UNIVERSITE SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
FES

Année 2012 Thèse N° 172/12

LES MELANOMES CUTANES ET MUQUEUX (A propos de 23 cas)

THESE
PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 24/12/2012

PAR

Mme. EL HAOUARI AZIZA
Née le 03 Septembre 1984 à Taza

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

MOTS-CLES :
Mélanome - Etude clinique - Anatomopathologique - Moléculaire
Thérapeutique - Pronostique

JURY

Mme. AMARTI RIFFI AFAF..... Professeur d'Anatomie pathologique	PRESIDENT ET RAPPORTEUR
Mme. MIKOU OUAFAE..... Professeur de Dermatologie	JUGES
M. OULDIM KARIM..... Professeur agrégé de Génétique	JUGES
Mme. BENNIS SANAE..... Professeur assistant de Biologie cellulaire	MEMBRE ASSOCIE

ABREVIATIONS

ADN	: Acide Désoxyribonucléique
ADP	: Adénosine Diphosphate
AFA	: Mélange Alcool-Formol-Acide Acétique
AJCC	: American Joint Committee on Cancer
ALM	: Mélanome Acro-Lentigineux
AMM	: Autorisation de Mise sur le Marché
AMPc	: Adénosine monophosphate cyclique
Anapath	:Anatomo-Pathologie
APAF-1	: Apoptotic Protease Activating Factor 1
ARNm	: Acide Ribo-Nucléique Messager
BCG	: Bacilli Camette Guerin
Bcl-2	: Lymphome 2 à Cellule B
BiCNU	: Carmustine
CCNU	: Lomustine
CD	: Cluster of Differentiation
CDDP	: Cisplatine
CDKN2A	: cyclin-dependent kinase inhibitor 2A.
CDK4	: cyclin-dependent kinase 4
CGH	: Hybridation Génomique Comparative
CHU	: Centre Hospitalier Universitaire
C,CR1, CR2, CR3	: conserved region
CL	: Cellule
CT	: Computerized Tomography
CTLA-4	: Cytotoxic T Lymphocyte T Associated molecule-4
DTIC	: Dacarbazine
dATP	: désoxy Adénine tri-phosphate
dCTP	: désoxy Cytosine tri-phosphate
dGTP	: désoxy Guanine tri-phosphate
dNTP	: desoxy-nucléotide tri-phosphate
dTTP	: désoxy thymine tri-phosphate
E	: acide glutamique
EDTA	: Ethylène diamine tétra acétique
EGFR	: Epidermal Growth Factor Receptor
EGF	: Endothelial Growth Factor
EMA	: Antigène épithélial membranaire
ESMO	: la Société Médicale Européenne d'Oncologie
18F-FDG	: 2-Fluoro-2-Desoxy-D-Glucose marqué au fluor 18

FNCLCC : Fédération Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer
FPS : Facteur de Protection Solaire
GNAQ : Guanine nucleotide-binding protein G(q) subunit alpha
GM-CSF : Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor
GTP : guanine tri-phosphate
GEF : guanine échange factor
GDP : guanine di-phosphate
Gp 75 : Glycoprotéine 75
GS : Ganglion Sentinelle
HES : Hématoxyline Eosine Safran
H/F : Homme/Femme
HLA : Human leucocyte antigen
HMB45 : Marqueur Mélanique
HPF : Champs de Microscope à Fort grossissement
IB : Indice de Breslow
IFN : Interferon
IHC : Immunohistochimie
IL-2 : Interleukine 2
IRM : Imagerie par Résonnance Magnétique
KD : kinase domain
Kit : Inhibiteur de la Tyrosine Kinase
LAKs : Lymphocytes Activés Circulants
LDH : Lactate Déshydrogénase
MAPK : Mitogen-activated protein kinases
MART-1 : Melanoma-Associated Antigen Recognized by T cells
MC1R : Melanocortin 1 Receptor
µCi : Micro-Curie
MIA : Melanoma Inhibiting Activity
MMR : mis-match repair
MiTF : Facteur de Transcription de la Microphtalmie
MSH : Mélanocyte Stimulating Hormone
MU : Million Unités
N : Nombre des cas
N° : numéro des cas
NCCN : National Comprehensive Cancer Network
NDUFB2 : NADH dehydrogenase 1 beta subcomplex subunit 2, mitochondrial
NF1 : Neurofibromin 1
NHMRC : National Health and Medical Research Council
NSE : Neuron Specific Enolase

ORL	: Oto Rhino Laryngologie
Pb	: Paire de base
PBS	: Phosphate buffered saline
PBS	: Phosphate Buffer Solution
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PDGF	: Platelet Derived Growth Factor
PKA	: Protéine kinase A
PS 100	: Protéine S100
PTEN	: Phosphatase and Tensin Homologue
Raf	: Rapidly Accelerated Fibrosarcoma
RP	: Protéine C Réactive
RBP	: Ras binding domain
RR	: Risque Relatif
RT-PCR	: Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
SFD	: Société Française de Dermatologie
SIGN	: Scottish Intercollegiate Guidelines Network
SNP	: single nucléotide polymorphism
SOR	: Standards Options Recommendations
SSM	: Mélanome superficiel extensif ou SSM
TDM	: Tomodensitometrie
TEP	: Tomographie par émission de positons
TILs	: Lymphocytes Infiltrant la Tumeur
TNF	: Tumor Necrosis Factor
TP53	: Tumor Protein 53
UICC	: Union Internationale Contre le Cancer
V	: valine
UV	: ultra violet
XIAP	: Protéine Inhibitrice de l'Apoptose liée au chromosome X

TABLES DES MATIERES

INTRODUCTION 8

PATIENTS ET METHODES..... 10

I- Matériels 10

1- Patients..... 10

2- Données individuelles des patients 10

II- Méthodes 14

1- Prise en charge macroscopique 14

2- Hématoxyline Eosine Safran 15

3- Immunohistochimie..... 15

4-Etude moléculaire..... 17

RESULTATS 29

I-Analyse des résultats 29

A- Paramètres épidémiologiques 29

B- Paramètres cliniques 30

C- Paramètres paracliniques 35

D- Traitement 43

E- Evolution 43

DISCUSSION 47

CHAPITRE I : DEFINITION 48

CHAPITRE II : RAPPEL HISTOLOGIQUE 49

CHAPITRE III : Anomalies génétiques impliquées dans le mélanome..... 55

Gène Braf 55

Gène Ckit 63

Intérêt thérapeutique 68

Autres gènes 69

CHAPITRE V : EPIDEMIOLOGIE..... 74

A- Données statistiques 74

1- Fréquence 74

2- Sex-ratio 76

3- Répartition selon l'âge 76

4- Topographie 77

B- Facteurs de risque 78

CHAPITRE VI : ASPECTS CLINIQUES ET DERMATOSCOPIQUES 84

A- Aspects cliniques 84

B- La dermatoscopie 93

CHAPITRE VII : HISTOPATHOLOGIE DU MELANOME 97

I- Histogénèse du mélanome 97

II- Le diagnostic anatomopathologique 98

1- Principe et intérêt de la biopsie-exérèse 98

2- examen anatomopathologique 99

III- Diagnostic histologique selon le type histogénétique 108

1- Le mélanome acro-lentigineux 108

2- Le mélanome nodulaire 109

3- Le mélanome de Dubreuilh 109

4- Mélanome superficiel extensif (SSM 110

5. Autres formes particulières 111

CHAPITRE VIII: BILAN DU MELANOME ET CLASSIFICATION 116

A-Bilan du mélanome 116

B-Classifications 120

CHAPITRE IX : EVOLUTION ET PRONOSTIC 123

I- Evolution 123

II- Pronostic 125

A- Critères cliniques 125

B – Critères histologiques 127

C – Facteurs biologiques 133

CHAPITRE X : TRAITEMENT – SURVEILLANCE 135

A- Traitement du mélanome 135

I. Stade de la tumeur primitive 135

1- La chirurgie 135

2- Recherche et analyse du ganglion sentinelle dans la prise en charge initiale 136

3- Traitements adjuvants au stade initial 137

II- Stade locorégional 138

III-Stade de métastases ganglionnaires 139

1- Curage ganglionnaire 139

2- Traitement adjuvant après réalisation du curage ganglionnaire 139

3- Radiothérapie 139

IV. Au stade de métastases viscérales 139

1- Chirurgie 139

2- Radiothérapie 140

3- Chimiothérapie 140

4- Immunomodulateurs 141

V. Traitements en cours d'évaluation 141

VI. Thérapies ciblées 145

B- SURVEILLANCE DES PATIENTS APRES TRAITEMENT 153

CHAPITRE XI:PREVENTION DU MELANOME 156

1- La prévention primaire du mélanome 156

2- La prévention secondaire du mélanome 158

3- Moyens à mettre en œuvre pour améliorer la prévention du mélanome. 160

CONCLUSION ET PERSPECTIVES..... 162

ANNEXES : OBSERVATIONS DES MALADES 164

RESUME 183

BIBLIOGRAPHIE 186

INTRODUCTION

Le mélanome est une prolifération néoplasique maligne faite de cellules d'origine neuroéctodermiques de type mélanocytes avec ou sans pigment mélanique.

Le plus souvent, de localisation cutanée, mais aussi peut se développer sur des muqueuses notamment digestives, mais avec un pronostic plus réservé. Son incidence augmente dans les populations à peau claire, en particulier les tranches d'âge de 30-50 ans.

Il possède un grand potentiel métastatique .Aucune thérapeutique n'a prouvé son efficacité sur la survie des malades en phase métastatique d'ou l'importance du dépistage et de la prévention.

L'examen histologique permet de confirmer la nature mélanocytaire de la tumeur et de déterminer les critères histopronostiques : Degré d'invasion (classification de Clark) et l'épaisseur de la tumeur (indice de Bresslow).L'exérèse chirurgicale avant la dissémination métastatique est l'unique traitement curatif disponible. La chimiothérapie et l'immunothérapie et les thérapeutiques ciblées sont envisagées.

Actuellement, le développement de la biologie moléculaire a permis d'aborder les mécanismes moléculaires de la progression tumorale et de mettre en lumière des gènes impliqués dans cette évolution. Toutefois, des difficultés importantes persistent : il existe une grande variabilité dans l'expression de ces gènes, non seulement d'un patient à l'autre, mais aussi selon les stades de la maladie, locaux ou métastatiques,par ailleurs, certaines des mutations retrouvées au cours du mélanome peuvent également être présentes dans des lésions bénignes (nævus). La variabilité génotypique associée au mélanome rend le ciblage thérapeutique complexe, et constitue actuellement un défi majeur en termes de traitement.

PATIENTS ET METHODES

A partir de ce travail, on va insister surtout sur les anomalies génomiques les plus étudiées (le gène Braf et Ckit), desquelles semblent naître des perspectives thérapeutiques intéressantes.

L'objectif de notre travail, est d'étudier les différents aspects cliniques, anatomopathologiques, moléculaire, thérapeutiques et pronostiques des mélanomes à travers une étude rétrospective, portant sur des prélèvements colligés au laboratoire d'anatomie pathologique du CHU de Fès de 2009 à 2010.

A - Matériels :

1) Patients

Il a était inclus dans l'étude, 45 patients atteints d'un mélanome cutané et muqueux diagnostiqué par une étude anatomopathologique au laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques du CHU HASSAN II de FES.

2) Données individuelles des patients.

Nous avons recueilli les données à partir des dossiers médicaux des services de, dermatologie, traumatologie, de gastrologie, d'ophtalmologie et de pneumologie du CHU HASSAN II de FES, les dossiers (22 cas) de services d'ORL, et des malades externes n'étaient pas disponibles, ils sont exclus de l'étude.

Pour chaque patient ont été relevés les renseignements suivants :

2-1. Epidémiologiques : âge, sexe, l'origine, le niveau socio-économique, lieu d'habitat et profession.

2-2. Cliniques: antécédents personnels et familiaux, délai entre la date d'apparition de la lésion et la consultation, topographie, nombre, taille et type anatomo-clinique de la tumeur.

2-3. Histologiques : aspect de la couche cornée, structure de l'épiderme, intensité de la prolifération lentigineuse, nombre de mitoses, présence d'une composante nodulaire, phase d'extension, présence de nécrose, d'ulcération, de pigmentation, de régression, d'engainement péri nerveux, et d'extension vasculaire.

Par ailleurs, on a précisé le type histologique de la tumeur, l'Indice de

Breslow, le niveau de Clark, l'état des limites d'exérèse, et les résultats de l'immuno-marquage à la PS100, à la Melan A, et au CD117.

