Pourcentage effraction sclérale	Index mitotique moyen
		plump	fusiformes	ovoïdes			
1	3	85	12	3	0,854	0	0
2	8	45	33	22	2,096	38	1
3	3	25	1	74	8,287	100	23

Tableau 4 : Classification des mélanomes intra-oculaires canins selon Bussanich (1987).

Bussanich et al. rejettent donc l'utilisation de la classification de Callender pour établir un pronostic sur les mélanomes oculaires canins. En effet, selon eux, les différences d'agressivité et d'aspect macro et microscopique n'autorisent pas à employer avec fiabilité cette classification. Hormis le fait que les mélanomes oculaires canins métastasent beaucoup plus rarement que leurs homologues humains, ils sont aussi majoritairement originaires de l'uvée antérieure et non de la choroïde. De plus, ils sont souvent pigmentés chez le chien et présentent de larges plages de nécrose, ce qui est assez rare sur les mélanomes oculaires de l'Homme. Enfin, ils n'ont pas retrouvé tous les types cellulaires présents dans la classification de Callender, de même que cette dernière ne mentionne pas l'existence des grandes cellules rondes pigmentées, les « plump cells », qui sont quasiment systématiquement présentes dans cette étude.

Ils proposent donc une analyse histologique basée sur la prédominance d'une des 3 populations cellulaires qu'ils ont décrits comme outil pronostique des mélanomes oculaires canins.

c. Mélanomes oculaires et intérêt pronostique de l'index mitotique selon Wilcock.

Dans cette étude (Wilcock,1986), 91 mélanomes oculaires furent analysés : 19 épibulbaires et 72 uvéaux (dont 2 choroïdiens).

Les mélanomes oculaires furent d'abord classés en 3 catégories selon leurs proportions en cellules fusiformes et en grandes cellules rondes (« plump cells ») et selon l'aspect cytologique des cellules fusiformes. Ils distinguèrent ainsi :

- les tumeurs à cellules fusiformes bénignes : 7 cas, avec peu de figures de mitoses et composées presque exclusivement de cellules fusiformes.
- Les tumeurs à cellules fusiformes malignes : 16 cas (dont 2 achromiques), avec un rapport nucléo-cytoplasmique supérieur à 1 et un index mitotique supérieur à 4.
- Et les mélanocytomes : 68 cas, constitués de cellules fusiformes bénignes et de « plump cells », les mitoses n'étant jamais observées dans les « plump cells » et rares au niveau des cellules fusiformes.

Les mélanomes limbiques se retrouvaient généralement en position dorsale, et sur les 13 animaux qui furent suivis, aucun ne présenta de métastases.

Quant aux mélanomes uvéaux, un suivi clinique fut possible pour 48 d'entre eux. 39 s'apparentent à des mélanocytomes et n'ont pas d'évolution maligne, tandis que sur les 9 qui présentent une histologie *a priori* maligne, trois métastaseront dans les 3 mois suivant l'énucléation.

Si aucun critère histologique comme le type cellulaire, la nécrose, l'inflammation, le degré de pigmentation ou encore la présence d'infiltrations ne semble pouvoir être mis en corrélation avec le comportement biologique de la tumeur, ils constatent que l'index mitotique apparaît comme un outil pronostique intéressant. En effet, tandis que cet index est faible (<2) pour les mélanocytomes à évolution bénigne, il est de 4, 30 et 80 pour les 3 mélanomes qui métastasèrent.

Ils proposent alors une classification de ces tumeurs en 2 groupes :

- les mélanocytomes : terme englobant pour eux aussi bien les nodules iriens des jeunes chiens que les tumeurs limbiques très pigmentées, avec, entre ces deux extrêmes, la plupart des « mélanocytomes » de l'uvée antérieure qui contiennent des cellules fusiformes bénignes, des « plump cells » et des cellules de morphologies intermédiaires.
- Les mélanomes (malins) : tumeurs se distinguant des précédentes d'une part grâce à des caractères subjectifs comme un plus grand pléomorphisme nucléaire ou un rapport nucléo-cytoplasmique augmenté et, d'autre part, grâce à un index mitotique beaucoup plus élevé. (plus de 4 figures de mitoses à l'examen de 10 champs à un grossissement de 430).

Peiffer (2001) résume ces deux dernières théories par le tableau suivant :

Bussanich et al. (1987)		Wilcock et Peiffer (1986)	
Classification	Caractéristiques	Classification	Caractéristiques
Groupe 1	2/3 de « plump cells » Pigmentation dense Absence de figures de mitose Pas d'effraction transsclérale Faible volume tumoral	Mélanocytome	Prédominance des « plump cells » Quelques cellules fusiformes Mitoses rares
Groupe 2	Pas de prédominance d'un des Types cellulaires (plump, fusiformes et ovoïdes) Index mitotique voisin de 1 Pigmentation modérée Volume tumoral intermédiaire	Mélanomes bénins à cellules fusiformes	Majorité de cellules fusiformes Peu de plump cells Mitoses rares
Groupe 3	2/3 de cellules ovoïdes Faible pigmentation Index mitotique moyen de 23	Mélanomes à cellules fusiformes à potentiel malin	Cellules fusiformes pléomorphes Index mitotique ≥ 4 Pigmentation variable Rares plump cells

La dernière méthode est celle qui est actuellement la plus utilisée en médecine vétérinaire. Cependant, elle ne permet pas de poser un pronostic réellement fiable et son intérêt n'a par ailleurs pas été statistiquement prouvé. Aussi, dans l'étude qui suit, nous allons essayer d'évaluer la pertinence pronostique du marqueur immunohistochimique Ki-67, qui, étant plus performant pour traduire l'activité proliférative tumorale, devrait être, *a priori*, un paramètre discriminatif plus intéressant pour le pronostic vital que l'index mitotique.

8. Particularités des mélanomes oculaires félines.

Les mélanomes oculaires félines, moins couramment décrits dans la littérature vétérinaire que leurs homologues canins, ont néanmoins fait l'objet de plusieurs publications. Présents surtout au niveau de l'iris et des corps ciliaires (les extensions étant possibles, notamment à la sclère et à la choroïde), ils se singularisent des mélanomes oculaires canins par :

- leur morphologie :

Certains auteurs distinguent une forme nodulaire et une forme diffuse, plus typique de l'espèce féline, et qui, selon eux, serait de pronostic plus favorable que la forme nodulaire. (Acland, 1980)

- leur mode de croissance :

On observe généralement sur l'iris un à plusieurs foyers pigmentés à croissance lente (jusqu'à plusieurs années). La coalescence de ces différents foyers aboutit alors à l'obtention d'une plage de pigmentation dense et épaissie pouvant gêner l'écoulement d'humeur aqueuse au niveau de l'angle irido-cornéen et induisant ainsi un glaucome.

- leur forte tendance à métastaser :

Patnaïk en 1988 a relevé dans une étude 63% de métastases** pour les mélanomes oculaires félines (10 cas sur 16). Peiffer considère d'ailleurs que tous les mélanomes intraoculaires félines sont malins, mais que la période de latence avant l'apparition de métastases peut être très longue (plusieurs années). Il préconise ainsi, tout en rappelant qu'aucune étude n'en démontre statistiquement l'intérêt, de pratiquer des énucléations précoces lors de mélanomes oculaires félines.

** métastases rencontrées au niveau : des nœuds lymphatiques régionaux, des poumons, de la plèvre, du cœur, du médiastin, du diaphragme, des os, de la rate, du foie et de l'encéphale. (Bertoy (1988), Patnaïk (1988), Schwink (1988)).

II. Intérêt pronostique du marqueur de prolifération tumorale Ki-67.

L'anticorps Ki-67, correspondant à l'antigène Ki-67, a été découvert par Gerdes en 1983 au cours de travaux visant à produire des anticorps monoclonaux reconnaissant des antigènes nucléaires spécifiques des cellules de lymphome hodgkinien, les cellules de Hodgkin et de Sternberg-Reed.

Tandis que la plupart des anticorps reconnaissaient les structures nucléaires de toutes les cellules testées, le Ki-67 ne réagissait qu'avec les cellules en cycle cellulaire, et jamais avec celles transitoirement ou définitivement hors cycle. Ainsi, il réagissait avec un antigène nucléaire présent dans les cellules connues pour proliférer (centres germinatifs des follicules lymphoïdes, spermatogonies, collet de la muqueuse gastro-intestinale) et non avec ceux de cellules ne proliférant pas (monocytes, neurones, spermatozoïdes).

1. Structure et fonction.

Il fallut attendre 1991 pour que le premier isolement par immunoblot de l'antigène soit réalisé; isolement obtenu par une technique d'extraction rapide suivie d'une électrophorèse sur gel de polyacrylamide, adaptée pour la séparation de grosses protéines. C'est ainsi qu'on sut que le Ki-67 reconnaissait un volumineux complexe macromoléculaire qu'on pensait à la base constitué de deux sous-unités.

La structure polypeptidique primaire complète de la protéine fut publiée deux ans plus tard après clonage et séquençage de la totalité de son ADNc. Cette séquence correspond à un ARN messager de 11,5 kilobases qui n'est retrouvé par Northern blot que dans les cellules en cycle.

L'antigène Ki-67 correspond donc à une protéine non histone, dont deux isoformes (résultant d'un épissage alternatif de l'ARNm issu du gène Ki-67) respectivement de 320 et 359 kD ont été isolées. Toutes deux présentent une partie centrale composée d'un motif 16 fois répété et phylogénétiquement très conservé; motif central correspondant au site de reconnaissance de la plupart des anticorps reconnaissant spécifiquement le Ki-67.

L'épitope reconnu par le Ki-67 n'est par ailleurs pas spécifique de l'espèce humaine, puisque sa réactivité a été prouvée chez de nombreuses espèces : rat, souris, lapin, chien, chat, veau, mouton.

Si l'on sait que le Ki-67 est indispensable à la multiplication cellulaire (Scholzen ayant démontré que des micro-injections d'anticorps anti-Ki67 inhibent le déroulement de la phase S du cycle), on ne connaît pas encore son rôle exact au cours du cycle cellulaire.

Plusieurs hypothèses ont toutefois été évoquées :

* il ne serait pas lié à l'ARN, mais à l'ADN et aux protéines non-histoniqes. Il ferait en outre partie de l'enveloppe chromosomique et pourrait donc être impliqué dans la structuration des chromosomes.

* il a aussi été évoqué qu'il jouerait un rôle non pas d'initiateur mais de régulateur de l'activité de transcription des gènes liés à la prolifération cellulaire.

2. Expression.

Etant un marqueur de prolifération, l'antigène Ki-67 n'est pas détecté dans les cellules quiescentes, mais uniquement dans celles qui sont en voie de multiplication au cours du cycle cellulaire constitué de plusieurs phases : G1 pour Gap1, S pour Synthèse, G2 et M pour mitose. Or, durant ces différentes phases, le Ki-67 varie à la fois quantitativement et en localisation (schémas 3 et 4).

* L'expression du Ki-67 varie au cours du cycle cellulaire pour augmenter pendant les phases S et G2 et arriver à un maximum pendant la mitose. Sa demi-vie très brève, moins d'une heure, en fait un marqueur de prolifération idéal, beaucoup plus intéressant par exemple que le PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) à demi-vie plus longue.

* En phase G1, le marquage apparaît d'abord nucléoplasmique, puis il devient rapidement nucléolaire ou périnucléolaire. En phase S, le marquage s'étend à l'ensemble du nucléoplasme, bien que demeurant encore essentiellement nucléolaire. En phase G2, le marquage se répartit uniformément dans le noyau, de sorte que la prédominance nucléolaire n'est plus apparente.

Au cours de la mitose enfin, la localisation varie encore : si le marquage est intense en prophase, il se localise à la périphérie des chromosomes en métaphase, pour devenir plus punctiforme en anaphase et en télophase.

Enfin, pour révéler l'antigène Ki-67, l'anticorps monoclonal MIB-1 (isotype IgG1, DAKO, référence M7240) produit chez la souris a été utilisé car il est dirigé contre l'antigène Ki-67 humain. Or, la réactivité croisée de cet anticorps chez nos carnivores domestiques a déjà été prouvée (Roels, 1999), d'où son utilisation dans cette étude.