4. Thérapeutiques et évolutifs.

La fiche d'exploitation utilisée est la suivante :

Mélanome

Identité :

Nom:……

Age :……Sexe :……Origine……

:……

Profession :……Phototype :……N.S.E :……

F.D.R : ……

Autres ATCD : ……

Clinique :

Nombre :…… Siège :…… Taille :……

De novo : □ Sur naevus : □

Durée d'évolution :

Caractéristique :

Bordure :…… Couleur :……

Ulcération : □ Saignement : □

Histologie :

Composante latérale □

Composante verticale □

Nombre de mitoses : ……

Nécrose : □

Ulcération : □

Pigmentation : □

Régression : □

Engainement péri nerveux : □

Extension vers les vaisseaux : □

Type histologique : …… Niveau d'invasion :……

- Indice de Breslow :……
- Niveau de Clark :……

Limites d'exérèse :

Latérales : tumorales □ saines □

Profondes tumorales □ saines □

Immunomarquage :……

Ps100: □ Melan A: □ Ckit :□

Biologie moléculaire :

Mutation BRAF □oui :□non

Conclusion……

……

BILAN D EXTENSION

Clinique:……

……

Radiographie thoracique□……

TDM abdominopelvienne □ ……

TDM cérébrale □ ……

Echographie abdominale □……

TDM thoracique □……

Scintigraphie osseuse □……

Stade :

TRAITEMENT

Chirurgie □ marge d'exerese : ……

Curage ganglionnaire □

Chimiothérapie □

Radiothérapie □

Immunothérapie □

EVOLUTION. □

3 mois □ 1an □ 3ans □

6mois □ 2an □ 4ans □

B – Méthodes.

1) Prise en charge macroscopique :

- La prise en charge macroscopique des prélèvements reçus au sein du service d'anatomie et de cytologie pathologiques dépend du type du prélèvement.

- Les biopsies :

- Le nombre est compté et leur topographie est notée.
- leur diamètre est mesuré.
- enfin inclus en totalité sur leur face latérale pour que le bloc puisse être débité sur plusieurs niveaux de coupe étudiant toute la lésion.

- Les pièces d'exérèse :

- D'abord, mesurer la pièce, la tumeur et les marges de sécurité.
- ensuite, La pièce est ouverte longitudinalement.
- Pour la tumeur, on précise: Le siège, la couleur, la consistance, l'aspect (Bourgeonnant ou ulcéré), le remaniement hémorragique, l'extension par rapport aux limites de résection latérales et profondes.
- Par la suite :
- encrer La limite de résection profonde.
- encrer les limites latérales de la même couleur si la pièce n'est pas orientée ou de deux couleurs si la pièce est orientée.
- Finalement, tous les prélèvements sont repérés sur un schéma.
- Pour les lésions de grand volume, non incluables en entier, il est possible de faire des coupes parallèles au petit axe ou des prélèvements en croix. [53].

L'important est d'échantillonner la tumeur en prenant à la fois les zones les plus invasives et la composante intra-épidermique latérale témoin de la phase de croissance horizontale du mélanome.

2)- Hématoxyline Eosine Safran :

- Les diagnostics de nos cas ont reposé sur l'étude histologique des biopsies ou des pièces opératoires.
- Les prélèvements sont d'abord fixés dans un fixateur (Formol à 10%).
- La fixation dépend de la taille du prélèvement 5-12 heures pour les biopsies et 24 heures pour les pièces opératoires.
- Les prélèvements sont ensuite inclus en paraffine, coupés grâce à un microtome en coupes fines de 4 microns d'épaisseur et étalés sur des lames de verres.
- Le tissu est coloré à l'aide de colorants basiques tels que l'hématoxyline qui colore les noyaux en bleu ou en noir, et de colorants acides teintant le cytoplasme en rose ou en rouge tel que l'éosine. Le safran colore les fibres conjonctives en jaune.
- La coupe ainsi colorée est protégée définitivement par une lamelle de verre collée à l'aide d'un produit synthétique transparent.

3)- Immunohistochimie :

Cette technique se fait sur les blocs de paraffine et passe par plusieurs étapes

- La préparation à la technique (déparaffinage) :
- Le passage à l'étuve (37°) pendant 1 nuit.
- Toluène (2bains) ; 5-10 min chacun.
- Alcool absolu (3bains) ; 5-10 min chacun.

- Rinçage à l'eau courante ; 10 min.
- Technique :
- Egoutter les lames.
- Passage dans H_2O_2 à 0,4% ; 15 min.
- Rinçage à l'eau courante ; 10 min.
- Passage dans le Tampon citrate bouillant PH=6,5 ; 5 min.
- Rinçage à l'eau courante.
- Rinçage avec PBS (1bain) ; 5 min.
- Egoutter les lames et entourer les fragments par le PA, Mettre le bloquant sur le fragment ; 15 min.
- Disposer les lames dans une chambre stérile.
- Application de l'anticorps I et incubation dans une chambre humide et noire.
- Egoutter un peu les lames, les mettre dans un panier.
- Rinçage dans du PBS (2bains); 5 min chacun.
- Application de l'anticorps II ; 30 min.
- Couvrir les lames pour qu'elles ne sèchent pas.
- Rinçage dans du PBS (2bains) ; 5 min chacun.
- Application de la peroxydase.
- Rinçage dans du PBS (2bains) ; 5 min chacun.
- Egoutter les lames.
- Application sur chaque lame de 2 gouttes de substrat chromogène ;
- 10-15 min.
- Rinçage à l'eau courante.
- Egoutter les lames.
- Application de l'hématoxyline ; 2 min.

4. Etude moléculaire : [1]

4-1Extraction d'ADN à partir de tissus tumoraux

L'Extraction d'ADN est faite à partir de tissus inclus en paraffine (FFPE formaldéhyde/paraformaldehyd fixed/parafin-embedded tissues).

Principe général :

Les tissus inclus en paraffine sont incubés dans la toluène, et ensuite lavées dans des solutions d'alcool pour enlever les traces de toluène. Les échantillons ainsi déparaffinés sont sujets d'une étape de digestion des protéines liées à l'ADN par l'action d'une protéinase K.

Enfin les acides nucléiques sont purifiés par capture sur un filtre puis lavage et élution d'ADN.

Figure 1 : Schéma général du fonctionnement du RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation

(*) Formaldehyde or paraformaldehyde-fixed paraffin-embedded tissues

Le protocol experimental utilisé dans l'unité d'oncogénétique du CHU dispose d'un kit (Applied system) pour la réalisation d'extraction d'ADN

Solutions utilisées:

Deux solutions de lavage (Wash 1 et Wash2/3) dont la composition est la suivante :

42 ml d'éthanol 100% sont ajoutés à la bouteille de concentré de lavage Wash 1.

48 ml d'éthanol 100% sont ajoutés à la 2ème solution de lavage Wash 2/3.

Déparaffinage

- Dans un tube de 1,5 ml contenant 6 coupes de 10 µm ou 4 coupes de 20 µm, 1 ml de toluène est ajouté pour éliminer le complément de paraffine.
- Une centrifugation brève puis une incubation de 3 min à 50°C.
- laver le culot 2 fois avec l'éthanol absolu pour enlever l'excès de toluène
- Le culot récupéré est séché dans l'étuve à 45°C pendant 30 min pour éliminer l'éthanol.

Digestion à la protéase :

100 µl du tampon de la digestion (Invitrogen) avec 4 µl de protéase sont ajoutés au culot séché puis on procède à une incubation de 16h à 56°C sous agitation.

Tableau 1: Volume du tampon de digestion selon la taille des échantillons FFPE

Taille de l'echantilon	Tampon de digestion par echantillon
≤40 µm	100 µl
40-80 µm	104 µl

Isolement des acides nucléiques

Après avoir Préparé extemporanément le mélange « Isolation Additif/Ethanol », il sera ajouté et mélangé à l'échantillon.

Tableau 2: Volume du mélange Isolation Additif/Ethanol selon le volume du tampon de digestion

	Volume du tampon de digestion	
	100 µl	200 µl
Isolation additif	120 µl	240 µl
Ethanol 100%	275 µl	550 µl
Total	395 µl	790 µl

Le mélange ainsi obtenu, est passé à travers un filtre puis lavé avec 700 µl de la solution de lavage Wash 1. Une centrifugation pendant 30sec est réalisée, suivie d'un Lavage avec 500 µl de la solution de lavage Wash 2/3 puis d'une centrifugation de 30 secondes à 10000 rpm.

Ajouter 700 µl de Wash 1 au filtre, le tout est incubé pendent 30 sec à la température ambiante. Suivie d'une centrifugation à vitesse maximale 100 rpm x 100 pendant 30sec.

Les échantillons sont ensuite lavés 2 fois avec 500 µl de Wash 2/3, puis centrifugés pour éliminer le liquide résiduel. Le filtre est transféré dans un nouveau tube de collecte et 60 µl de la solution d'élution à 95°C sont ajoutés suivis d'une centrifugation pendant 1min à 140 rpm x 100. L'ADN est enfin récupéré et conservé à -20°C.

4-2-Dosage des acides nucléiques:

But :

Après extraction de l'ADN à partir d'un tissu tumoral, un dosage quantitatif de l'ADN est nécessaire au Nanodrop avant de réaliser la technique PCR.

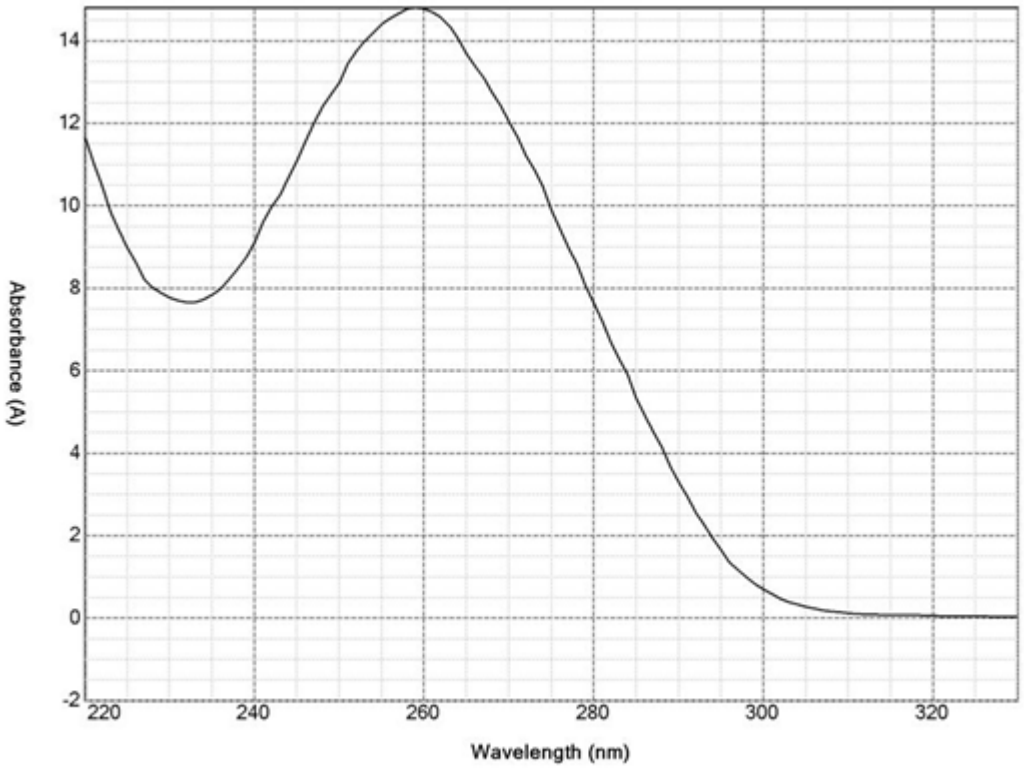


Figure2 : Dosage d'ADN du gène BRAF par Nanodrop (unité d'oncogénétique de CHU de Fès) [1]

Principe :

La quantification et la détermination de la quantité d'ADN extrait se fait par mesure de l'ADN sur 2 longueurs d'onde 260 et 280 nm.

La longueur d'onde 260 nm, est la zone d'absorbance maximale des acides nucléiques dans l'ultraviolet, alors que la longueur d'onde 280 nm est la zone d'absorbance des protéines.

Le rapport R= A(260)/A(280) permet d'évaluer la pureté de l'ADN (à savoir la présence des protéines résiduelles. Il doit être compris entre 1,8 et 2).

4-3-Amplification de l'ADN extrait par réaction en chaine par polymérase (PCR) :

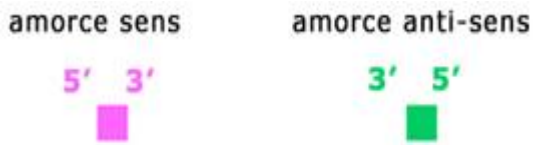
Principe :

Le principe de la PCR consiste à utiliser, de manière répétitive, l'une des propriétés des ADN polymérases, celle de ne pouvoir synthétiser un brin complémentaire d'ADN qu'à partir d'une amorce et cela se fait en plusieurs étapes :

1. L'ADN extrait présente.

Il sera représenté de la façon suivante:

2. Deux amorces, sens et anti-sens. d'environ 20 oligonucléotides, capables de s'hybrider de façon complémentaire au brin d'ADN ou sur son brin complémentaire, choisies de façon à encadrer la séquence d'ADN à amplifier et composées.



3. Une enzyme : La Taq Polymérase (Taq Pol), une ADN polymérase thermorésistante extraite de la bactérie *Thermus aquaticus*. Sa température optimale d'action est de 72°C et elle est capable de résister à des passages successifs à 95°C, ce qui a rendu possible l'automatisation de la procédure.