L'intérêt pronostique du marqueur immunohistochimique Ki-67 a déjà été démontré dans de nombreuses études en médecine humaine, mais aussi en médecine vétérinaire avec les études de Laprie (1996) sur l'expression tissulaire de l'épitope Ki-67 chez le chien à l'état normal, d'Abadie (2001) sur le mastocytome canin et de Lacroux (2002) sur les mélanomes cutanés canins, pour lesquels la limite décisionnelle a été fixée à 15%.

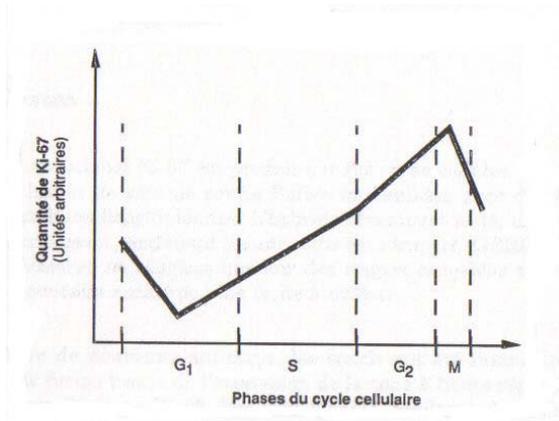


Schéma 3 : Variations quantitatives de Ki-67 lors du cycle cellulaire d'après Seigneurin (1991)

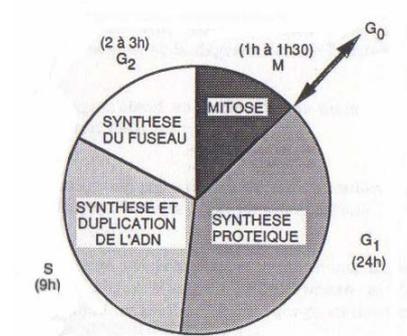


Schéma 4 : Le cycle cellulaire d'après Hall (1990)

Deuxième partie :
Etude expérimentale.

I. Matériel et méthode.

1. Echantillonnage et prélèvements.

Seuls les mélanomes uvéaux et épibulaires ont été retenus pour cette étude. Les localisations palpébrales ont ainsi été écartées de l'échantillonnage. Les prélèvements utilisés proviennent tous des collections du laboratoire d'Anatomie Pathologique de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse et les quarante et un cas retenus se sont limités aux années 1996 à 2004.

L'ensemble des prélèvements considérés correspond à des pièces d'exérèse chirurgicale (énucléation) ou à des biopsies fixées dans une solution de formol tamponnée à 10%, recoupées, incluses et archivées en blocs de paraffine.

2. Fiches de renseignements.

Chaque cas recensé s'accompagne d'une fiche de renseignements remplie en vue de l'examen histopathologique et d'une autre destinée à obtenir un suivi post-opératoire (Annexe 2).

- Fiche de renseignements associée à la demande d'examen histopathologique.

Elle comprend les coordonnées du propriétaire et du vétérinaire traitant, mais aussi une information la plus complète possible sur :

- l'animal atteint : espèce, sexe, race, âge
- le prélèvement, avec :
 - les commémoratifs cliniques (ancienneté des lésions, vitesse d'évolution, traitements antérieurs, résultats d'analyses précédentes, résultats d'examens complémentaires déjà effectués)
 - la nature du prélèvement : biopsie ou pièce d'exérèse chirurgicale
 - la description des lésions facilitée par la présence de deux coupes d'œil schématisées de face et de profil : localisation, aspect, distribution.

- Fiche de suivi clinique post-opératoire.

Elle reprend en quelques points les principales caractéristiques du cas étudié (propriétaire, animal, nature et date du prélèvement, ainsi que la conclusion histologique) et permet d'obtenir des données relatives :

- à l'évolution clinique de la lésion : décision thérapeutique consécutive à l'analyse histopathologique, éventuelle récurrence (dans le cas d'exérèse non totale), évolution
- au devenir clinique de l'animal : vivant ou décédé, causes du décès, présence ou non de métastases, examens complémentaires effectués...

3. Technique histologique conventionnelle.

Les blocs ont été coupés à 4 µm d'épaisseur. Les lames ainsi obtenues ont été séchées (37°C, une heure) puis déparaffinées dans du toluène (un bain de 5 minutes), avant d'être réhydratées dans des bains d'éthanol de concentrations décroissantes (éthanol absolu : un bain de 5 minutes, éthanol à 95° : un bain de 5 minutes, eau courante : un bain de 5 minutes). Une coloration conventionnelle à l'Hémalun-éosine a ensuite été réalisée en plongeant les lames 20 secondes dans une solution d'Hémalun de Mayer, puis en les rinçant à l'eau courante pendant 5 minutes et en les plongeant enfin dans une solution d'éosine-érythrosine aqueuse à 1%.

Les lames ont été à nouveau déshydratées par des bains d'éthanol de concentrations croissantes, puis placées dans du toluène. Des lamelles ont été alors montées en milieu synthétique avant lecture des lames.

4. Technique immunohistochimique.

- Immunomarquage.

L'analyse immunohistochimique est réalisée sur des sections de 3 µm d'épaisseur. Les lames sont déparaffinées à l'aide de 3 bains successifs de toluène (5 minutes par bain) ; puis elles sont réhydratées dans deux bains successifs d'acétone (deux fois 5 minutes) et un bain de 5 minutes d'eau courante. Cette technique est celle utilisée en routine au service d'Anatomie Pathologique de l'Ecole Vétérinaire de Toulouse.

- Démasquage antigénique.

Le démasquage des sites antigéniques de Ki-67 est obtenu par l'action couplée de la trypsine et de la chaleur : c'est la phase de prétraitement.

a. Trypsinisation.

Cette technique permet la digestion enzymatique et le démasquage antigénique. Une trypsinisation de 6 minutes à 37°C est effectuée dans le tampon phosphate salé (TPS) dilué au 1/10^{ème} à pH 7,6 et trypsiné à 0,1%. Un rinçage à l'eau courante pendant 5 minutes arrête enfin l'action de la trypsine.

b. Traitement au four à micro-ondes.

Les lames sont plongées dans un bac contenant 250 ml de tampon citrate à pH proche de 6, puis chauffées à la puissance de 700 watts pendant 10 minutes en surveillant l'évaporation du tampon. 50 ml de tampon sont ensuite ajoutés dans le bac pour réaliser un deuxième passage au four à micro-ondes pendant 5 minutes. Une dernière addition de 25 ml de tampon est ensuite effectuée avant le dernier chauffage de 5 minutes, après quoi on laisse refroidir les lames pendant ½ heure.

A la fin de cette première étape, les coupes sont cerclées à l'aide du Dako pen.

- Inhibition des marquages non spécifiques.

Après inhibition des peroxydases endogènes dans un bain de méthanol additionné de peroxyde d'hydrogène pendant 30 minutes à température ambiante, les lames sont équilibrées dans une solution de TPS (1/10^{ème}) additionnée de 1% de Sérum Albumine Bovine. Afin de minimiser les fixations non protéiques, un sérum normal de chèvre dilué au 1/10^{ème} dans du TPS est appliqué pendant 20 minutes à température ambiante.

- Marquage immunohistochimique.

- Première couche.

Sans rincer, l'excès de sérum est retiré et l'anticorps monoclonal MIB-1 (code n° M7240, DAKO, Danemark) dilué au 1/50^{ème} dans du TPS à 1% de SAB est laissé en place une heure.

- Deuxième couche.

On rince ensuite les lames dans trois bains successifs de TPS lacté de 5 minutes chacun, puis on les recouvre durant 35 minutes d'anticorps de chèvre anti-immunoglobuline de souris biotinilés (Kit Dakocytonation) dilué au 1/100^{ème} dans du TPS à 1% de SAB.

- Troisième couche.

Après un nouveau rinçage, les lames sont laissées dans l'incubateur 35 minutes, recouvertes par un complexe Avidine/StrepAvidine-Peroxydase biotynilé dilué au 1/100^{ème} dans du TPS à 1% de SAB.

- Révélation.

Après un rinçage, l'activité de la peroxydase est révélée par l'AEC (3- amino- 9- éthyl carbazole, réf K 3464- dakocytonation) durant 20 minutes. Ce chromogène donne une coloration rouge de l'antigène cible.

- Contre-coloration et montage des coupes.

Elle se fait par l'hématoxyline de Harris pure pendant 15 secondes. Puis on rince et on laisse bleuir les noyaux 5 minutes dans l'eau courante. Les lames sont alors déshydratées puis montées en résine synthétique ; les noyaux positifs étant colorés en marron.

5. Analyse histopathologique.

Les lames colorées à l'hémalun-éosine ont été observées en aveugle, en prenant en compte des critères architecturaux et cytologiques. Les critères sont enregistrés dans des grilles de lecture (Annexe 3).

a. Critères architecturaux.

- Mode de croissance.

Le mode de croissance est soit infiltrant soit expansif.

Une tumeur expansive repousse les structures adjacentes tout en conservant une délimitation assez nette ; elle est en général associée à des tumeurs bénignes ou à une évolution encore précoce.

Une tumeur infiltrante se caractérise par des limites architecturales beaucoup moins nettes, en formant notamment des cordons ou des digitations cellulaires qui envahissent les structures voisines ; elle est souvent associée à la malignité.

- Forme de la tumeur.

Dans cette étude, les tumeurs sont qualifiées de diffuses, nodulaires ou multinodulaires, avec un comblement plus ou moins important des cavités oculaires.

- Stroma réaction.

Pour proliférer, les cellules cancéreuses ont besoin de nutriments et de pouvoir éliminer leurs déchets. Ces échanges sont possibles tant que la tumeur n'excède pas quelques millimètres d'épaisseur, mais, au-delà, la tumeur doit acquérir un système sanguin plus riche : c'est l'angiogénèse ou néovascularisation. Or, pendant et après cette néovascularisation, un tissu composé entre autres de fibroblastes et de cellules vasculaires se développe permettant à la fois à la tumeur de se constituer un tissu de soutien et à l'organisme d'isoler le tissu tumoral. Cette réaction, appelée stroma réaction, parfois plus volumineuse que la tumeur elle-même, peut être :

- o très fibreuse : tumeur solide, riche en collagène
- o inflammatoire lymphoïde, avec des infiltrations lymphoplasmocytaires péri et/ou intra-tumorales
- o angiomateuse (très vascularisée).

- Remaniements.

Dans notre étude, ce sont notamment des remaniements nécrotiques ou hémorragiques.

b. Critères cytologiques.

- Type cellulaire.

On se réfère pour cela à la classification de Callender d'une part et à celle de Bussanich d'autre part.

- Atypies cytonucléolaires.

Notamment celles concernant l'irrégularité de taille des cellules (anisocytose) et celle des noyaux (anisocaryose), mais aussi la nucléolation ou la présence de cellules géantes.

- Pigmentation tumorale.

Une appréciation semi-quantitative de l'ensemble de la pigmentation de la tumeur est réalisée, en donnant une note de 0 pour les mélanomes achromiques et une note de 3 aux tumeurs pour lesquelles l'ensemble des cellules est pigmenté.

- L'index mitotique.

Calculé en additionnant les mitoses observés sur 10 champs à un grossissement de 400 (méthode de Wilcock).

- Emboles.

Les emboles (ou invasions vasculaires tumorales sanguines ou lymphatiques) constituent un critère péjoratif très important dans l'évolution d'une tumeur.

6. Analyse immunohistochimique.

Le comptage est effectué au grossissement 400, et on considère positives, les cellules tumorales présentant un marquage nucléaire total, focal ou nucléolaire. Pour chaque échantillon, environ 1000 cellules tumorales réparties dans 10 champs représentatifs sont observées, afin de déterminer pour chaque cas l'index Ki-67 selon la formule :

$$\text{Index Ki-67 (\%)} = (\text{Nombre de cellules positives} / 1000 \text{ cellules tumorales}) \times 10$$

II. Résultats.

1. Epidémiologie.

- Les résultats individuels sont présentés dans l'annexe n°2.