4. Nucléotides : dGTP, dATP, dTTP, dCTP, appelés globalement dNTPs (DésoxyNucléotides-Tri-Phosphates), qui sont les élèments de base utilisés par la Taq Pol pour synthétiser les brins d'ADN complémentaires.

La réaction

Une réaction de PCR correspond à la succession d'une trentaine de cycles comportant chacun 3 étapes :

§ Dénaturation,

§ Hybridation,

§ Elongation,

Tous les éléments nécessaires à la réaction sont regroupés dans un tube qui sera soumis aux différentes températures correspondantes à chaque étape. Ces cycles de température sont réalisés automatiquement dans un thermocycleur.

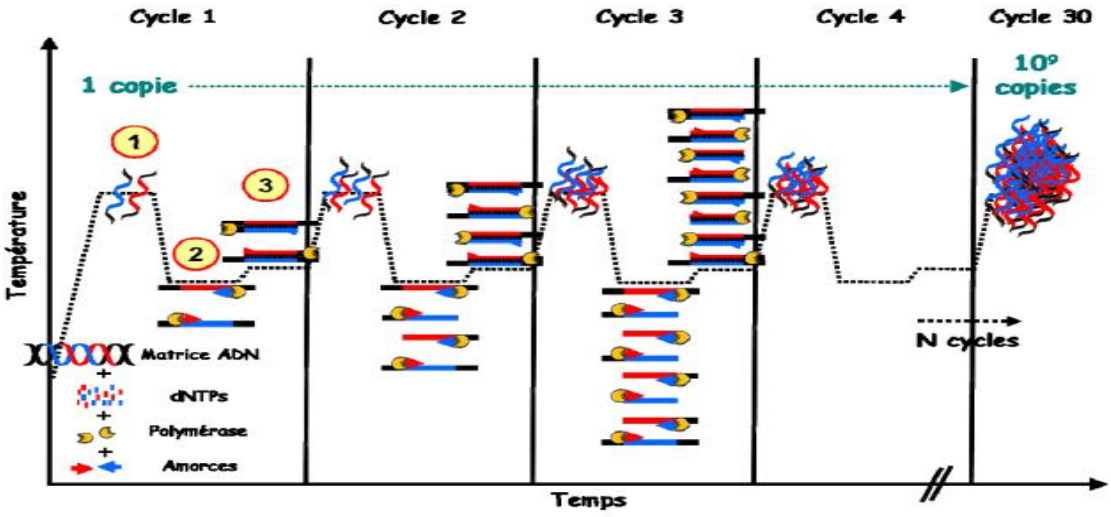


Figure 3 : schéma général d'une réaction de polymérisation en chaine

1 : La phase de dénaturation

2 : la phase d'hybridation

3 : la phase d'élongation

Protocole expérimental :

Une dilution d'ADN dans l'eau stérile est réalisée pour avoir une concentration de 10 ng/µL pour les échantillons de mélanome.

Les amorces utilisées pour l'amplification de l'exon 15 du gène B-raf sont :

Tableau 3 : les amorce utilisées dan la PCR de l'exon 15 du gène B-raf [1]

NOM	référence	SEQUENCE 5' - 3'
Amorce sens: BRAF_15F	Eurofins MWG operon	TGC-TTG-CTC-TGA-TAG-GAA-AAT-G
Amorce antisens: BRAF_15R	Eurofins MWG operon	GTA-ACT-CAG-CAG-CAT-CTC-AGG-G

Le mix PCR est préparé selon les indications du tableau 7 :

Tableau 4: les réactifs utilisés dans la PCR[1]

MIX PCR	Concentration initiale	Volume pour 1 réaction
Eau stérile		30.6 µl
Amorce sens F	10 µM	2 µl
Amorce anti-sens R	10 µM	2 µl
dNTPs	10 µM	1 µl
$MgCl_2$	25µM	4 µl
Tampon PCR	5X	5 µl
Taq polymérase	5U/µl	0,4 µl
Volume total 45 µl		

Le mix préparé est aliquoté à raison de 45 µl par tube. Ensuite, 5µl d'ADN sont ajoutés dans chaque tube pour avoir un volume total de 50 µl. Les tubes sont placés dans le thermocycleur et le programme suivant est lancé :

Tableau 5: programme de thermocycleur [1]

Cycles	Températures	Temps
1	95°C	10 min
35/40 cycles	94°C	30 sec
	60°C	1 min
	72°C	30 sec
1	72°C	10 min
1	4°C	∞

4-4-Détection et analyse des produits PCR par électrophorèse sur gel d'agarose :

Principe :

L'électrophorèse est l'une des principales techniques utilisées en biochimie ou biologie moléculaire pour la séparation des protéines ou des acides nucléiques. Dans un milieu donné, la séparation des particules se fait en fonction de leur charge électrique et pour des charges identiques, en fonction de leur taille.

Préparation du gel d'agarose 2% :

A la fin de la PCR, un gel d'agarose de 2% est préparé. Pour cela 1g d'agarose est solubilisé dans 50 ml de TAE 1X (Tris-Acétate-EDTA). Le mélange est chauffé à la micro-onde, puis 2µL de BET sont ajoutés. Pour chaque échantillon, 5 µl de produit PCR est mélangé avec 2 µl de tampon de charge. La migration à 100V est lancée. Les bandes sont visualisées à l'aide des ultraviolets.

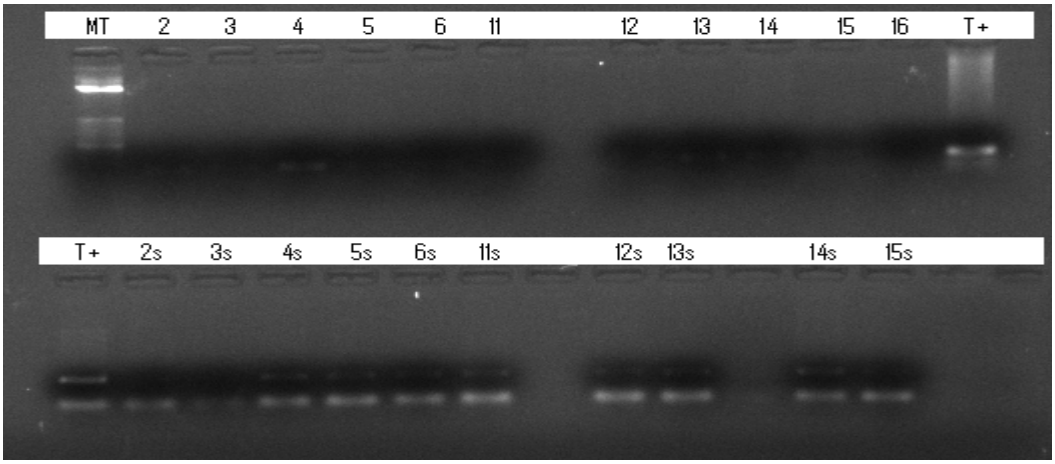


Figure 4: Bande d'ADN confirmant l'amplification du gène cible (BRAF) [1]

4-5- Séquençage des produits PCR des gènes BRAF :

But :

Notre objectif est d'appliquer le séquençage pour détecter les différentes mutations responsables des différentes maladies étudiées. Avant de séquencer nos produits PCR, il faudra les purifier pour éliminer l'excès d'amorces, de dNTP, d'ADN polymérase et des sels pour ne pas s'interférer avec la séquence d'intérêt.

Cette condition nécessite trois étapes :

Purification par l'exosap ,

Réaction de séquence par Big Dye^{R}. terminator :

La réaction de sanger repose sur l'incorporation aléatoire par l'ADN polymérase (Big Dye) de ddNTP.

Le mix PCR est préparé selon les indications du tableau suivant:

Tableau 6: produit de réaction de séquence [1]

Produit	*Volume utilisé en µL*
Big Dye 1.1	2
Amorce F ou R (6µM)	1
Produit de purification	4
Eau stérile	3
Volume totale	10

Le mix est centrifugé rapidement puis placé dans le thermocycleur selon le programme suivant :

Tableau 7 : programme de thermocycleur pour la réaction de séquence [1]

96°C	10s
50°C	5s
60°C	4min
25 cycles	

2ème Purification de produit de PCR :

Le kit Big Dye terminator permet la purification des produits de réaction de séquence en capturant les kits non incorporés dans la réaction et d'autre molécules chargées qui pourraient interférer lors de la détection de bases par électrophorèse capillaire.

Le mix suivant est préparé :

Tableau 8 : produit de 2ème purification [1]

Produit	Volume en µL
SAM	45
x-terminator	10
Produit de séquence	10
Volume final 65	

Le mélange est vortexé pendant 30 min puis centrifugé à vitesse maximale pendant 2 min. les échantillons sont finalement lancés dans le séquenceur.

4-6-Détermination de séquence :

Les séquences d'ADN sont déterminées par séquençage automatique selon la méthode de Sanger dans un Séquenceur huit capillaire 3500Dx.

Lecture de la séquence :

Une fois la réaction de séquençage est terminée, la taille des fragments obtenus est déterminée par une chromatographie. Le séquenceur détecte la fluorescence sortant des colonnes de chromatographie repérant ainsi les fragments d'ADN et leur taille précise. Le résultat est présenté dans l'appareil sous forme de courbes présentant la fluorescence détectée et l'interprétation qui en est faite en termes de nucléotides.

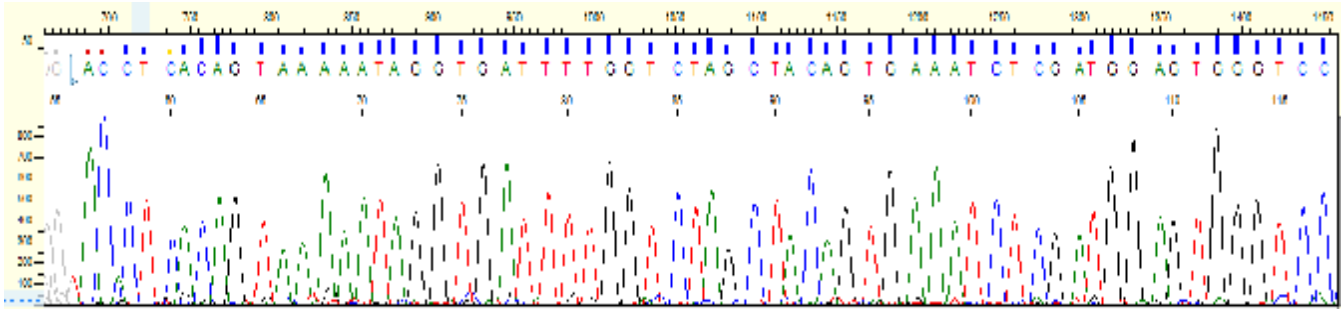


Figure 5: image d'un résultat de séquençage. Pic en bleu : C. pic en rouge : T. pic en vert : A. pic en noir : G[1]

ADN matrice + dNTP + ddCTP fluorescent bleu + ddATP fluorescent vert + ddGTP fluorescent jaune + ddGTP fluorescent rouge

L'analyse de l'electropherogramme obtenu se base sur la lecture de toutes les bases nucléotidiques. On note la présence d'une mutation lorsqu'il ya une substitution d'une base par une autre. Cette mutation peut être homozygote lorsqu'elle est portée par les 2 allèles, alors qu'on parle d'une mutation hétérozygote lorsqu'elle est portée un seul allèle.

4-7-Technique de PCR allèle spécifique :

La réaction en chaîne de la polymérase en utilisant des oligonucléotides spécifiques d'allèles (ASO) est une méthode alternative pour la détection de mutations dans lequel seul l'oligonucléotide identifié est capable d'agir comme une amorce pour l'amplification.

Dans cette technique, les amorces sont conçues de telle sorte qu'elles sont complémentaires soit avec la séquence normale (type sauvage) ou avec la séquence mutée, et les deux sont utilisés en conjonction avec une amorce commune. Parce que l'ADN polymérase est dépourvue d'activité exonucléase 3 ', il est incapable de réparer un mésappariement d'une seule base entre la PIMER et le modèle à l'extrémité 3 'des amorces d'ADN. Ainsi, si les amorces oligonucléotidiques sont conçues pour contenir le décalage à proximité ou à l'extrémité 3 ', l'amorce sera ou ne sera pas étendu en fonction du polymorphisme de la seule base alternative qui est présent dans la séquence cible. Par conséquent, dans les conditions optimales, seulement l'ADN cible complémentaire de l'amorce est amplifié.