- Le sexe de l'ensemble des animaux concernés est connu ; et on n'observe aucune prédisposition sexuelle :

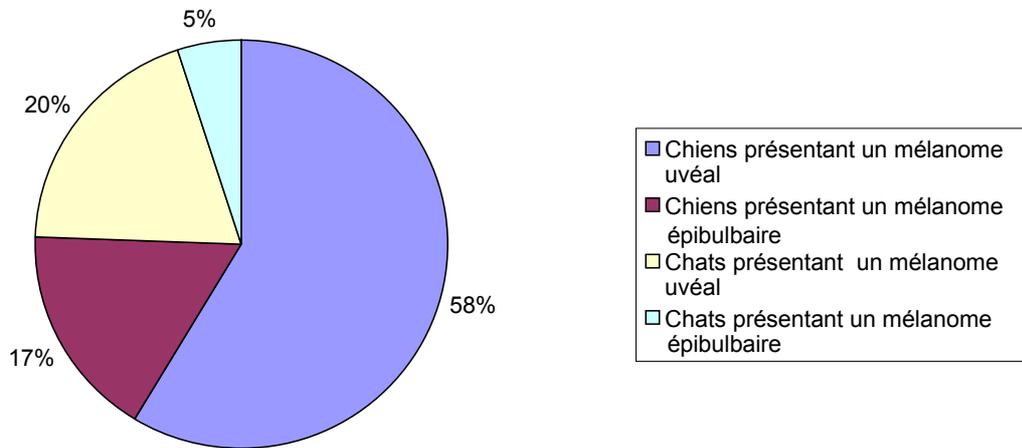
* qu'elle soit globale : 23 mâles et 18 femelles

* ou caractéristique de l'espèce et de la localisation tumorale :

	Mélanome uvéal	Mélanome épibulbaire
Chiens	13 mâles et 11 femelles	5 mâles et 2 femelles
Chats	4 mâles et 4 femelles	1 mâle et 1 femelle

- La quantité de mélanomes oculaires obtenue est plus importante dans l'espèce canine (31) que dans l'espèce féline (10), de même qu'on observe dans ces deux espèces plus de mélanomes uvéaux que de limbiques ; à savoir respectivement 23 et 7 chez le chien et 8 et 2 chez le chat. (cf. graphique ci-dessous)

Schéma 5 : répartition des 41 cas de mélanomes étudiés en fonction de l'espèce et de la localisation tumorale.

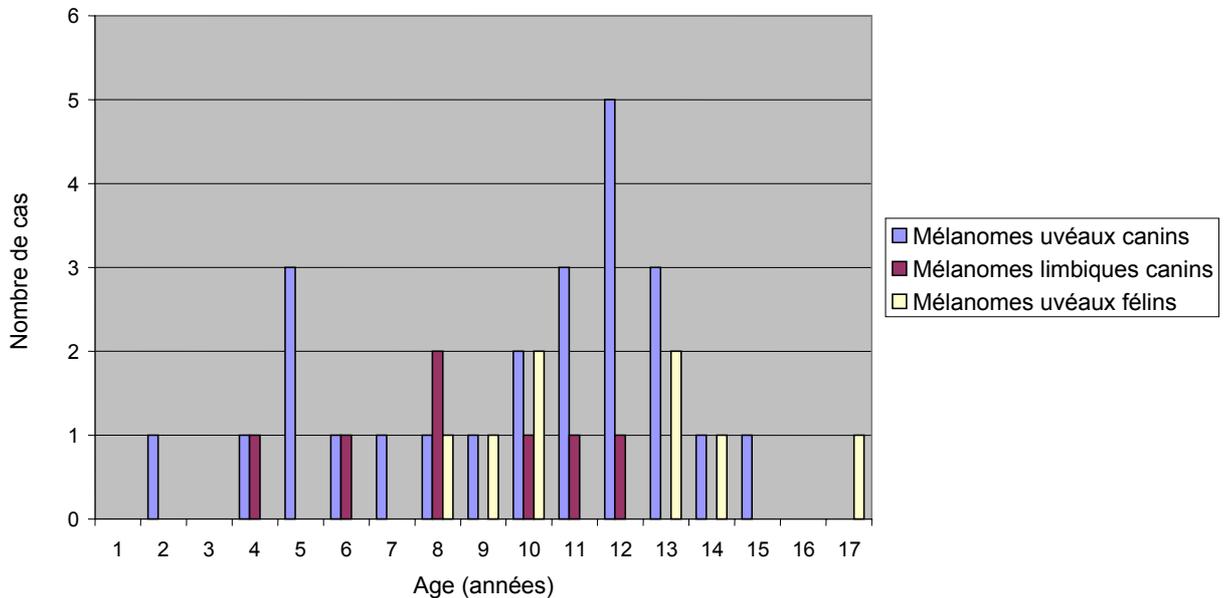


- L'âge des sujets atteints varie sensiblement.

Ainsi, pour les mélanomes de l'uvée chez le chien, la moyenne d'âge au moment de l'intervention par le vétérinaire traitant est de 9,5 ans [2 ; 14] et de 11,7 ans [8 ; 17] chez le chat. Quant aux mélanomes épibulbaires, l'âge moyen est de 8,7 [4,5 ; 13] chez le chien et de 10 [10 ; 10] chez le chat.

Il semble donc que l'apparition (ou le diagnostic ?) des mélanomes oculaires chez le chat est plus tardif que ce qu'il l'est chez le chien.

Schéma 6 : répartition des mélanomes en fonction de l'espèce, de la localisation tumorale et de l'âge.



- On n'observe pas de prédisposition raciale, même si sur les 31 chiens comptabilisés dans cette étude, 8 sont des labradors ou croisés labradors et 6 des bergers allemands.

- Localisation des mélanomes.

Sur les 9 mélanomes épibulbaires observés, 6 sont en position dorsale, 1 en position temporale et 2 ont une localisation qui n'est pas précisée. On note donc bien une prédisposition pour la région dorsale, ainsi que le mentionne Diters dans son étude, mais on n'observe pas une prédominance aussi nette des races type Berger Allemand ou Berger Belge (3 cas sur 7 ici contre 9 cas sur 12 dans ses travaux).

Quant aux mélanomes uvéaux, ils sont tous issus de l'uvée antérieure et aucun de la choroïde.

2. Evolution clinique.

Sur les 41 cas de l'échantillon, seuls 15 ont fait l'objet d'un suivi à 6 mois ou plus, à savoir :

- 9 mélanomes uvéaux canins, sur lesquels 4 animaux moururent (1 par euthanasie (a) : atteinte du deuxième œil, 2 de pathologie cardiaque, et 1 de probables métastases sur rate, foie et péritoine (b)). Nous considérerons ici que les cas (a) et (b) correspondent à des disséminations métastatiques.
- 4 mélanomes limbiques canins, sans décès associés
- et 2 mélanomes uvéaux félines, les 2 chats mourant 1 mois après l'intervention, de probables métastases, (c) et (d).

3. Résultats des analyses histopathologiques et immunohistochimiques.

a. Mode de croissance.

Sur les 15 cas pour lesquels on dispose d'un suivi, on note une prédominance du type infiltrant :

- pour les mélanomes uvéaux canins : 1 type diffus circonférentiel infiltrant, 1 expansif et 7 infiltrants, dont (a) et (b).
- pour les mélanomes limbiques canins : 1 expansif, 1 infiltrant et 2 non évalués, car correspondant à une biopsie ou à une exérèse incomplète.
- pour les mélanomes uvéaux félines : 8 infiltrants.

	mélanomes uvéaux canins		mélanomes limbiques canins		mélanomes uvéaux félines	
infiltrant	22	<i>(5 + (a) + (b))</i>	4	<i>(1)</i>	8	<i>((c) + (d))</i>
diffus	1	<i>(1)</i>	0		0	
expansif	1	<i>(1)</i>	1	<i>(1)</i>	0	
non évalué	0		2	<i>(2)</i>	0	

Tableau 5 : répartition des cas de mélanomes en fonction de leur genre et de leur mode de croissance (dont cas suivis en italique).

b. Architecture.

Dans notre échantillon de cas, les mélanomes canins paraissent essentiellement nodulaire ou multi-nodulaire (81,8% des uvéaux et 100% des limbiques), tandis qu'ils semblent au contraire diffus chez le chat (81% des mélanomes uvéaux félines).

L'architecture des mélanomes est donc a priori très différente selon l'espèce considérée.

	mélanomes uvéaux canins		mélanomes limbiques canins		mélanomes uvéaux félins	
diffus	4	(1)	0		6	((c) + (d))
nodulaire	16	(5 + (a) + (b))	3	(1)	0	
multi nodulaire	2	(1)	3	(2)	0	
Comblement oculaire	2		0		2	
non évalué	0		1	(1)	0	

Tableau 6 : répartition des cas de mélanomes en fonction de leur genre et de leur architecture (dont cas suivis en italique).

c. Vascularisation et embolies.

La vascularisation est presque toujours présente sur l'ensemble des prélèvements, à une intensité variable, mais les embolisations vasculaires tumorales ne sont observées que dans 5 cas : 1 non suivi sur un mélanome uvéal canin, les 2 mélanomes uvéaux félins documentés et 2 autres uvéaux félins, soit des embolies dans 50% des cas de mélanomes uvéaux chez le chat et dans 4,5% chez le chien.

d. Stroma réaction.

	mélanomes uvéaux canins		mélanomes limbiques canins		mélanomes uvéaux félins	
Absente	17	(3+ (b))	5	(2)	8	((c) + (d))
Discrète	6	(3+ (a))	2	(2)	0	
Importante	1	(1)	0		0	

Tableau 7 : Répartition des cas de mélanomes en fonction de leur genre et de la stroma réaction (dont cas suivis en italique).

e. Remaniements.

Sous le terme de remaniements, nous entendons ici la présence de nécroses ou d'hémorragies.

Ils paraissent plus fréquents sur les mélanomes uvéaux (54,5% chez le chien et 50% chez le chat) que sur les épibulbaires (14% chez le chien) et sont présents dans 3 des 4 cas à évolution maligne. ((a), (b) et (d))

	mélanomes uvéaux canins		mélanomes limbiques canins		mélanomes uvéaux félins	
Absent	11	(4)	6	(3)	4	(c)
Nécrose	11	(3+ (a) + (b))	1	(1)	1	

Hémorragie	2	(2)	0	1	
Nécrotico-hémorragique	0		0	2	(d)

Tableau 8 : Répartition des cas de mélanomes en fonction de leur genre et des remaniements (dont cas suivis en italique).

f. Pigmentation tumorale.

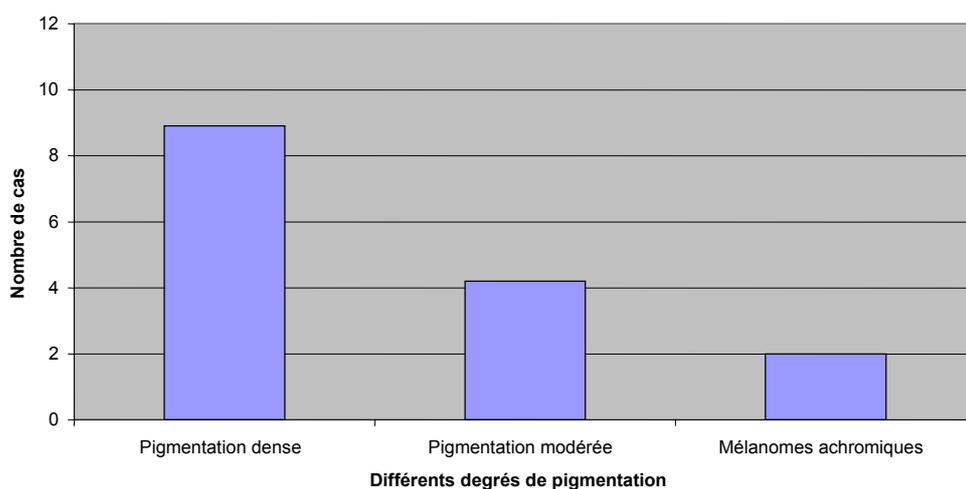
Si la pigmentation tumorale n'est jamais dense pour les mélanomes uvéaux félines (0%), elle est essentiellement dense pour les limbiques canins (85%) et variables pour les uvéaux canins (50%).

A noter que les 4 cas suspects de métastases ont une pigmentation tumorale globale mixte ((a), (b), (c)) à rare (d).

	mélanomes uvéaux canins		mélanomes limbiques canins		mélanomes uvéaux félines	
Dense	11	(6)	6	(3)	0	
Mixte	5	((a) + (b))	1	(1)	4	(c)
Rare (achromique)	8	(1)	0		4	(d)

Tableau 9 : Répartition des cas de mélanomes en fonction de leur genre et de leur pigmentation (dont cas suivis en italique).

Schéma 7 : Répartition des 15 cas suivis en fonction de l'intensité de la pigmentation des cellules tumorales.



g. Atypies cytonucléaires.

Elles sont souvent difficiles à apprécier compte tenu de la pigmentation des cellules tumorales. Seule la nucléolation, caractéristique et systématiquement présente à une intensité variable, est réellement évaluable.

h. Type cellulaire.

Il est rare d'observer un type cellulaire unique (épithélioïde, fusiforme, plump cells) au sein des mélanomes. Cependant, dans les cas où une population cellulaire semble constituer plus de 80% de la population tumorale pour un prélèvement donné, nous estimons dans cette étude que le type cellulaire est « unique ». Des illustrations de différents cas sont donnés en annexe 6 planche 3.

	mélanomes uvéaux canins		mélanomes limbiques canins		mélanomes uvéaux félins	
PC	6	(3)	5	(3)	0	
E	9	(1 + (a))	0		3	(d)
PC - E	2		0		2	(c)
PC - F	5	(3)	2	(1)	0	
PC - E - F	2	(b)	0		1	
E-F	0		0		1	
F	0		0		1	

PC=plump cells ; E=épithélioïdes ; F=fusifformes.

Tableau 10 : répartition des cas de mélanomes en fonction de leur genre et de leur type cellulaire (dont cas suivis en italique).

Observations :

- On ne retrouve pas de cellules de type épithélioïde sur les 7 cas de mélanomes épibulbaires canins.
- La répartition des cas dans les différentes catégories est relativement homogène pour les mélanomes uvéaux canins, en notant que :
 - * les 6 cas suivis ne présentant pas de cellules épithélioïdes n'ont pas métastasé.
 - * sur les 3 cas présentant des cellules épithélioïdes, on trouve (a) et (b).
 - * les cellules épithélioïdes sont présentes dans plus de 50% des cas et majoritaires dans 30%.
- Sept des huit mélanomes uvéaux félins (87,5%), dont (c) et (d), sont constitués de cellules épithélioïdes et celles-ci sont majoritaires dans 37,5% des cas.

i. Index mitotique.

Calculé sur 10 champs au grossissement 400.

	mélanomes uvéaux canins		mélanomes limbiques canins		mélanomes uvéaux félins	
0 (sur 10 champs au grossissement 400)	11	(5)	6	(4)	2	(c)
≤4	2		0		3	
>4	9	(3, dont (a) et (b))	0		3	(d)
NE	2	(1)	1		0	

Tableau 11 : répartition des cas de mélanomes en fonction de leur genre et de l'index mitotique (dont cas suivis en italique).

Observations :

- Le seuil choisi est de 4 mitoses sur 10 champs au grossissement 400, conformément à ce qui a été proposé par Wilcock.
- Aucun des cas de mélanomes épibulbaires ne présente de mitoses. Ceci est toutefois à nuancer dans la mesure où pour quelques cas la pigmentation, très riche, masque une partie des noyaux.
- On retrouve les 4 cas suspects de métastases dans 2 catégories différentes, allant de l'absence d'observation de mitose (c) à l'existence de plus de 100 mitoses sur 10 champs au grossissement 400 (d).

j. Marqueur de prolifération Ki-67.

	mélanomes uvéaux canins		mélanomes limbiques canins		mélanomes uvéaux félins	
<10%	12	(5)	6	(4)	2	(c)
≥10%	11	(3, dont (a) et (b))	0		6	(d)
NE	1		1		0	

Tableau 12 : répartition des cas de mélanomes en fonction de leur genre et du Ki-67 (dont cas suivis en italique).

Nous avons pris arbitrairement un seuil de Ki-67 de 10%.

Sur un des cas de mélanomes uvéaux canins, un Ki-67 n'a pas pu être réalisé (problème technique).

On retrouve, là aussi, les 4 cas suspects de métastase dans 2 catégories différentes.

Il est également intéressant de noter que 6 des 8 cas de mélanomes uvéaux félins (75%) ont un Ki-67 supérieur à 10%, contre 11 sur 23 (47,8%) pour les uvéaux canins et 0 sur 6 (0%) pour les limbiques canins. Néanmoins, l'échantillon est trop faible pour en conclure que les mélanomes uvéaux félins ont un taux de multiplication cellulaire plus élevé que les autres types.

k. Classification de Callender.

	mélanomes uvéaux canins		mélanomes limbiques canins		mélanomes uvéaux félins	
Fusifformes	11		7		1	
Mixtes	2	<i>(b)</i>	0		2	
Epithélioïdes	11	<i>(a)</i>	0		5	<i>((c) + (d))</i>

Tableau 13 : Répartition des cas de mélanomes en fonction de la classification de Callender (dont cas suivis en italique).

L'ensemble des mélanomes épibulbaires (canins et félins) sont de type fusiforme (100%) ; alors que respectivement seulement 46% et 12,5% des mélanomes uvéaux canins et félins le sont. Enfin, le type épithélioïde apparaît prédominant dans les cas de mélanomes uvéaux félins (62,5%).

l. Classification de Bussanich.

	mélanomes uvéaux canins		mélanomes limbiques canins		mélanomes uvéaux félins	
1	11		7		0	
2	3	<i>(b)</i>	0		3	
3	10	<i>(a)</i>	0		5	<i>((c) + (d))</i>

Tableau 14 : Répartition des cas de mélanomes en fonction de la classification de Bussanich (dont cas suivis en italique).

Ici également, on observe 100% de type 1 pour les limbiques, une répartition homogène entre type 1 et 3 pour les mélanomes uvéaux canins et une prédominance du type 3 pour les félins. Enfin, 75% des cas suspects d'avoir métastasé sont de type 3.

m. Cas particulier des 2 mélanomes épibulbaires félines.

Composés majoritairement de plump cells et fortement pigmentés, ils sont nodulaires plus ou moins infiltrants. Leur index mitotique est voisin de 0, et leur Ki-67 inférieur à 10%. Ils ne présentent pas de remaniements et peu d'atypies cytonucléaires et aucune embolie vasculaire tumoral n'a été constatée. Malheureusement, nous ne disposons pas du suivi clinique de ces animaux.

III. Discussion.

1. Echantillonnage.

La collection de cas exposée ici est malheureusement peu importante pour réaliser des analyses statistiques et obtenir des conclusions significatives. Deux raisons principales à cela :

- Le faible nombre de cas traités chaque année en France (on rappelle que l'incidence des mélanomes oculaires en médecine humaine est de l'ordre de 0,5 à 0,9 cas par 100.000 habitants et par an)
En outre, ces tumeurs restent encore mal connues et souvent sous diagnostiquées, ce qui ne permet pas de disposer d'échantillons conséquents.
- Le manque de suivi post-opératoire : 15 cas documentés sur 41, ce qui s'explique également par la fréquence relativement faible de ces tumeurs et donc par la multiplication des vétérinaires concernés aux approches différentes (1 vétérinaire pour 2 cas en moyenne !!!). La perte d'informations dans cette étude rétrospective est donc importante.

2. Suivi post-opératoire.

Ce suivi correspond à une durée minimale de 6 mois. Les données ont été collectées à travers une enquête postale, les fiches de renseignements étant adressées aux vétérinaires praticiens. L'absence de réponses, ou l'imprécision de certaines d'entre elles, nous a conduit à ne considérer que 15 dossiers comme étant documentés.

Ainsi, si au départ, nous souhaitions avoir un suivi sur une plus longue période (24 mois), la présence de cas récents inclus dans l'étude et le manque de cas répertoriés nous a conduit à revoir notre position. Cela dit, dans la plupart des publications faisant état de métastases, celles-ci se déroulent généralement dans l'année suivant l'exérèse chirurgicale de la tumeur (et même dans les 3 à 4 mois suivant l'énucléation sur la plupart des chats). Aussi, ce délai de 6 mois minimum, même s'il est discutable, n'est pas non plus totalement aberrant.

Enfin, aucun des suivis sélectionnés n'a compris d'analyses histologiques après autopsie, ce qui nous amène à douter de l'existence réelle de cas métastatiques dans notre étude.

Trois points sont particulièrement à améliorer :

- l'absence de démarche de suivi codifiée
- l'absence d'examens complémentaires (autopsie, examens histopathologiques...) permettant de mettre en évidence, ou de confirmer la suspicion des disséminations métastatiques.
- l'absence d'examens complémentaires au moment du diagnostic, voire même d'examens cutanés ou buccaux. Ceux-ci devraient être systématiquement évoqués auprès des vétérinaires praticiens pour :
 - repérer les cas de mélanomes oculaires métastatiques, c'est-à-dire secondaires à un mélanome cutané ou buccal initial, même si ces cas restent *a priori* rares.
 - déterminer plus précisément le temps d'évolution du processus métastatique, en repérant les métastases éventuellement déjà présentes au moment du diagnostic. Cela serait notamment intéressant pour les mélanomes uvéaux félines, pour lesquels on ne sait toujours pas :
 - s'ils évoluent très rapidement
 - ou si l'évolution est plus lente et masquée par le diagnostic tardif de ces mélanomes diffus, qui sont cliniquement longtemps discrets et amènent donc à des interventions thérapeutiques tardives.

3. Aspect épidémiologique-clinique.

- Sur les 36 cas de mélanomes uvéaux canins répertoriés par Bussanich (1986) et Diters (1983), l'âge moyen du diagnostic est de 8,7 ans [1–15]. Le mélanome oculaire canin semble donc être une tumeur du chien adulte âgé, bien que son apparition puisse être beaucoup plus précoce. Wilcock (1986) signale même un cas sur un chien de 2 mois.

- Sur les 12 cas de mélanomes limbiques qu'il enregistre, Diters note un âge moyen de diagnostic de 6 ans [3,5–10].

- Sur les 16 mélanomes intraoculaires félines enregistrés par Patnaïk (1988), l'âge moyen est de 11 ans [5–18].

Or, dans cette étude, ces valeurs sont :

- 9,5 [2-14] pour les mélanomes uvéaux canins
- 11,7 [8-17] pour les mélanomes uvéaux félines
- 8,7 [4,5-13] pour les mélanomes épibulbaires canins

L'âge du diagnostic a lieu là aussi sur des animaux adultes âgés, avec, à chaque fois, un âge moyen plus avancé pour les mélanomes oculaires félines.

En outre :

- Sur les 16 mélanomes oculaires félines enregistrés par Patnaïk, 10 ont métastasé (62,5%), les animaux étant euthanasiés à 156 jours en moyenne. [1–520]

- Sur les 76 cas de mélanomes uvéaux suivis par Wilcock, Diters et Bussanich 9 ont probablement métastasé (12%).

- Sur les 12 cas de mélanomes épibulbaires suivis par Diters, aucun n'a métastasé.

Dans cette étude, les 2 mélanomes félines suivis ont *a priori* métastasé (100% : décès dans le mois suivant l'énucléation), 2 des 9 uvéaux canins également (22%) et aucun des 4 mélanomes épibulbaires canins.

On obtient donc des valeurs relativement en accord avec ce qu'on retrouve dans la littérature, bien que certains auteurs admettent plus habituellement un ordre de grandeur de 3% de métastase pour les mélanomes uvéaux canins.