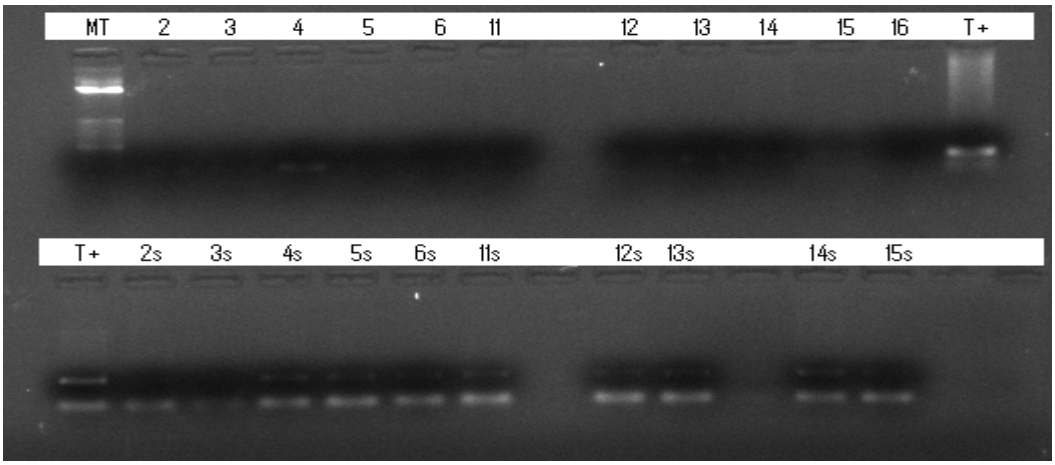


Figure 6 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose à 2% des produits PCR allèle spécifique du gène Braf [1]

RESULTATS

I- Analyse des résultats :

A- Paramètres épidémiologiques.

1- Sexe

Parmi les 23 cas explorés, il y avait 8 hommes et 15 femmes, le sexe ratio H/F était donc 0.53H/1F.

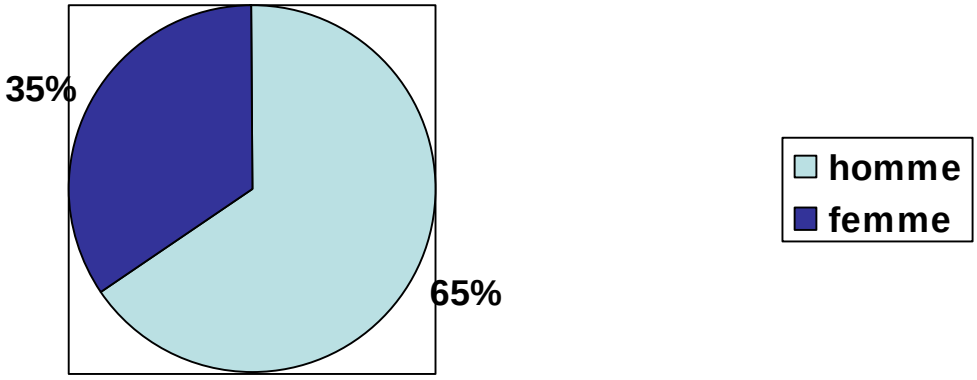


Figure 7 : Répartition des malades selon le sexe

2- Age

L'âge des patients de notre série varie entre 18 et 85 ans, avec un âge moyen de 54.56 ans et un âge médian de 51 ans.

3- Phototype

17 patients (73.9%) avaient un phototype du groupe IV, 4 avaient un phototype du groupe III (17.4%), et 2 avaient un phototype II (8.7%).

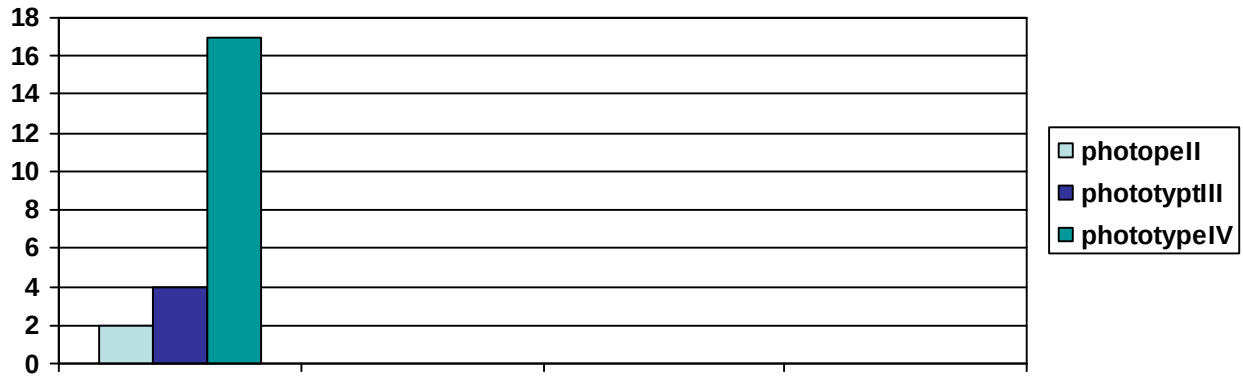


Figure 8 : Répartition des patients selon le phototype.

B- Paramètres cliniques :

1- Antécédents :

1-1. Antécédents personnels

Dans les antécédents de nos patients, on note la notion de traumatisme du pied chez 2 patients qui présentent un mélanome acral de la plante du pied.

La notion de microtraumatismes répétés était retrouvée chez 3 patients qui présentent un mélanome acral du pied (talon et plante).

La notion d'exposition solaire d'intensité moyenne a été retrouvée chez 10 patients présentant un mélanome acral (8 patients), du tronc et de la joue alors que la notion d'exposition solaire intense a été retrouvée chez 3 patients qui présentent un mélanome de la joue, naso-sinusien et oculaire.

On note aussi la notion d'antécédent de mélanome :

- non documenté avec l'apparition d'un second mélanome après une période de 2 ans, au niveau du même site chez 2 patients (notion de lésion noirâtre du pouce (avec régularisation de la deuxième phalange) et de l'oreille (avec exérèse).
- documenté (preuve anapath) chez un patient qui a présenté un an après avoir bénéficie d'une parotidectomie pour un mélanome, la notion du mélanome cutané au niveau du bas du dos.

La notion de carcinome épidermoïde chez un patient présentant un mélanome acrolentigineux.

On note aussi un seul cas de syndrome de naevi atypiques chez un patient présentant un mélanome de type SSM.

2 patients ont présenté un mélanome nodulaire (du tronc et lombaire) sur un naevus congénital.

1-2. Antécédents familiaux :

On note un cas de xéroderma pigmentosum chez 2 sœurs d'un patient qui présente un mélanome nodulaire occipital.

2- Délai de consultation :

Le délai entre les premiers signes cliniques remarqués par le patient et sa consultation varie entre 3 mois et 7 ans avec un délai moyen de consultation de 2 ans.

3- Topographie :

Tableau 9 : Répartition du mélanome selon les différentes localisations.

Localisation du mélanome	Visage	Tronc et dos	Membres		muqueux	Occipitale (ganglion)	pleurale
			Non acral	acral			
Nombre de cas	3	3	2	10	3	1	1
Pourcentage	13%	13%	8.6%	43.47%	13%	4.3%	4.3%

4- Taille de la tumeur :

La taille tumorale clinique varie entre 1cm et 8cm avec une moyenne de 4.2 cm.

Tableau 10 : montrant la taille clinique et histologique (l'indice de Breslow) des différents cas du mélanome

N° Cas	Taille clinique	Type de mélanome	Indice de Breslow
4	3cm	type SSM	3 mm
5	1 cm	nodulaire	2 mm
9	4.5cm	nodulaire	6mm
13	8 cm	acrolentigienux	20 mm
7	3.5 cm	nodulaire	11 mm
14	1 cm	acrolentigienux	4 mm
3	2 cm	M sur mélanose de Dubreuilh	5 mm
10	7 cm	nodulaire	20 mm
11	2 cm	acrolentigienux	1 mm
8	2 cm	métastase gg d'un mélanome	
12	3 cm	métastase cutanée d'un mélanome	
6	7.5 cm	acrolentigienux	20 mm
23	5 cm	muqueux nasosinusien	10 mm
22	1.5 cm	acrolentigineux	4 mm
19	2 cm	nodulaire	4 mm
18	7 cm	acrolentigineux	7 mm
17	8 cm	acrolentigineux	20 mm
16	5 cm	acrolentigineux	3.5 mm
20	7 cm	nodulaire	7 mm
15		Métastase pleurale d'un mélanome	
2	3 cm	M sur mélanose de Dubreuilh	4 mm
21	2 cm	muqueux ulcéré infiltrant nf optique	10 mm
1	4 cm	muqueux ulcéré du rectum	7 mm

Pour avoir une corrélation plus précise entre la taille clinique et l'indice de Breslow, nous avons réparti les patients entre des différents groupes, en fonction de la taille tumorale clinique (≤ 1cm, de 1.1 à 3 cm, de 3.1 à 5 cm et > 5cm).

L'indice de Breslow (≤ 1mm, 1,1-2mm, 2,1-4mm et > 4mm).

Les résultats sont rapportés dans le tableau suivant : (Valeurs de p <0,05 considérées significatives).

Tableau 11 : de corrélation entre la taille clinique et histologique (l'indice de Breslow) des différents cas du mélanome.

		Indice de Breslow			
		≤ 1mm	1,1-2mm	2,1-4mm	> 4mm
Taille clinique (cm)	≤ 1cm (2cas)	-	50%(1)	50%(1)	-
	1,1-3cm (7cas)	14%	-	57%(4)	29%(2)
	3,1-5cm (5cas)	-	-	20%(1)	80%(4)
	> 5cm (6cas)	-	-	-	100%(6)

P=0.02 (significatif)

5- Type anatomo-clinique :

Dans notre série, six patients avaient un mélanome de type nodulaire, huit patients ont présenté un mélanome acro-lentigineux, trois patients ont présenté un mélanome muqueux (rectale, naso-sinusien et oculaire), un seul cas de mélanome type SSM et deux cas de mélanome sur mélanose de Dubreuilh et 3 patients présentaient de métastase d'un mélanome (pleurale, cutanée et ganglionnaire).

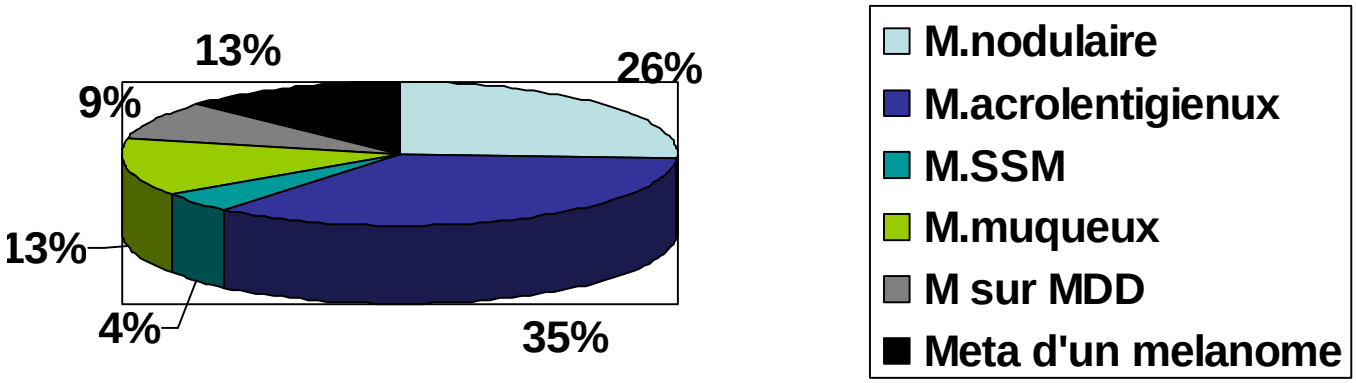


Figure 9 : Répartition des cas selon le type histologique

C- Paramètres paracliniques:

1. L'examen dermatoscopique

Effectué chez 17 patients (tous les patients du service de dermatologie), a montré dans tous les cas, une pigmentation diffuse hétérochrome suspecte de malignité.

Figure 10 : Mélanome nodulaire [186]

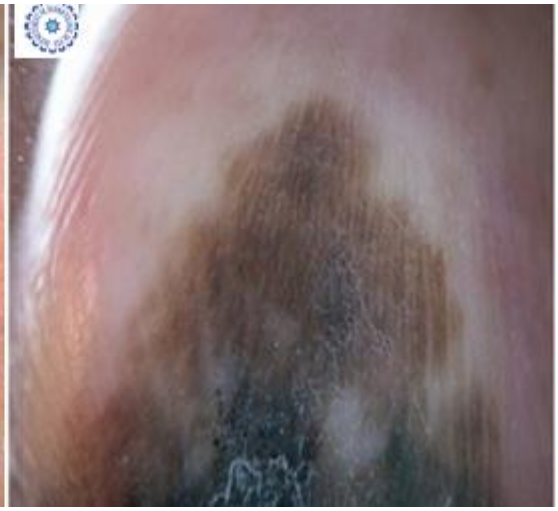


Figure 11: Mélanome acrolentigineux [186]

2. L'étude histologique

des cas de mélanome diagnostiqués a révélé que :

La tumeur était en phase d'extension verticale dans 70 % des cas.

. Le nombre de mitoses était en moyenne : 8 mitoses / 10 champs. Il varie de 2 à 26 mitoses / 10 champs.