4. Nature et distribution des lésions.

Dans son étude, Diters décompte 12 mélanomes épibulbaires canins pour 23 uvéaux (34%), alors que Wilcock en distingue 19 pour 72 uvéaux (21%).

En outre, Diters note une position dorsale des mélanomes limbiques dans 9 cas sur 12 (75%), et Wilcock dans 9 sur 15 (60%).

Or, ici, nous distinguons, pour 24 uvéaux, 7 mélanomes limbiques chez le chien (22,5%), dont 4 sur 5 (80%) sont en position dorsale.

Nous retrouvons donc pour les mélanomes limbiques ce qui est décrit dans la littérature, d'autant plus que dans les articles de référence comme ici, aucun cas n'a métastasé.

Diters (1983) Wilcock (1986) Observations

% de mélanomes limbiques par rapport aux uvéaux canins.	34%	(12/35)	21%	(19/91)	22,5%	(7/31)
% de mélanomes limbiques en position dorsale	75%	(9/12)	60%	(9/15)	80%	(4/5)
Prédisposition raciale	75% de chiens type Bergers allemands (9/12)		Non précisé		43% de chiens type Bergers allemands (3/7)	
% de tumeurs ayant métastasé	0		0		0	

Quant aux mélanomes oculaires félines, il est à noter que 2 sur 10 (20%) des cas enregistrés ici sont en position limbique, ce qui semble plus rare dans cette espèce.

Enfin, nous n'avons observé aucun mélanome choroïdien, qui représenterait selon les auteurs environ 3-4% des mélanomes chez nos carnivores domestiques.

5. Critères histologiques.

a. La pigmentation tumorale.

Si la pigmentation tumorale n'est jamais dense pour les mélanomes uvéaux félines (0%), elle est pratiquement toujours très importante pour les limbiques canins (85%) et variables pour les uvéaux canins (50%).

A noter que les 4 cas suspects de métastases ont une pigmentation tumorale globale mixte ((a), (b), (c)) à rare (d).

En outre, les différents auteurs ayant soulevé la question en médecine vétérinaire n'ont pas non plus trouvé d'intérêt pronostique à la pigmentation tumorale globale.

b. Architecture et mode de croissance.

Bien qu'il n'y ait pas assez de cas pour réaliser une étude statistiquement significative, il apparaît que l'aspect général des mélanomes uvéaux diffère entre le chien et le chat : alors que ces tumeurs semblent essentiellement nodulaires dans l'espèce canine (19 sur 24, soit 79% des cas), elle sont le plus souvent diffuses dans l'espèce féline (6 sur 8, soit 75% des cas). Quant au mode de croissance, il est ou diffus ou infiltrant (à une exception près sur un mélanome uvéal canin).

c. Stroma réaction et remaniements.

Les stroma-réactions sont rares et discrètes, les remaniements étant fréquents. Ces derniers paraissent plus fréquents sur les mélanomes uvéaux (54% chez le chien et 50% chez le chat) que sur les épibulbaires (14% chez le chien) et sont présents dans 3 des 4 cas à évolution maligne. ((a), (b) et (d)). Ils pourraient donc éventuellement être intéressants d'un point de vue pronostique.

La stroma réaction quant à elle est absente dans 3 des 4 cas ayant métastasé.

d. Index mitotique et atypies cytonucléaires.

Selon Wilcock, un index mitotique supérieur à 4 (calculé sur 10 champs à un grossissement x400), est un outil pronostique fiable, en faveur d'un pouvoir métastatique important, puisque les 4 mélanomes oculaires métastatiques qu'il observe sont supérieurs ou égaux à 4 (4, 30, 50 et 80), alors que les mélanomes d'évolution bénigne (qu'il appelle mélanocytomes) présentent tous un index inférieur ou égal à 2.

Cette remarque paraît encore valable si l'on se réfère aux observations de différents auteurs, bien qu'elle se trouve nuancée :

- Sur les 4 suspicions de métastases de Deters, les index mitotiques sont de 2, 10, 10 et 30. Cependant, deux tumeurs avec un index de 10 n'ont pas métastasé.
- Le cas malin retenu par Bussanich a un index de 13, mais 2 autres, à 6 et 10 d'index mitotique, ont connu une évolution bénigne sur un suivi de plus de 3 années.
- Enfin, le cas documenté par Minami a un index de 30, celui retranscrit par Friedman de 20 et celui retenu par Rovesti de 9.

Bien que cette théorie n'ait pas été prouvée statistiquement, elle semble cependant intéressante et est aujourd'hui classiquement admise.

Dans notre étude, il apparaît que pour les mélanomes uvéaux canins les 2 cas ayant métastasé ont un index mitotique > 4 , et que sur les 6 autres tumeurs également dans ce cas, 1 cas suivi durant 2 ans n'a pas connu de processus métastatique.

En outre, sur les 2 mélanomes uvéaux félines ayant probablement métastasé, 1 présente un index de 0.

Une étude statistique serait donc intéressante, mais on se heurte là aussi à la difficulté de se procurer une quantité suffisante de cas cliniques bien suivis et bien documentés.

En outre, dans la mesure où le Ki-67 est un marqueur plus fin de prolifération cellulaire que l'index mitotique, son utilisation apparaît *a priori* plus performante.

e. Type cellulaire.

Si l'on considère que les cellules ovoïdes correspondent aux épithélioïdes, on remarque que ce type cellulaire est fréquemment présent dans les cas de mélanomes uvéaux canins à évolution maligne. Par ailleurs, les 2 cas malins observés dans cette étude présentent également des cellules épithélioïdes.

Cependant, tous les échantillons présentant ce type cellulaire ne métastasent pas : ce type cellulaire apparaît donc comme étant un critère péjoratif pour la survie du patient, mais ne constitue pas, seul, un outil pronostique intéressant. En outre, on constate que les mélanomes uvéaux félines présentent des cellules épithélioïdes dans 87,5% des cas. Par rapport à la théorie de Bussanich, les cas malins de notre étude appartiennent aux groupes 2 et 3 de sa classification, ce qui correspond à ses observations.

Auteur	Race	Sexe	Age	Suivi	Index mitotique	Type cellulaire
Wilcock	NP (non précisé)	NP	NP	3 mois	4	NP
	NP	NP	NP	3 mois	30	NP
	NP	NP	NP	3 mois	50	NP
	NP	NP	NP	4 mois	80	NP
Bussanich	Rottweiler	F	11	5 mois	13	80% ovoïdes, 20% plump cells
Diters	Croisé	F	8	3 sem.	30	Epithélioïdes
	Doberman	F	7	10 j	2	Epithélioïdes + fusiformes
	Boxer	F	8	20 j	10	Epithélioïdes + fusiformes
	Chihuahua	M	13	3 mois	10	Epithélioïdes + fusiformes
Minami	X Berg. All.	F	10	3 mois	30	Fusifformes + ovoïdes
Friedman	Berg. All.	F	10	NP	20	Fusifformes + NP
Rovesti	Loulou	M	6	18 mois	9	NP

Tableau 15 : Revue de cas de mélanomes intra-oculaires canins ayant métastasé publiés dans la littérature vétérinaire.

f. Vascularisation et emboles.

Cinq lames de mélanomes uvéaux (dont 2 cas seulement sont suivis) présentent des emboles vasculaires tumoraux : 1 tumeur canine et 4 félines, dont les 2 ayant métastasé, soit des emboles dans 50% des cas de mélanomes uvéaux chez le chat et dans 4,5% chez le chien. Ces 5 lames présentent toutes une prédominance de cellules épithélioïdes et dans 80% des cas un Ki-67 \geq 10%.

6. Critères immunohistochimiques.

La lecture de l'immunomarquage s'avère plus aisée que celle des figures mitotiques. Des exemples de marquages sont donnés dans l'annexe 6 planche 4. Nous obtenons des valeurs beaucoup plus élevées avec le Ki-67 que celles qu'on retrouve en dénombrant le nombre de mitoses pour une même quantité de champs microscopiques.

Dans notre étude, il apparaît que les 2 cas de mélanomes uvéaux canins ayant métastasé ont un Ki-67 $\geq 10\%$, mais qu'une autre tumeur est également dans ce cas alors qu'elle a eu une évolution bénigne (suivi sur 2 années).

En outre, sur les 2 mélanomes uvéaux félins ayant probablement métastasé, 1 présente un Ki-67 $< 10\%$.

Il serait donc nécessaire de mener une étude prospective pour évaluer statistiquement l'intérêt pronostique du Ki-67, en augmentant le nombre de cas correctement documentés et suivis selon une même approche.

7. A travers nos connaissances actuelles, quelle conduite convient-il de tenir face à un mélanome oculaire ?

a. Considérations générales sur le traitement des mélanomes oculaires en médecine humaine.

L'énucléation fut longtemps considérée comme le seul traitement approprié des mélanomes oculaires. Toutefois, son impact relativement faible sur l'apparition de métastases a conduit de nombreux auteurs à s'interroger sur son intérêt pour le pronostic vital. Vogel écrivait ainsi en 1972 que « les résultats publiés sur la mortalité liée aux mélanomes après énucléation sont décourageants et pour le moins controversés ».

En 1978, Zimmermann, Mac Lean et Foster soutiennent même à partir de leurs travaux, que l'énucléation est au contraire un facteur favorisant les disséminations métastatiques : le taux de décès par métastases, de l'ordre de 1% par an, augmentant effectivement après énucléation pour atteindre un pic de 8% par an la seconde année.

(schéma 8).

Cependant, en 1980, Manschot et van Peperzell, en se basant sur un modèle théorique d'évolution tumorale, s'opposèrent à la théorie de Zimmermann et préconisèrent à l'inverse une énucléation précoce de tous les cas de mélanomes.

Cette controverse, toujours d'actualité puisque aucune étude n'a permis de soutenir de manière statistiquement significative l'une ou l'autre de ces deux théories, a néanmoins permis de développer des techniques de traitements conservateurs qui sont désormais couramment employées.

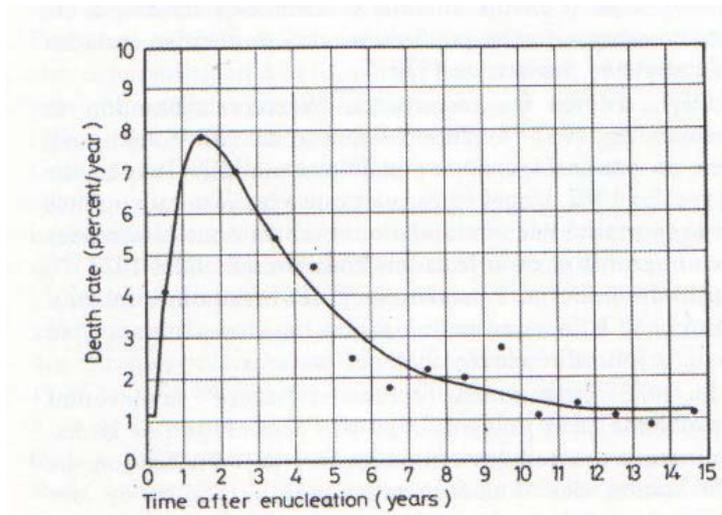


Schéma 8 : Influence de l'énucléation lors de mélanomes oculaires sur l'apparition de métastases d'après Zimmermann, Mac Lean et Foster (1978).

Ainsi, actuellement, les différentes possibilités thérapeutiques en cas de mélanomes choroïdiens ou des corps ciliaires sont :

- l'énucléation
- les traitements conservateurs :
 - o photocoagulation
 - o thermothérapie transpupillaire
 - o irradiation (technique la plus répandue)
 - o résection chirurgicale de la tumeur
 - o téléthérapie par faisceau de protons accélérés.

Quant aux mélanomes iriens, moins agressifs, les différentes sanctions thérapeutiques utilisées sont :

- l'énucléation (beaucoup plus rare pour ce type tumoral)
- l'exérèse chirurgicale (iridectomie, iridocyclectomie, goniectomie)
- l'irradiation.

b. Traitement des mélanomes oculaires en médecine vétérinaire.