. L'ulcération était présente dans 60 % des cas.

La nécrose était retrouvée dans 3 cas (13%).

. L'engainement périnerveux était présent dans 2 cas (8%), alors que l'extension vasculaire a été trouvée chez un seul cas.

. L'indice de Breslow varie entre 1 mm et 20 mm, en fonction du type histologique :

Tableau 12 : corrélation entre l'indice de Breslow et le type histologique

Type histologique	Breslow (en mm)			
	≤ 1	1,1-2	2,1-4	> 4
M.Acrolentigineux	12,5%(1)	-	37,5%(3)	50%(4)
M. Nodulaire (6cas)	-	16,5%(1)	16,5%(1)	67%(4)
M sur Mélanose de Dubreuilh(2cas)	-	-	50%(1)	50%(1)
M.SSM (1cas)	-	-	100%(1)	-
M. Muqueux (3cas)	-	-	-	100%(3)

P=0.72 (non significatif)

A partir des données du tableau, on note que l'indice de Breslow est supérieur à 4 mm dans 100% des cas de mélanome muqueux et dans 67% des cas de mélanome nodulaire.

. Le niveau de Clark était à V chez 7 patients (41%), IV chez 5 patients (30%), III chez 4 patients (23%) et I (5%) chez un seul patient.

Pour les mélanomes non cutanés et les métastases, il n'était pas calculé.

Aucun cas de régression n'a été observé.

3. L'étude immuno-histochimique:

- . PS 100 a été positive chez 20 patients (86%).
- Mela A a été positive chez 22 patients (95%).
- CKit a été positive chez 7 patients (30%) dont 5 présentant un mélanome acro-lentigineux et 2 un mélanome muqueux (naso-sinusien et oculaire).

Tableau 13 : corrélation entre les différents marqueurs immunohistochimiques et le type histologique.

Type histologique	PS100 +	C.Kt +	Melan.A
M. Acrolentigineux	87,5(7/8)	62,5%(5/8)	100%(8/8)
M. Nodulaire	83,3(5/6)	0%(0/6)	100%(6/6)
M. Mélanose de Dubreuilh	100%(2/2)	0%(0/2)	50%(1/2)
M.SSM	100%(1/1)	0%(0/1)	100%(1/1)
M. Muqueux	100%(3/3)	66,7%(2/3)	100%(3/3)
Métastase de mélanome	66,7%(2/3)	Non évalué	100%(3/3)
Prévalence	0,84(non significatif)	0,06(non significatif)	0,051(non significatif)

On note dans notre série que le Melan A est le marqueur le plus sensible (95%) puis la PS100 (86%).

Le Ckit est positif dans 66,7% des cas de mélanome muqueux.

4. L'étude moléculaire

4-1-Résultat de PCR d'exon 15 du B-raf:

Dans le but de rechercher la mutation ponctuelle du gène BRAF dans l'exon 15, l'ADN de 16 patients présentant un mélanome a été amplifié.

7 cas ont été exclus :

- deux ont été exclus vu le caractère biopsique du prélèvement et donc le nombre insuffisant des cellules tumorales.
- 3 cas pour la présence de plus de 80% de nécrose ce qui gène la PCR et le séquençage
- 2 cas pour leur caractère trop pigmenté ce qui altère le dosage de l'ADN.

Une bonne amplification a été obtenue pour 11 échantillons, les cinq cas restants montrent une faible quantité d'ADN après dosage, insuffisante pour la PCR.

Les profils éléctrophorétiques des produits d'amplification par PCR du gène B-Raf exon 15, des différents patients sont présentés dans la figure ci- dessous :

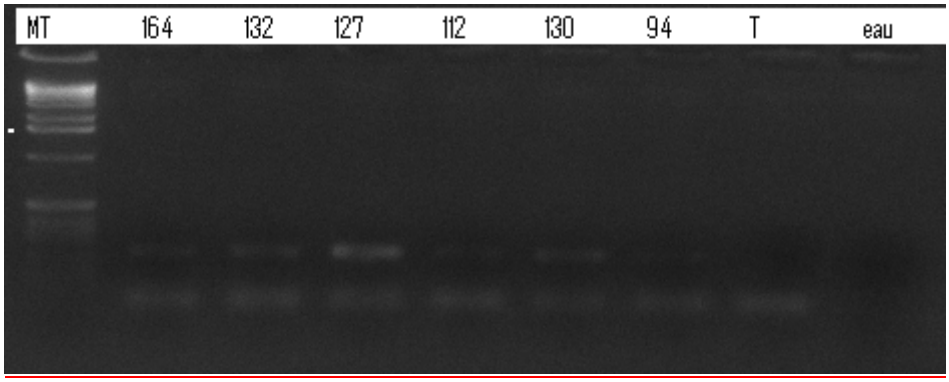


Figure 12 : profil d'électrophorèse sur gel d'agarose à 2% des produits PCR du gène B-raf, exon 15, (taille est 145 pb) des échantillons du mélanome.

Le résultat d'amplification par PCR du gène B- Raf exon 15, montre pour tous les patients une bande correspondant à la séquence amplifiée de l'exon 15 du gène B- Raf d'une taille approximative de 145 pb.

4-2-Résultat de séquençage :

Vu la première utilisation du séquenceur et la mise au point de la technique, 5 cas (parmi les 11 cas séquencés), seulement ont été analysables et montrant la séquence du tout le gène,

L'alignement entre la séquence étudiée et celle disponible dans la banque de données montre la présence de mutation V600E type substitution du nucléotide T en A, au niveau d'une seule séquence qui correspond à un cas de mélanome cutané de type SSM. La mutation n'a pas été mise en évidence au niveau des autres échantillons.

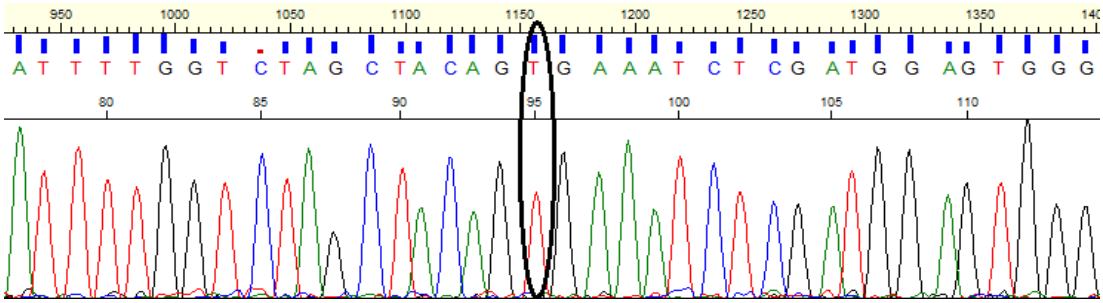


Figure13 : profil d'une séquence de l'exon 15 du B-raf d'un échantillon du mélanome qui ne présente pas de mutation T en A.

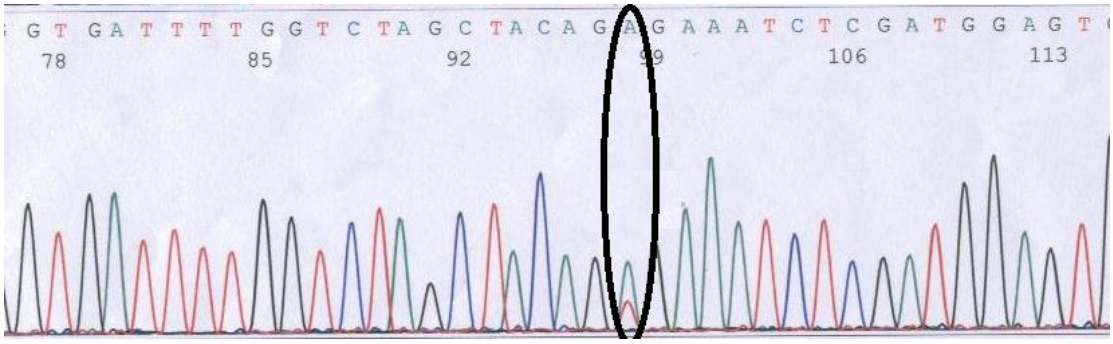


Figure 14: profil d'une séquence F de l'exon 15 du B-raf d'un échantillon du mélanome qui présent la mutation T en A.

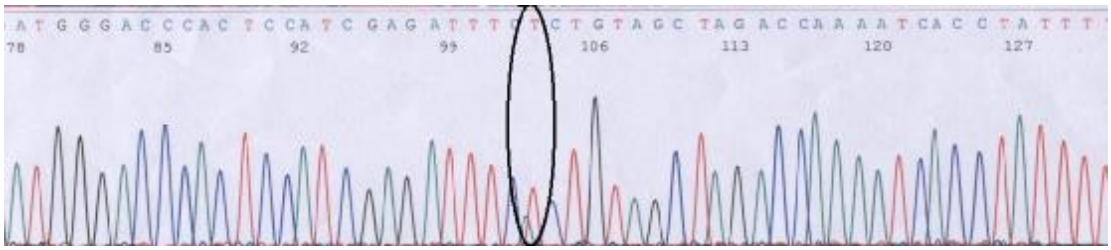


Figure 15 : profil d'une séquence R de l'exon 15 du B-raf d'un échantillon du mélanome qui présent la mutation T en A.

Pour confirmer l'utilité de la technique PCR allèle spécifique dans la détection des mutations, 11 cas de mélanome ont été testés.

Cette technique a permis de confirmer les résultats de séquençage par l'apparition d'une bande qui correspond à l'exon 15 du gène B-raf de taille

approximativement 120pb pour l'échantillon présentant la mutation. Cette bande témoigne de la présence d'une mutation dans l'ADN étudié.

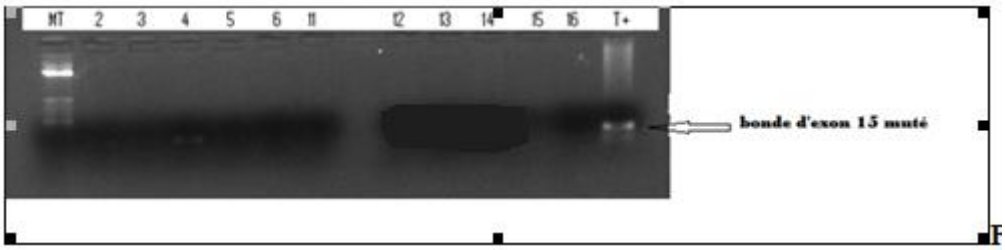


Figure 16 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose à 2% des produits PCR allèle spécifique du gène B-raf, exon 15des échantillons du mélanome.

Taille est environ 120 pb MT : marqueur de taille. T: témoin positif. L'échantillon 4 contient la mutation.

5. Les métastases :

Retrouvées chez 11 patients (47%),étaient :

- Pulmonaires chez 9 des patients.
- Ganglionnaires chez 10 patients
- Cérébrales, Osseuses et péritonéales chez un patient.
- hépatiques chez deux patients.
- Surrénaliennes chez 2 patients.

Siège des différentes métastases

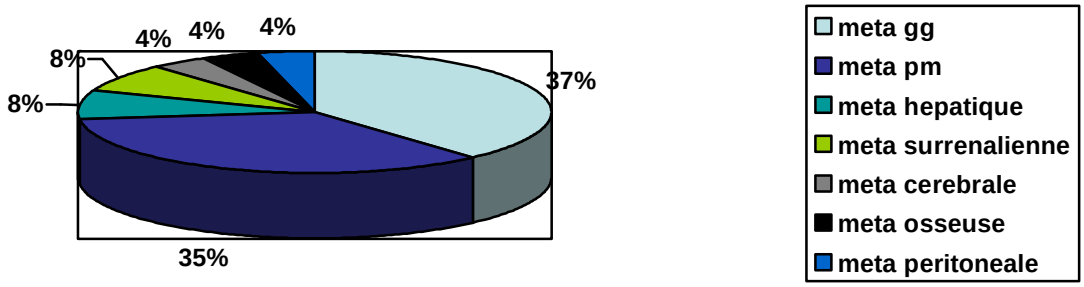


Figure 17 : Répartition des métastases

Tableau 14: Répartition des métastases selon le type histologique, l'indice de Breslow et le niveau de Clark.

N° Cas	Type histologique du mélanome	Type de métastase	Niveau de Clack	Indice de Breslow
4	M type SSM	-	IV	3
5	M nodulaire	ganglionnaire	III	2
9	M nodulaire	-	V	6
13	M acrolentigienux	Ganglionnaire+pulmonaire	V	20
7	M nodulaire	-	V	11
14	M acrolentigienux	-	IV	4
3	M sur mélanose de Dubreuilh	Pulmonaire+cerebrale	III	5
10	M nodulaire	-	V	20
11	M acrolentigienux	-	I	1
8	métastase ganglionnaire d'un mélanome	Ganglionnaire+pulmonaire		
12	métastase cutané d'un mélanome	Hépatique+surrénale+Ganglionnaire+pulmonaire		
6	M acrolentigienux	-	V	20
23	M muqueux naso-sinusien	Ganglionnaire+pulmonaire		10
22	M acrolentigienux	-	IV	4
19	M nodulaire	-	III	4
18	M acrolentigienux	-	V	7
17	M acro-lentigienux	surrénale +Ganglionnaire+pulmonaire	V	20
16	M acro-lentigienux	-	IV	3.5
20	M nodulaire	-	IV	7
15	Métastase pleural d'un mélanome	Ganglionnaire+pulmonaire		
2	M sur mélanose de Dubreuilh	Hépatique+ganglionnaire+pulmonaire	III	4
21	M muqueux oculaire	ganglionnaire+pulmonaire		10
1	M muqueux rectal	péritoine+ganglionnaire		7

Nous avons évalué la corrélation entre le type histologique et le développement de métastases. Les résultats sont schématisés dans le tableau suivant :

Tableau 15 : corrélation entre le type histologique et le développement de métastases

Type histologique	Présence Métastase	Absence Métastase	N.cas
M.Acrolentigineux	25%(2)	75%(6)	8
M. Nodulaire	16,7(1)	83,3%(5)	6
M/Mélanose de Dubreuilh	100%(2)	0%	2
M.SSM	0%	100%(1)	1
M. Muqueux	100%(3)	0%	3

P=0.03 (significatif)

Les cas de mélanome muqueux et de mélanose de Dubreuilh ont présenté des métastases dans 100%.

Par contre on note l'absence de métastases à 100% dans le mélanome type SSM.

Nous avons aussi évalué la corrélation entre l'indice de Breslow et le développement de métastases :

Tableau 16 : corrélation entre l'indice de Breslow et le développement de métastases

Indice de Breslow	Présence de métastase	Absence de métastase	N.cas
≤ 1mm	-	100%(1)	1
1,1-2mm	100%(1)	-	1
2,1-4mm	16,7%(1)	83,3%(5)	6
> 4mm	100%(6)	-	6

P=0.25 (non significatif)

On note que les patients ayant un indice de Breslow ≥ 4mm ont développé des métastases dans 100% des cas. Alors que les cas qui ont eu un indice de Breslow ≤ 1mm, n'ont pas présenté de métastases dans 100% des cas.

D- Traitement :

14 patients ont subis une exérèse chirurgicale.

- Une amputation a été indiquée chez 4 patients dont 2 ont refusé l'acte.
- Une seule patiente a subit une énucléation oculaire.
- Un seul patient a subit une amputation abdomino-périnéale.
- 8 patient ont bénéficie d'une chimiothérapie.
- 1 patient a bénéficie d'une radiothérapie.

E- Evolution :

La durée moyenne du suivie était de 21 mois avec des extrêmes de 3mois et 36mois:

- 10 patients sont toujours en vie sans récidive locale ou régionale
- 4 patients ont présenté une récidive locale pour laquelle ils ont eu une ré exérèse. Actuellement ils sont en vie sans notion de récidive.
- 2 patients ont été perdus de vue.
- 7 patients sont décédés, ils ont été d'emblée métastatiques.

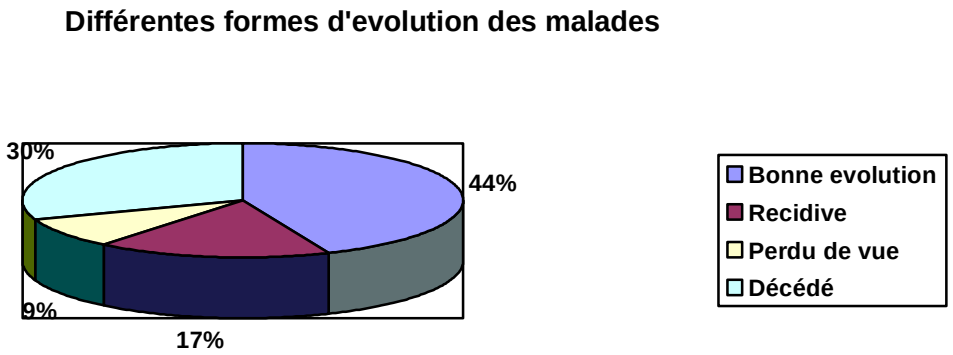


Figure 18 : Différentes formes d'évolution des malades

Le seul cas qui a présenté une mutation Braf et qui correspond à un mélanome de type SSM, a présenté une bonne évolution, sans métastases ni récidive, pour les autres cas qui n'ont pas présenté aucune anomalie moléculaire, ont présenté des évolutions variables (bonne, récidive ou décès).

Tableau 17:Tableau résumant l'évolution des patients selon la localisation, type histologique, anomalie moléculaire, métastases et le type du traitement.

N° Cas	Localisation	Type histologique	Mutation Braf	Ckit	Métastase	Traitement	Evolution
4	épaule	M type SSM	oui	-	-	exérèse	Bonne
5	occipitale	M nodulaire	non	-	ganglionnaire	exérèse+ curage	Récidive
9	plante du pied	M nodulaire	non	-	-	exérèse	Bonne
13	plante du pied	M acro-lentigienux	non	+	Ganglionnaire+pulmonaire	amputation mais refus	récidive
7	tronc	M nodulaire	non	-	-	exérèse	Bonne
14	pouce	M acro-lentigienux	non	-	-	exérèse	Bonne
3	poumon+ joue	M sur mélanose de Dubreuilh	non	-	Pulmonaire+cérébrale	chimio+radiothérapie	décédé
10	talon	M nodulaire	non	-	-	exérèse profonde	Bonne
11	plante du pied	M acro-lentigienux	non	+	-	exérèse	Bonne
8	inguinale	métastase gg de mélanome	non	-	Ganglionnaire+pulmonaire	exérèse+ curage+ chimio	Perdu de vue
12	bas du dos	métastase cutanée d'un mélanome	non	-	Hépatique+surrénale+Ganglionnaire+pulmonaire	exérèse+ chimo	décédé
6	talon	M acro-lentigienux	non	-	-	amputation transtibliale	Bonne
23	naso-sinusien	M muqueux	non	+	Ganglionnaire+pulmonaire	exérèse +chimio	décédé
22	pouce	M acrolentigineux	non	+	-	amputation	Bonne
19	oreille	M nodulaire	non	-	-	exérèse	Bonne
18	plante du pied	M acrolentigineux	non	+	-	exérèse	Bonne
17	avant pied	M acrolentigineux	non	-	surrénale +Ganglionnaire+pulmonaire	amputation médio-tarsienne+surrenalectomie+chimio	décédé
16	plante du pied dt	M acrolentigineux	non	+	-	amputation mais refus	Récidive
20	lombaire	M nodulaire	non	-	-	exérèse	récidive
15	pleural	Métastase d'un mélanome	non	-	Ganglionnaire+pulmonaire	chimio	décédé
2	joue	M sur mélanose de Dubreuilh	non	-	Hépatique+ganglionnaire+pulmonaire	exérèse+chimio	perdu de vue
21	œil droite	M muqueux ulcéré infiltrant nf optiq	non	+	ganglionnaire+pulmonaire	exentération+chimio	décédé
1	rectum	M muqueux ulcéré du rectum	non	-	péritoine+ganglionnaire	Amputation abdomino-périnéale+chimio	décédé

Pour avoir des résultats plus précis, nous avons évalué la corrélation entre le type histologique et l'évolution.

Le tableau suivant résume les résultats obtenus :

Tableau 18 : corrélation entre le type histologique et l'évolution.

Type histologique	Bonne évolution	Mauvaise évolution
M.ALM	62,5(5/8)	37,5%(3/8)
M. Nodulaire	66,7(4/6)	33,3%(2/6)
M.SSM	100%(1)	0%(0/1)
M/M. Dubreuilh	0%(0/2)	100%(2/2)
M. Muqueux	0%(0/3)	100%(3/3)

P=0.14 (non significatif)

L'analyse des résultats de tableau permet de conclure que les cas de mélanomes ALM, SSM et nodulaire ont été marqué par une bonne évolution.

Alors que les patients ayant un mélanome muqueux et de Dubreuilh ont présenté une mauvaise évolution dans 100% des cas.

Les corrélations entre l'indice de Breslow et l'évolution ont été également évaluées :

Tableau 19 : corrélation entre l'évolution et l'indice de Breslow.

Indice de Breslow	Bonne évolution	Mauvaise évolution
≤ 1mm	100%(1/1)	-
1,1-2mm	-	100%(1/1)
2,1-4mm	66,7%(4/6)	33,3%(2/6)
> 4mm	41,7(5/12)	58,3%(7/12)

P=0.39 (non significatif)

On remarque qu'en cas d'IB ≤ 1mm, on a une bonne évolution dans 100% des cas. Par contre, on note une mauvaise évolution dans 58,3%, en cas de Breslow > 4.

DISCUSSION

CHAPITRE I :

Définitions : [2, 3]

Mélanome'': terme issu du grec « mélas »: noir et « oma »: tumeur.

C'est une tumeur maligne développée au dépends des mélanocytes (cellules qui synthétisent la mélanine qui est à l'origine de la pigmentation de la peau), apparaissant le plus souvent sur la peau ou rarement sur les muqueuses. Le plus souvent de novo ou plus rarement sur un naevus préexistant.

- Le terme naevus, désigne toute hyperplasie des mélanocytes, circonscrite et bénigne dans la peau.

Ces tumeurs mélanocytaires, sont à distinguer des mélanoses circonscrites qui sont de simples pigmentations liées à un hyperfonctionnement des mélanocytes, comme les taches café au lait, et les éphélides du sujet roux.

CHAPITRE II :

1. RAPPEL HISTOLOGIQUE [4, 5,6]

La peau est constituée de trois couches superposées, de la surface vers la profondeur du corps : l'épiderme, le derme et l'hypoderme (Figure 1).

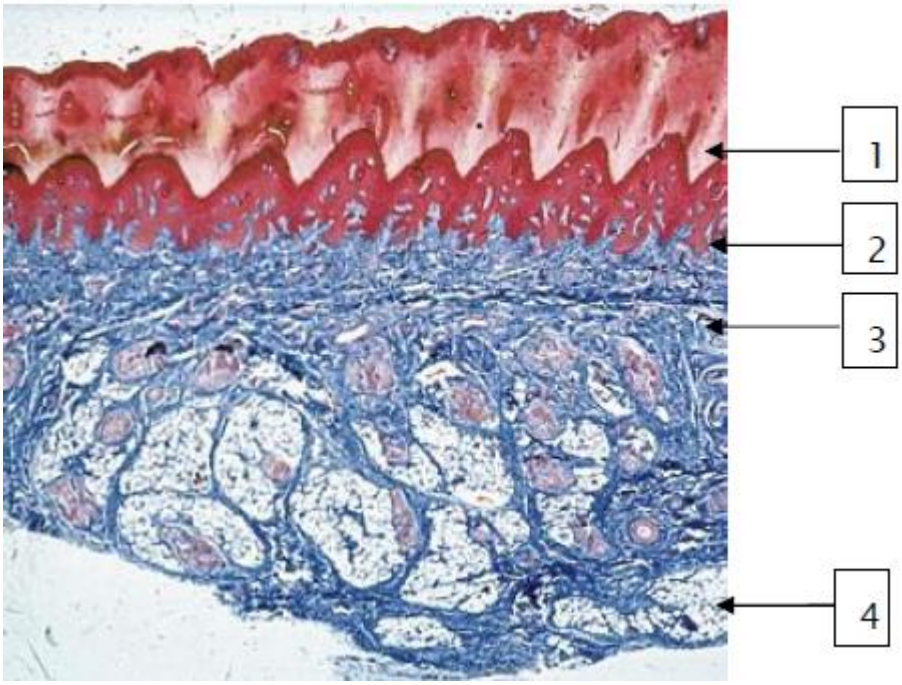


Figure 19: Coupe histologique de la peau (Coloration : Trichrome de Masson bleu) [6].

1 : L'épiderme.
2 : Jonction dermo-épidermique.
3 : Derme.
4 : Hypoderme.

L'épiderme, couche la plus superficielle de la peau, est un épithélium pavimenteux stratifié kératinisé dans la constitution duquel entrent quatre populations cellulaires différentes : les kératinocytes, les mélanocytes, les cellules de Langerhans et les cellules de Merkel. L'épiderme ne contient aucun vaisseau

sanguin ni lymphatique, mais renferme de nombreuses terminaisons nerveuses libres et des canaux sudorifères.

Il est mis au contact du derme par un ensemble de structures désignées sous le nom de jonction dermo-épidermique.

1–1. Les kératinocytes:

Le kératinocyte est la cellule épidermique essentielle, il modifie sa morphologie suivant sa situation dans les couches de l'épiderme et son état de maturation. On distingue ainsi plusieurs couches au niveau de l'épiderme

- La couche basale ou germinative : cellules cubiques ou prismatiques, prolifèrent par division mitotique et assurent le renouvellement de l'épiderme.
- La couche à épines ou spinocellulaire : les cellules commencent à s'aplatir,mais leur noyau et organites cytoplasmiques sont intacts. Les épines observées en microscopie optique correspondent à des systèmes de jonction appelés : Desmosomes.
- La couche granuleuse : cellules très aplaties, les noyaux commencent à dégénérer et surtout commencent à apparaître les grains de kératohyaline.
- La couche de transition appelée également couche claire.
- La couche cornée est formée de kératinocytes ayant perdu leur noyau et leurs organites.