En médecine vétérinaire, il existe différentes modalités thérapeutiques des mélanomes oculaires des carnivores domestiques, en fonction notamment de leur localisation et de l'espèce considérée.

- Traitement des mélanomes épibulbaires :

Etant donné qu'aucun cas d'évolution métastatique n'a été décrit dans la littérature et qu'aucun critère de malignité n'est habituellement rencontré à leur analyse histologique, une observation régulière apparaît suffisante dans un premier temps. Ne mettant en jeu ni le pronostic vital, ni la fonction visuelle, et n'étant généralement pas douloureux, d'autres sanctions thérapeutiques s'avèrent en effet *a priori* inutiles.

Toutefois, en cas de douleur ou d'envahissement cornéen par des cellules tumorales, il peut être nécessaire de pratiquer des énucléations ou des résections locales. Martin (1981) a notamment décrit des cas d'envahissement cornéen traités par exérèse et transposition cornéo-sclérale. Enfin de rares cas donnent lieu à une infiltration transsclérale avec comblement de l'angle irido-cornéen et évolution glaucomateuse. Ces cas justifient alors une énucléation.

- Traitement des mélanomes choroïdiens canins :

Aucun cas d'évolution métastatique n'est décrit en médecine vétérinaire (alors que les mêmes types cellulaires que ceux présents dans les mélanomes uvéaux antérieurs sont rencontrés).

Une observation périodique avec examen du fond d'œil et/ou échographie apparaît donc suffisante.

Néanmoins, deux éléments pratiques sont à considérer :

*Tout d'abord, du fait de contraintes économiques et matérielles, le diagnostic de mélanome choroïdien est particulièrement difficile à poser avant énucléation en médecine vétérinaire. Une temporisation risque donc de laisser évoluer des tumeurs plus agressives.

* Ensuite, les mélanomes choroïdiens ne sont généralement diagnostiqués que lorsque la symptomatologie qu'ils entraînent est assez marquée pour avoir alerté les propriétaires. Or, les signes cliniques les plus fréquents sont la douleur et la perte visuelle (par décollement rétinien généralement); l'énucléation devient dès lors préférable.

- Traitement des mélanomes uvéaux antérieurs canins.

Deux présentations cliniques, dépendant de l'existence de signes cliniques associés, prédominent :

*l'animal dont l'œil est douloureux et non visuel suite au développement d'un glaucome consécutif au mélanome. Dans ce cas, la décision thérapeutique la plus adéquate reste l'énucléation, en plus d'exams complémentaires visant à détecter d'éventuelles métastases.

* l'animal dont l'œil est indolore et fonctionnel. L'énucléation est alors beaucoup plus discutable, d'autant plus que ces tumeurs métastasent peu souvent.

La temporisation, la résection chirurgicale, mais aussi l'ablation transsclérale de la tumeur par laser Nd-YAG sont à envisager.

NB : L'éviscération avec pose d'un implant intra-scléral apparaît comme une alternative envisageable dans un bon nombre de cas. Un cas de mélanome achromique de l'uvée (envahissement du segment postérieur et d'une partie du stroma irien) sur un Rottweiler de 2 ans a été traité de cette manière dans le service d'ophtalmologie du Professeur Régnier à l'E.N.V.T. Malgré une analyse histologique mettant en évidence des critères de malignité (atypies cytonucléaires majeures, remaniements importants, index mitotique égal à 5, Ki-67 de l'ordre de 50%), aucune métastase ne fut constatée sur un suivi de 2 ans.

- Traitement des mélanomes oculaires félines.

Une controverse existe actuellement sur l'importance de leur potentiel métastatique. Peiffer (2001) considère pour sa part que tous les mélanomes oculaires félines sont malins et évoluent à terme (après une période de latence pouvant atteindre quelques années) vers l'apparition de métastases. Il recommande donc de pratiquer une énucléation le plus tôt possible, tout en rappelant que l'intérêt de cette technique sur le pronostic vital reste discuté.

Conclusion.

Les mélanomes oculaires des carnivores domestiques revêtent une importance à la fois quantitative (tumeur oculaire la plus fréquente chez les carnivores domestiques) et pronostique (par leur malignité potentielle). Au cours de cette étude, nous avons repris les principales caractéristiques de ces tumeurs connues à ce jour en les comparant notamment aux mélanomes oculaires humains.

Puis, après avoir évoqué les différentes théories pronostiques, non validées de manière statistiquement significative, nous avons réalisé une étude rétrospective sur l'intérêt pronostique du marqueur de prolifération cellulaire Ki-67 à partir d'un échantillon de cas présents dans les collections du service d'Anatomie Pathologique de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Si cet échantillon s'avère malheureusement trop restreint pour obtenir des conclusions statistiquement intéressantes, il apparaît néanmoins dans cette étude que le Ki-67 pourrait effectivement être un outil fiable pour l'évaluation de l'évolution des mélanomes oculaires. Aussi, cette thèse servira-t-elle de base de travail pour une étude prospective s'appuyant sur des cas plus nombreux et mieux documentés et sur d'autres facteurs afin de réaliser des analyses multivariées.

BIBLIOGRAPHIE

1. ABADIE, J.
Les marqueurs de prolifération en oncologie vétérinaire. Application à l'étude pronostique du mastocytome cutané canin.
Thèse vétérinaire, 2001.
2. ACLAND, MC LEAN, I.W., AGUIRRE, G.D., TRUCKSA, R.
Diffuse iris melanoma in cats.
J Am Vet Med Assoc, 1980 : 176 : 52-56.
3. AGUIRRE, G.D., BROWN, G., SHIELDS, J.A., DUBIELZIG, R.R.
Melanoma of the choroids in a dog
J Am Anim Hosp Assoc, 1984: 20: 471-476.
4. BERTOY, R.W., BRIGHTMAN, A.H., REGAN, K.
Intraocular melanoma with multiple metastasis in a cat.
J Am Vet Med Assoc, 1988, 192 : 87.
5. BOLON, B., CALDERWOOD MAYS, M.B. and HALL, B.J.
Characteristics of canine melanomas and comparison of histology and DNA ploidy to their biologic behaviour.
c. *Vet Pathol*, 1990, **27** (2), 96- 102.
6. BLODI, F.C., RAMSEY, F.K.
Ocular tumors in domestic animals.
Am Journal Ophthalmol, 1967, 64: 627-633.
7. BUSSANICH, N.M., DOLMAN, P.J., ROOTMAN, J., DOLMAN, C.L.
Canine uveal melanomas : Series and literature review.
JAAHA, 1987, 23: 415-422.
8. CALLENDER, G.R.
Malignant melanotic tumors of the eye : a study of histologic types in 111 cases.
Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol, 1931, 36: 131-141.
9. CARTER, J.D.
Extrabulbar extension of ocular melanoma.
Vet. Med., 1965 : 819-822.
10. COLLINSON, P.N., PEIFFER, R.L.
Clinical presentation, morphology and behavior of primary choroidal melanomas in eight dogs.
Prog Vet Comp Ophthalmol, 1993, 3: 158.
11. DAVENPORT, R.C.
A family history of choroidal sarcoma.

Br. J. Ophthalmol, 1927, 11: 443-445.

12. DITERS, R.W., DUBIELZIG, R.R., AGUIRRE, D., ACLAND, M.
Primary ocular melanoma in dogs.
Vet. Pathol., 1983, 20 : 379-395.

13. DUBIELZIG, R.R., AGUIRRE, G.D., GROSS, S.L., RITERSS, R.W.
Choroidal melanomas in dogs.
Vet Pathol, 1985: 22: 582-585.

14. FRIEDMAN, D.S., MILLER, L., DUBIELZIG, R.R.
Malignant canine anterior uveal melanoma.
Vet. Pathol., 1989, 26 : 523-525.

15. GAMEL, J.W., Mc LEAN, I.W.
Modern developments in histopathologic assessment of uveal melanomas.
Ophthalmology, 1984, 91: 679-684.

16. GEISSE, L.J., Robertson, D.M.
Iris melanomas.
Am J Ophthalmol, 1985, 99 : 638-648.

17. GERDES, J., SCHWAB, U., LEMKE, H., STEIN, H.
Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation.
Int. J. Cancer, 1983, 31, 13-20.

18. GONDER, J.R., SHIELDS, J.A., ALBERT, D.M., AUGSBURGER, J.J., LAVIN, P.T.
Uveal malignant melanoma associated with ocular and oculodermal melanocytosis.
Ophthalmology, 1982, 89: 953-960.

19. GRÖNVALL, H., MARK, J.
Malignant melanomas of the eye and its accessory organs. An analysis of a Swedish hospital material.
Acta Ophthalmol, 1963, 41: 659-670.

20. LACROUX, C.
Contribution à l'étude des mélanomes cutanés canins : recherche de critères histologiques et immunohistochimiques pronostiques à partir d'un échantillon de 65 cas.
Thèse vétérinaire, 2002.

21. LAPRIE, C.
Expression tissulaire de l'épitope Ki-67 chez le chien à l'état normal.
Thèse vétérinaire, 1996
22. MAGRANE, W.G.
Tumors of the eye and orbit in the dog.
J Small Anim Pract, 1971, 6:165-169.
23. MANSCHOT, W.A., VAN PEPPERZELL, H.A.
Choroidal melanoma. Enucleation or observation? A new approach.
Arch Ophthalmol, 1980, 98: 71-77
24. MARGO, C.E., Mc LEAN, I.W.
Malignant melanoma of the choroids and ciliary body in Black patients.
Arch Ophthalmol, 1984, 102: 77-79.
25. MARTIN, C.L.
Canine epibulbar melanomas and their management.
JAAHA, 1981, 17: 83-90.
26. MINAMI, T., PATNAIK, A.
Malignant anterior uveal melanoma with diffuse metastasis in a dog.
JAVMA, 1992, 201 : 1894-1896.
27. MOOY, C.M., DE JONG, P.T., VAN DER KWAST, T.H., MULDER, P.G., JAGER, M.J., RUITER, D.J.
Ki-67 immunostaining in uveal melanoma.
Br J Ophthalmol, 1998, 82: 1352-1353.
28. MORGAN, R.V., PATTON, C.S.
Choroidal melanoma in a dog.
Cornell Vet, 1993, 83: 211.
29. O'TOOLE, D., MURPHY, J.
Spindle B cell melanoma in the choroids of a dog.
J Small Anim Pract, 1983, 24: 561.
30. PATNAIK, A.K., MOONEY, S.
Feline melanoma : a comparative study of ocular, oral and dermal neoplasms.
Vet. Pathol., 1988, 25: 105-112.
31. PAUL, E.V., PARNELL, B.L., FRAKER, M.
Prognosis of malignant melanomas of the choroids and ciliary body.
Int Ophthalmol Clin, 1962, 2, N°2: 388-402.
32. PEIFFER, R.L.
The differential diagnosis of pigmented ocular lesions in the dog and cat.

California Veterinarian, 1981, 5: 14-18.

33. PEIFFER, R.L., SIMONS, K.
Ocular tumors in animals and humans.
Edition Iowa State Press, décembre 2001, 612 pages.

34. ROELS, S., TIMANT, K. and DUCATELLE R.
PCNA and Ki 67 proliferation markers as criteria for prediction of clinical behaviour of melanocytic tumours in cats and dogs.
d. *J Comp Path*, 1999, **121**(1), 13-24.

35. RONES, B., ZIMMERMANN, L.E.
The prognosis of primary tumors of the iris treated by iridectomy.
Arch Ophthalmol, 1956, 60: 193-205.

36. ROVESTI, G.L., GUANDALINI, A., PEIFFER, R.
Suspected latent vertebral metastasis of uveal melanoma in a dog : a case report.
Veterinary Ophthalmology, 2001, 4 : 75-77.

37. RYAN, A.M., DITERS, R.W.
Clinical and pathologic features of canine ocular melanomas
J Am Vet Med Assoc, 1984, 18: 60-67.