1–2. Les mélanocytes :

Dans l'épiderme, les mélanocytes sont situés principalement dans la couche basale. Ils ont un aspect étoilé avec un corps volumineux, un noyau rond central et des prolongements cytoplasmiques. Les mélanocytes sont dépourvus de systèmes de jonction intercellulaire avec les cellules voisines, notamment les tonofilaments et les desmosomes. Par contre, on note la présence de filaments intermédiaires de vimentine et de mélanosomes.

Les prolongements cytoplasmiques des mélanocytes s'insinuent entre les kératinocytes représentant avec eux l'unité épidermique de mélanisation (UEM).
Une UEM= un mélanocyte + une quarantaine de kératinocytes.

Le nombre de mélanocytes varie selon la localisation des régions cutanées chez un même individu. Ainsi, leur densité est de 2000/mm² pour la peau de la face et de 1000/mm² pour celle du corps. Par contre, leur nombre est sensiblement identique dans toutes les populations humaines (caucasiennes, négroïdes et mongoloïdes), la différence de couleur s'expliquant par la qualité et la quantité de pigments mélaniques que ces cellules produisent.

En microscopie optique, les mélanocytes ne sont identifiables qu'avec des colorations argentiques ou par des techniques immunohistochimiques (HMB 45, anticorps anti-protéine S100, Melan A par exemple).

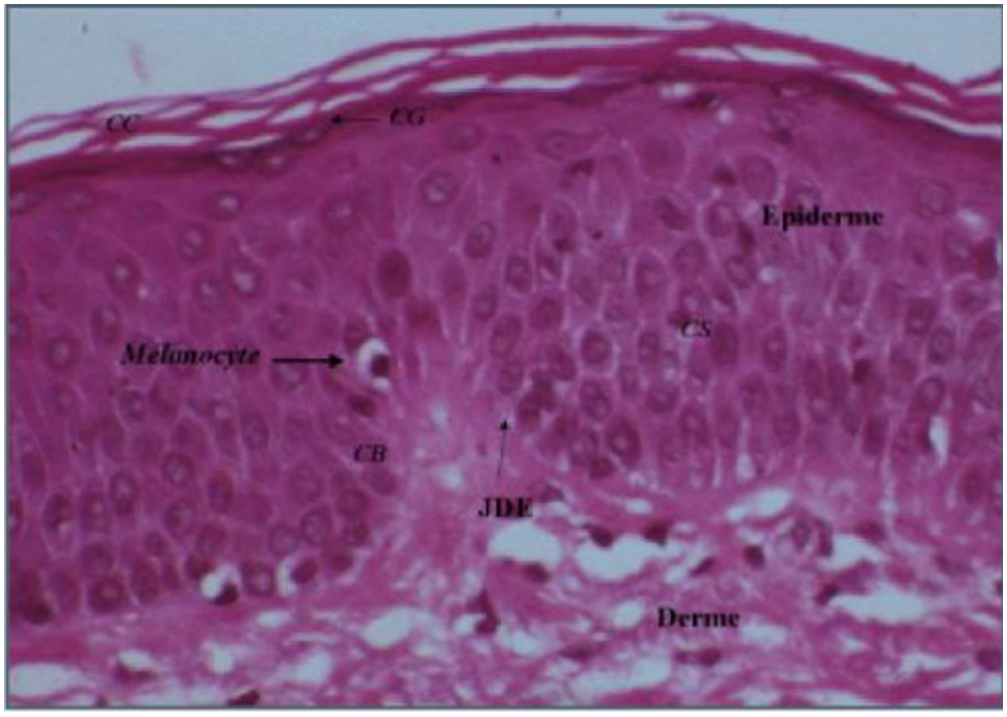


Figure 20 : Coupe histologique montrant la disposition des mélanocytes au niveau de l'épiderme.

CC : Couche cornée CG : Couche granuleuse JDE : Jonction dermo-épidermique
CS : Couche spinocellulaire CB : Couche basale.

1-2. Les cellules de Langerhans :

Ce sont des cellules dispersées entre les kératinocytes de la couche à épines de l'épiderme, pourvues de corps cellulaires peu colorés, riches en lysosomes, et contiennent des inclusions caractéristiques appelées « corps de Birbeck » qui sont des bourgeonnements de l'appareil de Golgi.

Ces cellules jouent un rôle de phagocytose, elles captent les antigènes à la surface de la peau et les présentent aux lymphocytes.

1– 3. Les cellules de Merckel :

Ces cellules appartiennent au système neuroendocrinien diffus et sont situées dans la couche basale. Ressemblent morphologiquement aux cellules basales avec deux différences :

- Possèdent des granules neuro-endocrines arrondis entourés par une membrane.
- des terminaisons nerveuses amyéliniques intraépithéliales viennent au contact de ces cellules.

Elles jouent un rôle sensoriel et neurosécrétoire.

2 – Le derme :

Le derme est un tissu conjonctif de soutien riche en vaisseaux sanguins. Il contient les glandes annexes de la peau, les follicules pileux, les corpuscules tactiles ainsi que des cellules dendritiques d'origine médullaire.

Il s'organise en deux couches :

. couche sous épithéliale appelée également derme papillaire: la plus superficielle : composée de tissu conjonctif lâche avec de fines fibres élastiques. La surface de la frontière avec l'épiderme est augmentée par la présence de petites expansions en forme de mamelons (papilles dermiques).

. couche réticulaire : la plus profonde : plus dense que la précédente avec des fibres de collagène en faisceaux et des fibres élastiques enchevêtrées en plexus.

3 – L'hypoderme :

Il s'agit de tissu conjonctif lâche reliant la peau aux organes sous jacents. Il contient des adipocytes plus ou moins nombreux (pannicule adipeux), des gros vaisseaux, des nerfs, des fibres de collagène parallèles à la surface.

4 – Les annexes cutanées :

4 – 1. Les glandes sudoripares :

Ce sont des glandes exocrines, tubuleuses simples et contournées qui sécrètent la sueur. Leur portion sécrétrice est entourée de cellules myo-épithéliales, siège dans le derme profond. Leur canal excréteur gagne la surface de l'épiderme par un trajet hélicoïdal appelé trajet ou canal sudorifère. Ces glandes sont de deux types : Eccrines, réparties sur tout le tégument et apocrines localisées au niveau des régions axillaires et pubiennes et s'abouchant aux canaux pilaires.

4 – 2. Le follicule pilo-sébacé :

Le follicule pilo-sébacé comprend la tige pilaire, les enveloppes épithéliales qui lui donnent naissance et la glande sébacée annexée au poil.

Les glandes sébacées, sont des glandes exocrines, alvéolaires simples, sécrétant le sébum. Leur portion sécrétrice est formée d'une ou de plusieurs alvéoles dilatées en sacs. Leur canal excréteur, unique et très court, débouche au niveau de la gaine épithéliale du poil.

4 – 3. Les ongles :

Faits de cellules épithéliales kératinisées, tassées les unes contre les autres et issues par prolifération tangentielle de la matrice unguéale, les ongles ont une croissance ininterrompue du fait de l'absence de desquamation.

5- La vascularisation de la peau :

Composée de 3 réseaux anastomotiques parallèles à la surface cutanée. Le réseau veineux est calqué sur le modèle artériel. Les lymphatiques suivent le trajet du réseau veineux.

6- L'Innervation de la peau :

Le derme et l'hypoderme contiennent de très nombreux nerfs provenant du système nerveux autonome, et des terminaisons nerveuses des voies de la sensibilité, myélinisées ou amyéliniques.

CHAPITRE III : Anomalies génétiques du mélanome

Parmi les principales voies oncogéniques incriminées dans le mélanome

- Voie Braf : 50% des patients mutés dans les mélanomes à extension superficielle (SSM).
- Voie Ckit (CD117) : Récepteur tyrosine-kinase : 2 à 6% de mutation dans le mélanome, mais 10-20% dans le site acral et muqueux.

I. Voie de BRAF

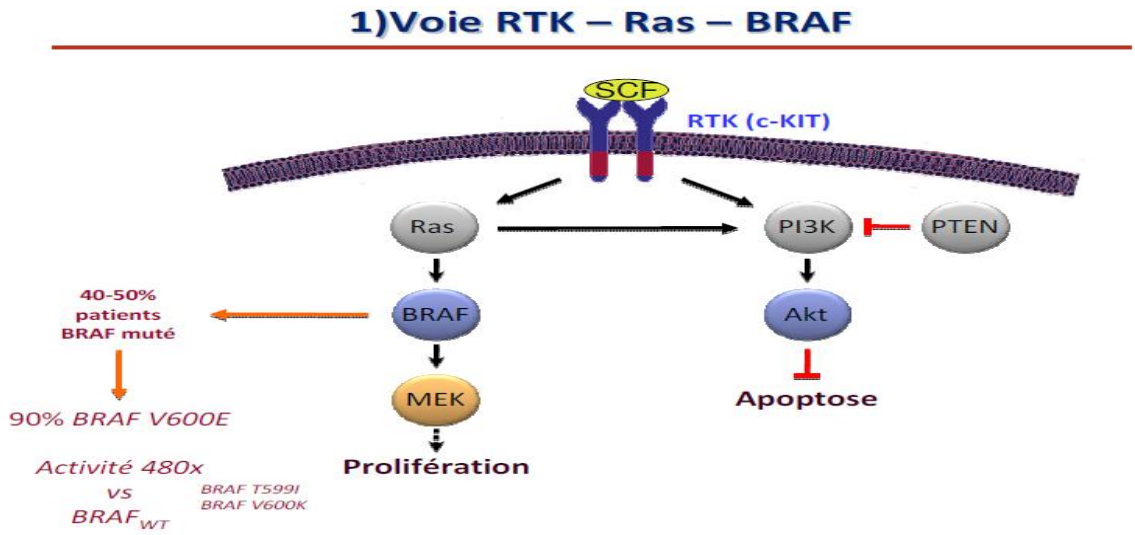


Figure 21: Voie RTK-Ras-Braf [7]

I. Gène BRAF: [8]

Ce gène code pour une sérine-thréonine kinase. Le B-raf se localise au niveau du bras long q du chromosome 7 (7q34) entre deux gènes appelés NDUFB2 et MRPS33. Sa taille recouvre approximativement 199.622 bases et code pour une protéine (B-raf) de 766 acides aminés.

Localisation du gène Braf

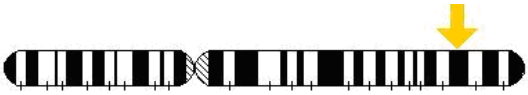


Figure 22 : localisation du gène B-raf sur le bras long q du chromosome 7.

Ce gène contient 18 exons séparés entre eux par des introns de taille différente. L'ARNm de ce gène contient en général 2478pb.

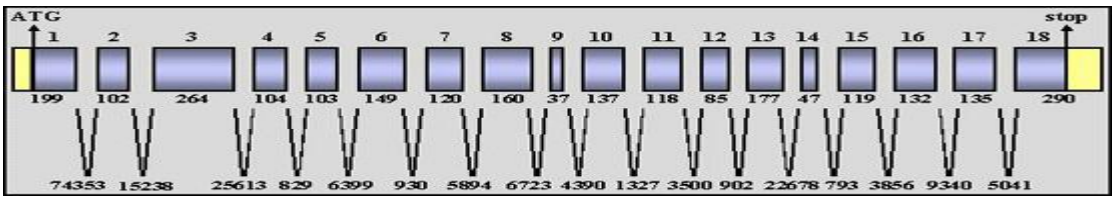


Figure 23 : digramme du gène B-raf. Les exons sont présentés en échelle gris. Les régions intermédiaires représentent les introns. La taille de chaque intron et exon est indiquée dans le diagramme.

2.Protéine B-raf (rapidly accelerated fibrosarcoma):

C'est un proto-oncogène qui appartient à la famille de sérine-thréonine kinase. Son poids moléculaire est 84436 daltons. BRAF est un isoforme de RAF. Les protéines Raf (Raf-1, A-Raf, B-Raf) sont des substances intermédiaires de Ras et MAPK dans la voie de prolifération cellulaire. Ces protéines jouent un rôle clé dans divers procédés physiologiques:

Le métabolisme cellulaire, la progression du cycle cellulaire et la mort cellulaire.