38. SAUNDERS, L.Z., BARRON, C.N.
Primary pigmented intraocular tumors in animals.
Cancer Res, 1958, 18: 234-245.

39. SCHWINK, K, BETTS, D.M.
Malignant melanoma of the iris in a cat.
Vet Med, 1988: 2: 35.

40. SEIGNEURIN, D., GUILLAUD, P.
L'antigène Ki 67, marqueur du cycle cellulaire et de la prolifération tumorale.
Path. biol., 1991, **39** (10), 1020-1028.

41. SEREGARD, S., SPAGBERG, B., JUUL, C., OSKARSSON, M.
Prognostic accuracy of the mean of the largest nuclei, vascular patterns and PC-10 in posterior uveal melanoma.
Ophthalmology, 1998, 105: 485-491.

42. SHAMMAS, H.F., BLADI, F.C.
Prognostic factors in choroidal and ciliary body melanomas.
Arch Ophthalmol, 1977, 95: 63-69.
43. SHAMMAS, H.F., WATZKE, R.C.
Bilateral choroidal melanomas : case report and incidence.
Arch Ophthalmol, 1977, 95: 617-623.
44. SHIELDS, J.A., AUGSBURGER, J.J., DONOSO, L.A., BERNARDINO, V.B.,
PORTENAR, M.
Hepatic metastasis and orbital recurrence of uveal melanoma after 42 years.
Am J Ophthalmol, 1985, 100: 666-668.
45. SHIELDS, C.L., SHIELDS, J.A., EAGLE, R.C., DE POTTER, P., MENDEKE, H.
Uveal melanoma and pregnancy : a report of 16 cases.
Ophthalmology, 1991, 98: 1667-1673.
46. SCHOSTER, J.V., DUBIELZIG, R.R., SULLIVAN, L.
Choroidal melanoma in a dog
J Am Vet Med Assoc, 1993, 203 : 89-91.
47. TRUCKSA, R.C., MC LEAN, I.W., QUINN, A.J.
Intraocular canine melanocytic neoplasms.
JAAHA, 1985, 21: 85-88.
48. VELAZQUEZ, N., JONES, I.S.
Ocular and oculodermal melanocytosis associated with uveal melanoma.
Ophthalmology, 1983, 90: 1472-1476.
49. VOGEL, M.H.
Treatment of malignant choroidal melanomas with photocoagulation: evaluation of 10-
year follow-up data.
Am J Ophthalmol, 1972: 74:1-11.
50. WEISSE, I., STOTZER, H.
Intraokulares Melanom bei einem jungen Beagle
Kasuistische Mitteilung, Berl Munch tierarztl Wschr, 1971: 17: 328-330.
51. WEISSE, I., FRESE, K., MEYER, D.
Benign melanoma of the choroids in a beagle : ophthalmological, light and electron
microscopic investigations.
Vet Pathol, 1985, 22: 586-591.

52. WILCOCK, B.P., PEIFFER, R.L.

Morphology and behaviour of primary ocular melanomas in 91 dogs.

Vet. Pathol., 1986, 23 : 418-424

53. ZIMMERMANN, L.E.

The diagnosis and management of intraocular melanomas : a symposium.

Trans Am Acad Ophthalmol Otorhyngol, 1958, 62: 549-550

54. ZIMMERMANN, L.E., MC LEAN, I.W., FOSTER, W.D.

Does enucleation of the eye containing a malignant melanoma, prevent or accelerate the dissemination of tumors cells?

Br J Ophthalmol, 1978, 62 : 420-425.

55. ZOGRAFOS, L.

Tumeurs intraoculaires

Editions Masson, 15 mai 2002

Table des illustrations

Schéma 1 : répartition des 12 cas de mélanomes épibulbaires publiés par Diters, 1983.

Tableau 1 : symptomatologie des mélanomes de l'œil chez l'homme. Evaluation de 3234 cas de mélanome de la choroïde et des corps ciliaires traités à l'unité d'oculoncologie de l'hôpital Jules Gonin à Lausanne, entre 1980 et 2000 (d'après L. Zografos).

Tableau 2 : revue de cas de mélanomes intra-oculaires canins publiés par la littérature vétérinaire.

Schéma 2 : facteurs ayant une influence sur le pronostic vital en médecine humaine.

Tableau 3 : récapitulatif et classification des cas de mélanomes intraoculaires publiés par Diters (1983).

Tableau 4 : classification des mélanomes intra-oculaires canins selon Bussanich (1987).

Schéma 3 : variations quantitatives de Ki-67 lors du cycle cellulaire d'après Seigneurin (1991).

Schéma 4 : le cycle cellulaire d'après Hall (1990).

Schéma 5 : répartition des 41 cas de mélanomes étudiés en fonction de l'espèce et de la localisation tumorale.

Schéma 6 : répartition des mélanomes en fonction de l'espèce, de la localisation tumorale et de l'âge.

Tableau 5 : répartition des cas de mélanomes en fonction de leur genre et de leur mode de croissance.

Tableau 6 : répartition des cas de mélanomes en fonction de leur genre et de leur architecture.

Tableau 7 : Répartition des cas de mélanomes en fonction de leur genre et de la stroma réaction.

Tableau 8 : Répartition des cas de mélanomes en fonction de leur genre et des remaniements.

Tableau 9 : Répartition des cas de mélanomes en fonction de leur genre et de leur pigmentation.

Schéma 7 : Répartition des 15 cas suivis en fonction de l'intensité de la pigmentation des cellules tumorales.

Tableau 10 : répartition des cas de mélanomes en fonction de leur genre et de leur type cellulaire.

Tableau 11 : répartition des cas de mélanomes en fonction de leur genre et de l'index mitotique.

Tableau 12 : répartition des cas de mélanomes en fonction de leur genre et du Ki-67.

Tableau 13 : Répartition des cas de mélanomes en fonction de la classification de Callender.

Tableau 14 : Répartition des cas de mélanomes en fonction de la classification de Bussanich.

Tableau 15 : Revue de cas de mélanomes intra-oculaires canins ayant métastasé publiés dans la littérature vétérinaire.

Schéma 8 : Influence de l'énucléation lors de mélanomes oculaires sur l'apparition de métastases d'après Zimmermann, Mac Lean et Foster (1978).

Annexes

Annexe 1 : Glossaire

- diplopie : n.f.

Perception visuelle dédoublée d'un objet unique, symptôme subjectif capital des paralysies oculomotrices, traduisant la formation des images d'un objet fixe en des points non correspondants des deux rétines.

- diplopie monoculaire : n.f.

Diplopie liée à une cause oculaire (trouble du cristallin, amétropie non corrigée, iridodialyse, double pupille par exemple).

- héméralopie : n.f.

Inaptitude à percevoir les faibles quantités de lumière, ou défaut d'adaptation à l'obscurité.

- hypermétropie : n.f.

Défaut de réfraction oculaire caractérisé par la fixation en arrière de la rétine d'un faisceau de rayons parallèles issus de l'infini, entraînant une vision floue à toute distance.

- mélanome : n.m.

Néoplasme développé aux dépens des cellules du système pigmentaire. En fait, le mot est rarement employé seul en terminologie française, alors que les anglo-saxons tendent de plus en plus à remplacer l'appellation *malignant melanoma* par le simple terme *melanoma*.

Il existe des mélanomes non pigmentés, alors que certaines tumeurs peuvent contenir de la mélanine sans être des mélanomes.

- mélanose : n.f.

Accumulation anormale de mélanine ou de tout autre pigment, endogène ou exogène, de couleur noire.

- métamorphopsie : n.f.

Perturbation de la perception des images qui sont vues déformées. Les lignes droites sont ainsi perçues sous forme de lignes ondulées, incurvées ou brisées, signant une lésion maculaire.

- micropsie : n.f.

Perception visuelle anormale où l'image de l'objet fixé apparaît de très faible dimension.

Ce trouble, rencontré dans des circonstances diverses (trouble accommodatif, et surtout lésion rétinienne, maculopathie), peut être aussi de caractère hallucinatoire.

- myodésopsie : n.f. (synonyme : mouches volantes)

Perception de mouches volantes, c'est-à-dire de scotomes positifs mobiles de petite dimension, perçus en vision entoptique et correspondant souvent mais non toujours à des corps flottants du vitré.

- naevus : n.m.

Dysplasie circonscrite d'origine embryonnaire. En fait, le naevus n'est pas toujours congénital, car il peut n'apparaître que bien après la naissance ; de plus son caractère circonscrit n'est pas obligatoire.

- oscillopie : n.f. (synonyme : oscillopsie)

Impression de mobilité apparente des objets fixes, notée au cours du nystagmus.

- phosphène : n.m.

Impression lumineuse vive et brève, survenant de façon isolée ou par salves dans une partie du champ visuel.

Ce trouble est dû à une excitation des cellules rétinienne par un processus quelconque, physique, chimique, mécanique ou autre.

- scotome : n.m.

Lacune ou îlot de non-perception dans l'aire du champ visuel.

- stéréoscopie : n.f.

Vision en relief ou vision du relief.

- xanthogranulome : n.m.

Processus inflammatoire torpide, souvent pseudonéoplasique, du tissu adipeux associant un granulome et de grands macrophages chargés de lipides.

- xanthopsie : n.f.

Perception visuelle faussement colorée (chromatopsie) se traduisant par une vision jaune ou vert-jaune des surfaces blanches.

Elle se rencontre dans certaines intoxications (oxyde de carbone, barbituriques), dans les ictères et dans certaines maculopathies.

Annexe 2 : Fiche de suivi clinique (exemple)

PROPRIETAIRE :
VETERINAIRE REFERANT :

VETERINAIRE :

ANIMAL : - espèce :
- sexe :

- race :
- date de naissance / âge :

DATE DU PRELEVEMENT : _____

NATURE DU PRELEVEMENT : Pièce d'exérèse chirurgicale

DESCRIPTION DES LESIONS : Masse cornéo-sclérale. Une première exérèse a été suivie par un deuxième temps opératoire avec exérèse totale du tissu cornéo-scléral et pose d'une greffe (plaque de SIS) + greffe conjonctivale.

DISTRIBUTION DES LESIONS : OD

CONCLUSION HISTOLOGIQUE : Mélanome limbique.

EVOLUTION CLINIQUE DE L'ANIMAL :

- 1) Décision thérapeutique consécutive à l'analyse histopathologique : _____
- 2) L'animal est-il encore vivant : _____
- 3) Si l'animal est décédé :
 - a. Date du décès : _____
 - b. Des suites de sa lésion mélanique ? : _____
 - c. D'une autre affection ? Si oui, laquelle ? : _____
- 4) Y a-t-il eu des récurrences ? _____
 - a. Si oui, localisation : _____
 - b. En combien de temps ? _____
- 5) Y a-t-il eu des métastases ? : _____
 - a. Si oui, vers quels organes ? : _____
 - b. Comment ont-elles été diagnostiquées ? :
 - i. Radiographies
 - ii. Echographies
 - iii. Autopsie (si oui, conclusions) : _____
 - iv. Analyse histopathologique (si oui, conclusions) : _____
 - v. Autres : _____

Annexe 3 : Grille de lecture histologique

Numéro lame	CN	Date de lecture
Type tumoral	CT	lecteur
	Uvée CN	Limbe CN
	Uvée CT	Limbe CT
	ARCHITECTURE - STRUCTURE	
Architecture	Nodulaire	
	Comblement	
	Diffus	
Croissance	Expansive	
	Infiltrante	
Vascularisation		
Remaniements		
Stroma réaction		
Emboles vasculaires		
	CYTOLOGIE	
Type cellulaire	Fusiforme	
	Epithélioïde	
	Plump cells	
Pigmentation	Partout	dense
	Rare	peu abondante
	Mixte	
Atypies cellulaires	Anisocytose	
	Anisocaryose	
	Nucléolation	
	Cellules géantes	
	PROLIFERATION	
Index mitotique		
Ki-67		
	CLASSIFICATIONS	
Callender	Fusiforme A	
	Fusiforme B	
	Epithélioïde	
	Mixte	
Bussanich	Plump cells	
	Epithélioïdes	
	Fusiformes	

Annexe 4 : Résultats épidémiologiques et de suivi bruts.

Cas	N° histologie	Race	Sexe	Age	Localisation	Suivi
1	02P513	Ba Artésien	F	12	Uvée	O
2	02P512	Berg. Pyr	M	7	Uvée	O
3	99P172	Labrador	M	10	Uvée	O
4	98P106	X Labrador	M	12	Uvée	O
5	02P807	Rottweiler	M	8	Uvée	Décès 6 mois(métastase? 2 ^{ème} œil)
6	02P756	Airedale T.	M	12	Uvée	Décès à 2 ans : IC
7	98P377	Set. anglais	M	12	Uvée	O
8	01P537	Labrador	M	11	Uvée	RAS à 18 mois
9	01P300	Teckel	M	14	Uvée	Décès 6 mois: Insuffisant cardiaque
10	00P625	Labrador	F	5	Uvée	RAS à 3 ans
11	00P314	Labrador	F	4	Uvée	Décès à 3 ans : rate, foie, péritoine.
12	00P248	Boul. franç.	F	11	Uvée	RAS à 4 ans
13	00P237	Berg. All.	F	6	Uvée	O
14	01P289	WHWT	F	12	Uvée	RAS à 3 ans
15	02P529	Rottweiler	F	2	Uvée	RAS à 2 ans
16	97P137	Bichon	M	5	Uvée	O
17	96P224	Labrador	F	11	Uvée	O
18	01P455	Berg. belge	M	13	Uvée	O
19	04P550	Teckel	F	13	Uvée	O
20	04P497	Groenend.	M	13	Uvée	O
21	04P368	X Epagneul	F	5	Uvée	O
22	04P461	Loulou	F	15	Uvée	O
23	04P516	Berg. All.	M	9	Uvée	O
24	04P540	Setter	M	10	Uvée	O
25	01/152	Epagneul	M	11	Limbe (dorsal)	O
26	99P573	Berg. All.	M	4	Limbe (dorsal)	RAS à 5 ans
27	03P133	Caniche	F	12,5	Limbe (?)	RAS à 16 mois
28	00P321	Berg. All.	M	6	Limbe (dorsal)	RAS à 4 ans
29	01P536	Labrador	M	8	Limbe (temporal)	Décès à 10 mois : IC
30	00P462	Croisé	F	8	Limbe (dorsal)	O
31	04P548	Berg. All.	M	10	Limbe (?)	O
32	02/150	CT	F	9	Uvée	O
33	99P6	CT	M	9	Uvée	Décès à 1 mois
34	99P168	CT	M	17	Uvée	Décès à 1 mois
35	99P372	CT	F	13	Uvée	O
36	02P617	Persan	F	10	Uvée	O
37	99P85	CT	M	13	Uvée	O
38	04P691	CT	F	14	Uvée	O
39	04P554	CT	M	10	Uvée	O
40	02P435	CT	F	10	Limbe (dorsal)	O
41	02P203	CT	M	10	Limbe (dorsal)	O

**Annexe 5a : résultats bruts de l'analyse
histologique des mélanomes uvéaux canins**

N° de cas	Architecture	Croissance	Vascularisation	Remaniements	Stroma réaction	Emboles	Type cellulaire
04P550	diffus iris	Infiltrant	O	O	O	O	E-PC
04P497	nodulaire	Infiltrant (sclère ½)	Fine et riche	nécrose	O	O	F-E-PC
04P368	nodulaire	Infiltrant (sclère ½)	O	nécrose	discrète	O	E>>>PC
04P461	nodulaire	Infiltrant (sclère ½)	lacunes	O	O	O	E>>>PC
04P516	multinodulaire	Infiltrant (sclère ½)	Fine et riche	nécrose	discrète	O	PC
96P224	nodulaire	Infiltrant (scléral)	fine	O	O	O	F-PC
97P137	nodulaire	Infiltrant (sclère 1/3)	Fine et riche	O	O	O	E-PC
02P529	nodulaire	Infiltrant	fine	hémorragies	+++	O	E
01P289	nodulaire	expansif	Fine, régulière	O	O	O	PC
00P237	comblement	Infiltrant (sclère)	Fine et riche	nécrose	O	OUI	E>>>PC
00P248	nod à diffus	Infiltrant	Fine, régulière	O	O	O	PC
00P314	nodulaire	Infiltrant	Fine, régulière	nécrose	O	O	F-E-PC
00P625	nodulaire	Infiltrant	Fine et riche	O	O	O	PC
01P300	diffus iris	Infiltrant (sclère 1/3)	Fine et riche	O	discrète	O	F-PC
01P537	multinodulaire	Infiltrant (sclère 1/3)	Fine, régulière	hémorragies	discrète	O	F>>PC
98P377	diffus iris		O	O	O	O	E>>>PC
02P756	nodulaire	Infiltrant	Fine et riche	nécrose	discrète	O	F-PC
02P807	nodulaire	Infiltrant	Fine et riche	nécrose	discrète	O	E
99P172	nodulaire	Infiltrant (1/3 sclère)	O	O	O	O	PC>>>F
02P512	nodulaire	Infiltrant (sclère 1/3)	Fine, régulière	nécrose	O	O	F>>PC
02P513	nodulaire	Infiltrant (sclère ½)	Fine, régulière	nécrose	O	O	E>>>PC
01P455	nodulaire	Infiltrant (sclère 1/3)	Fine, régulière	nécrose	O	O	PC
04P540	comblement	Infiltrant (sclère 1/3)	Fine et pauvre	O	O	O	E
98P106	diffus	Infiltrant	Fine et pauvre	nécrose	O	O	E (rhabdoïde)

Annexe 5a : résultats bruts de l'analyse histologique des mélanomes uvéaux canins

N° de cas	Pigmentation	Anisocytose	Anisocaryose	Nucléolation	Cellules géantes	Index mitotique	Ki-67	Callender	Bussanich
04P550	Dense (PC) Rare (E)	++	++	++	O	≤ 4(pour 10)	< 10%	E	3
04P497	Dense	+++	+++	++	O	≤ 4	< 10%	Mixte	2
04P368	Rare (E) Dense (PC)	+++	+++	+++	+	>4	>>10 %	E	3
04P461	Dense (P) Absente (E)	+++	+++	++	+	>4	>>10 %	E	3
04P516	Dense	++	++	++	+	≤ 4	< 10%	F	1
96P224	Dense (PC) Rare (F)	++	++	+	+	≤ 4	NE	F	1
97P137	Dense (PC) Rare (E)	++	++	++	+	≤ 4	< 10%	E	1
02P529	Rare (E)	++	++	++	++	>4	>>10 %	E	3
01P289	Dense	-	-	+	O	≤ 4	< 10%	F	1
00P237	Dense (PC) Rare (E)	++	++	++	+	>4	≥10%	E	3
00P248	Dense	+/-	+/-	+	O	≤ 4	< 10%	F	1
00P314 (b)	Mixte	++	++	++	++	>4	≥10%	Mixte	2
00P625	Dense	+/-	+/-	+	O	≤ 4	< 10%	F	1
01P300	Dense	+	+	+	O	≤ 4	< 10%	F	1
01P537	Dense	-	-	+	O	≤ 4	< 10%	F	2
98P377	Rare (E) Dense (PC)	++	++	+	O	>4	≥10%	E	3
02P756	Dense	NE	NE	NE	NE	NE	< 10%	F	1
02P807 (a)	Mixte	++	++	++	O	>4	≥10%	E	3

**Annexe 5a : résultats bruts de l'analyse
histologique des mélanomes uvéaux canins**

N° de cas	Pigmentation	Anisocytose	Anisocaryose	Nucléolation	Cellules géantes	Index mitotique	Ki-67	Callender	Bussanich
99P172	Dense	NE	NE	NE	NE	NE	< 10%	F	1
02P512	Dense	+	+	+	O	≤ 4	≥10%	F	1
02P513	Rare (E) Dense (PC)	+	+	+	O	≤ 4	≥10%	E	3
01P455	Dense	NE	NE	+	NE	≤ 4	< 10%	F	1
04P540	Rare (E)	++	+++	++	Cellules binucléées	>4	>>10 %	E	3
98P106	Achromique	+++	+++	+++	Cellules géantes	>4	>>10 %	E	3

**Annexe 5b : résultats bruts de l'analyse histologique des
mélanomes épibulbaires félines**

N° de cas	Architecture	Croissance	Vascularisation	Remaniements	Stroma réaction	Emboles	Type cellulaire
02P435	nodulaire	infiltrant	+	0	0	0	PC>>>F
02P203	nodulaire	/	+	0	0	0	PC>>>F

N° de cas	Pigmentation	Anisocytose	Anisocaryose	Nucléolation	Cellules géantes	Index mitotique	Ki-67	Callender	Bussanich
02P435	dense	0	0	0	0	≤ 4	< 10%	F	1
02P203	dense	0	0	+	0	≤ 4	< 10%	F	1

N° de cas	Architecture	Croissance	Vascularisation	Remaniements	Stroma réaction	Emboles	Type cellulaire
04P548	nodulaire	Infiltrant	Fine, régulière	O	O	O	PC
00P321	multinodulaire	expansif	Fine, régulière	nécrose	O	O	PC
00P462	nodulaire	Infiltrant	O	O	O	O	PC
01/152	multinodulaire	Infiltrant	Fine, régulière	O	O	O	F-PC
01P536	nodulaire	NE	Fine, régulière	O	discrète	O	F-PC
03P133	NE	NE	Fine, régulière	O	discrète	O	PC
99P573	multinodulaire	Infiltrant	Fine, régulière	O	O	O	PC>>>F

NE = non évalué

N° de cas	Pigmentation	Anisocytose	Anisocaryose	Nucléolation	Cellules géantes	Index mitotique	Ki-67	Callender	Bussanich
04P548	Dense	NE	NE	+	NE	≤ 4	< 10%	F	1
00P321	Dense	NE	NE	+	NE	NE	< 10%	F	1
00P462	Dense	NE	NE	+	NE	≤ 4	< 10%	F	1
01/152	Dense	NE	NE	+	NE	≤ 4	< 10%	F	1
01P536	Mixte	++	++	++	O	≤ 4	< 10%	F	1
03P133	Dense	NE	NE	NE	NE	≤ 4	< 10%	F	1
99P573	Dense	NE	NE	NE	NE	≤ 4	NE	F	1

N° de cas	Architecture	Croissance	Vascularisation	Remaniements	Stroma réaction	Emboles	Type cellulaire
02/150(uvée)	comblement	infiltrant	0	Nécrose+hyphéma	0	0	E + PC
99P372(diffus)	diffus	Infiltrant	0	0	0	0	E>>>F
04P691(uvée)	comblement	Infiltrant (sclère)	++	nécrose	0	oui	E>>>PC
02P617(diffus)	diffus	infiltrant	0	0	0	suspect	E + F
99P85(diffus)	diffus	infiltrant	0	Hémorragies+thrombose	0	0	E+PC+F
99P6(diffus)	diffus	infiltrant	0	0	0	oui	E+PC
99P168(diffus)	diffus	Infiltrant(sclère)	++	Nécrotico-hémorragique	0	oui	E
04P554(diffus)	diffus	infiltrant	0	0	0	0	F

N° de cas	Pigmentation	Anisocytose	Anisocaryose	Nucléolation	Cellules géantes	Index mitotique	Ki-67	Callender	Bussanich
02/150	Mixte	+++	+++	++	++	≤ 4	< 10%	E	3
99P372	Rare	++	++	+/-	+	≤ 4	≥10%	E	3
04P691	Rare	+++	+++	++	+	>4	>>10%	E	3
02P617	Rare	++++	++++	++++	++++	>4	≥10%	Mixte	2
99P85	Mixte	++++	++++	++++	++++	≤ 4	≥10%	Mixte	2
99P6 (c)	Mixte	+	+	++	0	≤ 4	< 10%	E	3
99P168 (d)	rare	+++	+++	+++	+++	>4	>>10%	E	3
04P554	mixte	++	++	0	0	≤ 4	>>10%	F	2