Elles participent à la voie de signalisation des MAP kinases par la transduction du signal mitotique de la membrane cellulaire vers le noyau. L'isoforme B-raf est à peine détectable dans les cellules par rapport aux autres isoformes (A-raf, raf-1). Son expression est prédominante dans les cellules hématopoïétiques, nerveuses, dans les testicules est aussi dans les cellules folliculaires au niveau de la thyroïde. [9]

Une équipe de recherche a démontré que le gène BRAF code pour de multiples isoformes présentant une expression tissu-spécifique et résultant, entre autres, de l'épissage alternatif de deux exons situés en amont de la région codant pour le domaine kinase de la protéine. Ils ont montré que la présence de ces séquences alternatives modulait les propriétés biochimiques et oncogéniques de la protéine B-Raf, et ils ont récemment caractérisé les mécanismes moléculaires responsables de ces différences d'activités. [10]

La conservation de ces exons alternatifs au cours de l'évolution, ainsi que l'expression tissu-spécifique des différents isoformes suggèrent que chaque isoforme possède des fonctions physiologiques spécifiques. Afin d'identifier ces fonctions, ils ont généré des souris knockout conditionnel permettant l'invalidation des exons alternatifs de B-Raf. Ils ont ainsi montré que les isoformes de B-Raf contenant l'exon alternatif 9 b étaient nécessaires aux processus d'apprentissage et de mémoire chez la souris [11].

3. Fonction de la protéine B-raf:

La fonction de B-Raf est de relayer les signaux de la membrane cellulaire, ce processus se fait par toute une série de réaction d'activation par phosphorylation des agents intervenants dans la voie Ras-Raf-Mek-Erk. Ras-GTP.

La cascade de signalisation commence à la membrane plasmique où le facteur de croissance se lie au récepteur EGFR provoquant sa dimérisation. La phosphorylation du récepteur active des facteurs d'échange de guanine (GEF), comme SOS. Ces facteurs sont attachés au récepteur par des protéines adaptatrices shc et grb-2. Les protéines GEF, dont SOS, poussent RAS à relarguer le GDP et à l'échanger contre le GTP. En effet, SOS se fixe sur des régions particulières de Ras-GDP (Switch 1 et 2), ce qui déplace S1 du site de fixation de GDP-GTP. Le GDP diffuse laissant la place au GTP. Cela conduit à la forme active de Ras qui est Ras-GTP. Ras GTP active la protéine Raf par une phosphorylation. A son tour, Raf phosphoryle Mek qui active une kinase régulatrice extracellulaire Erk par une phosphorylation. Erk phosphoryle plusieurs cibles qui provoquent des modifications de l'expression des gènes et l'activité enzymatique. [9]

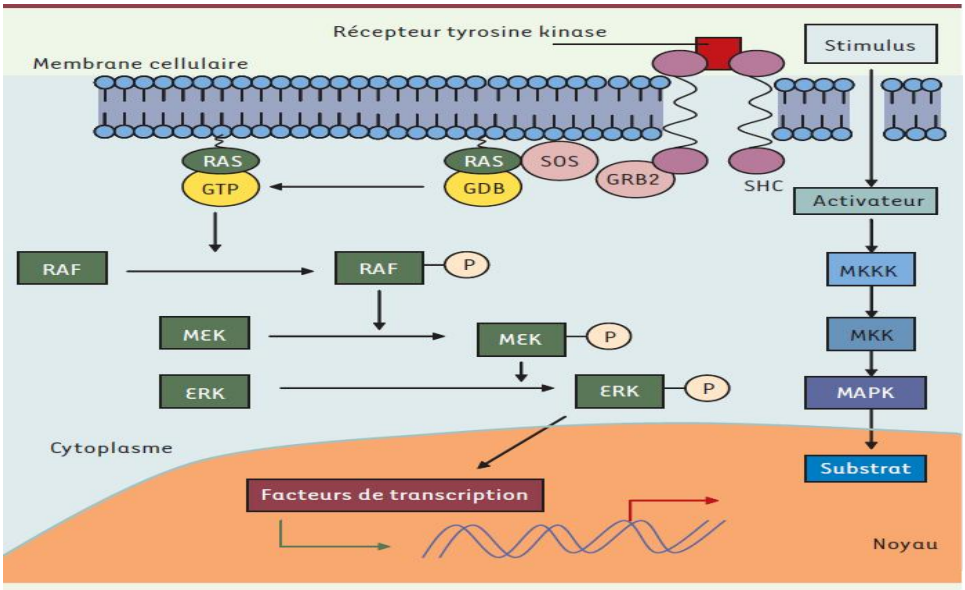


Figure 24 : Voie Ras-Raf-Mek-Erk. Ras-GTP active une cascade de kinases par phosphorylation, ce qui a des effets sur la régulation de gènes cibles.

Bien que la relation entre signalisation Ras/B-Raf et oncogenèse soit bien établie, la régulation de l'activité de la protéine kinase B-Raf reste mal connue.

4. Mutations dans le gène B-raf :

Le génome peut subir des altérations. Si ces dernières ne sont pas réparées, il y aura des modifications de l'expression des gènes. Ceci conduit à la synthèse d'une protéine anormale ou à sa surexpression, c'est ainsi que ces altérations peuvent être à l'origine de maladies, dont beaucoup de cancer.

Pour le gène B-raf, les recherches ont détecté plus de 30 mutations qui peuvent être associées avec le cancer humain. Elles causent la surexpression de ce gène et sa présence fréquente dans la cellule provoque une activation de la division cellulaire et par conséquent le développement des tumeurs cancéreuses. La plupart de ces mutations sont somatiques. La fréquence de mutations de B-raf est différente selon les types du cancer. Le taux d'activation du BRAF kinase est diffèrent selon la mutation et son activité augmente avec la mutation de HRAS[12]. Des rapports récents montrent qu'elle est présente dans 50% des mélanomes et jusqu'à 10% du

cancer colorectal. Dans 90% des cas [13], la base thymine est substituée par une adénine au nucléotide 1799. Cette substitution conduit à la formation d'une protéine dont la valine est remplacée par un glutamate au codon 600[14]. Cette mutation est appelée V600E. Elle est associée à 8% des tumeurs humaines solides et est fréquemment trouvée dans le cancer de thyroïde, du colon, du poumon et le mélanome. [15,16,17]. Les autres mutations 20% sont faux-sens. Elles résident dans les glycines de la G-boucle dans l'exon 11 ou dans le segment d'activation dans l'exon 15 près de la V600. Le tableau suivant résume les différents polymorphismes d'un seul nucléotide (single polymorpgism nucleotide SNP) trouvés dans le gène [12]:

Tableau 20 : les différentes mutations détectées dans le gène B-raf. [12]

Substitution dans le gène	Substitution dan la protéine
A1023G	P341P
A1227G	S409S
A1383G	Q461Q
A1797C	T599T
A1929G	G643G
G2272A	G758R
G1388A	G463E
G1388T	G463E
G1394C	G465A
G1394A	G465E
G1394T	G465V
G1403C	G468A
G1403A	G468E
G1753A	E585K
T1782G	F594L
G1783C	G595R
C1786G	L596V
T1787G	L596R
TG1796-97AT	V599D

A côté de ces SNP détectées, il existe d'autres altérations qui peuvent toucher ce gène. Ces altérations caractérisant spécifiquement le cancer cérébral sont : la duplication $7q34^{32}$ et la fusion entre KIAA 1549 et BRAF [18]

5. Mutation du gène B-raf dans le mélanome :

Différents types d'anomalies chromosomiques ou de niveaux d'expression génique ont été mis en évidence sur des échantillons de tumeur primitive de mélanome. Les anomalies les plus fréquemment retrouvées sont les délétions de fragments chromosomiques au niveau des chromosomes 1, 6, 9 et 10, et des translocations réciproques ou complexes entre les chromosomes 6, 7 et 8, dans plus de 95 % des cas[19].

Le mélanome acral, qui intéresse essentiellement les zones non photo-exposées, est fréquemment porteur d'un nombre supérieur de remaniements en gain, c'est-à- dire de trisomies, lorsqu'il est comparé au mélanome d'extension superficielle. Les mélanomes survenant en zones photo-exposées, quant à eux, présentent le plus souvent des aberrations sur les régions chromosomiques 13q et 17p. De leur côté, les mélanomes atteignant les muqueuses sont surtout porteurs de translocations concernant les gènes sur les régions chromosomiques 1q, 6p et 8q. Les régions chromosomiques amplifiées contiennent le plus souvent des oncogènes connus (*HRAS, CDK4, BRAF, cyclin D1*), mais également des gènes non identifiés. Plusieurs études concordantes ont donc démontré que la nature des aberrations chromosomiques et le niveau d'expression de ces oncogènes sont corrélés au type anatomoclinique de mélanome et à sa survenue en zone photo-exposée ou non [19].

BRAF est une molécule agissant en aval de la voie de MAP kinase. Il a été démontré que ce gène intervient dans la pathogenèse de mélanome. BRAF est muté dans 40% à 80% d'échantillons de mélanome. Il constitue un élément précoce dans l'évolution du mélanome puisqu'on peut le trouver dans les tumeurs bénignes [20]. Dans la plupart des cas, les mutations de B-raf se localisent dans l'exon 15. La mutation la plus commune est au niveau du codon 600, entraînant la substitution de l'acide glutamique par la valine (mutation V600E) [20]. Parfois, des mutations ont été

identifiées dans le domaine de la boucle (exon 11). La mutation de B-raf n'est pas associée au développement de mélanome uvéal [21].

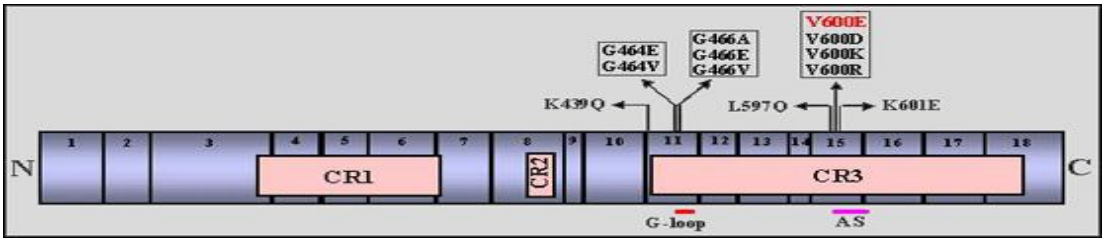


Figure 25 : digramme représentant les mutations de B-raf retrouvées dans le mélanome.

Les flèches en noires indiquent les mutations. Les mutations encadrées sont dans le même acide aminé. La mutation la plus connue V600E est en rouge [8].

A côté de ces mutations, il y en a d'autres qui peuvent être rencontrées comme par exemple : la mutation TG1796-97AT qui donne V599D, la mutation G1394C qui donne G465A et la mutation G1394A qui se traduit par une substitution G465E.

Dans notre série, l'étude moléculaire de nos cas explorés, a mis en évidence la présence d'une seule mutation V600E du BRAF au niveau de l'exon 15 correspondant à un seul cas du mélanome de type SSM (à extension superficielle), alors que la recherche de mutation, était négative dans les 10 autres cas correspondant à un mélanome sur mélanose de Dubreuilh, acrolentigineux, nodulaire et muqueux. Ceci est compatible avec les données de la littérature, ce qui permet de montrer l'intérêt de l'étude moléculaire dans la détermination du statut mutationnel du mélanome et d'établir une classification moléculaire de ce type de cancer et par conséquence de proposer la recherche systématique de mutation du gène BRAF devant toute mélanome métastatique ou primitif à fort pouvoir métastatique et surtout de type SSM, ce qui permet une meilleure prise en charge de ce type de patients et l' amélioration de la survie.

La technique d'allèle spécifique permet un gain du temps et du coût, parce que l'amorce utilisée est de petite taille et cible la seule et unique mutation existante sur le gène recherchée.

Alors que la technique de séquençage, est lourde et plus coûteuse, mais elle permet la recherche des différentes altérations génétiques présentant sur le gène.

Dans notre étude, nous n'avons pas pu obtenir des résultats de séquençage non critiquable que sur 5 cas/16, puisqu'il s'agit d'une nouvelle technique en cours de mise au point au laboratoire de biologie moléculaire du CHU de Fès et qui nécessite du temps pour une pratique quotidienne jusqu'à ce qu'elle devient reproductible.

6. Effet de mutation de B-raf sur le développement de mélanome :

Les mutations du gène *BRAF* semblent constituer un élément précoce dans l'évolution du mélanome, la progression métastatique de la maladie et la prolifération vasculaire associée au développement tumoral. Elles sont détectables dès la phase de croissance horizontale de ce cancer. Le transfert *in vitro* du gène *BRAF* muté conduit à des modifications du phénotype des mélanocytes, avec augmentation de leur prolifération et formation de tumeurs [20].

Associées à un mélanome, les mutations du gène *BRAF* sont plus fréquentes chez les sujets jeunes, lorsque le mélanome survient sur des zones d'exposition au soleil intense et intermittente (dos, jambes) et surtout dans 50 à 60% des mélanomes (MM) à extension superficielle (SSM). En revanche, ces mutations sont rares sur les zones exposées de manière chronique aux radiations solaires (visage, extrémités des membres), et aussi rares dans les MM acro-lentigineux (ALM), muqueux et de Dubreuilh, absentes au cours des mélanomes oculaire et desmoplastique. *In vitro*, la suppression des produits d'expression du gène *BRAF* limite la prolifération cellulaire.

II. Anomalie du gène CKIT

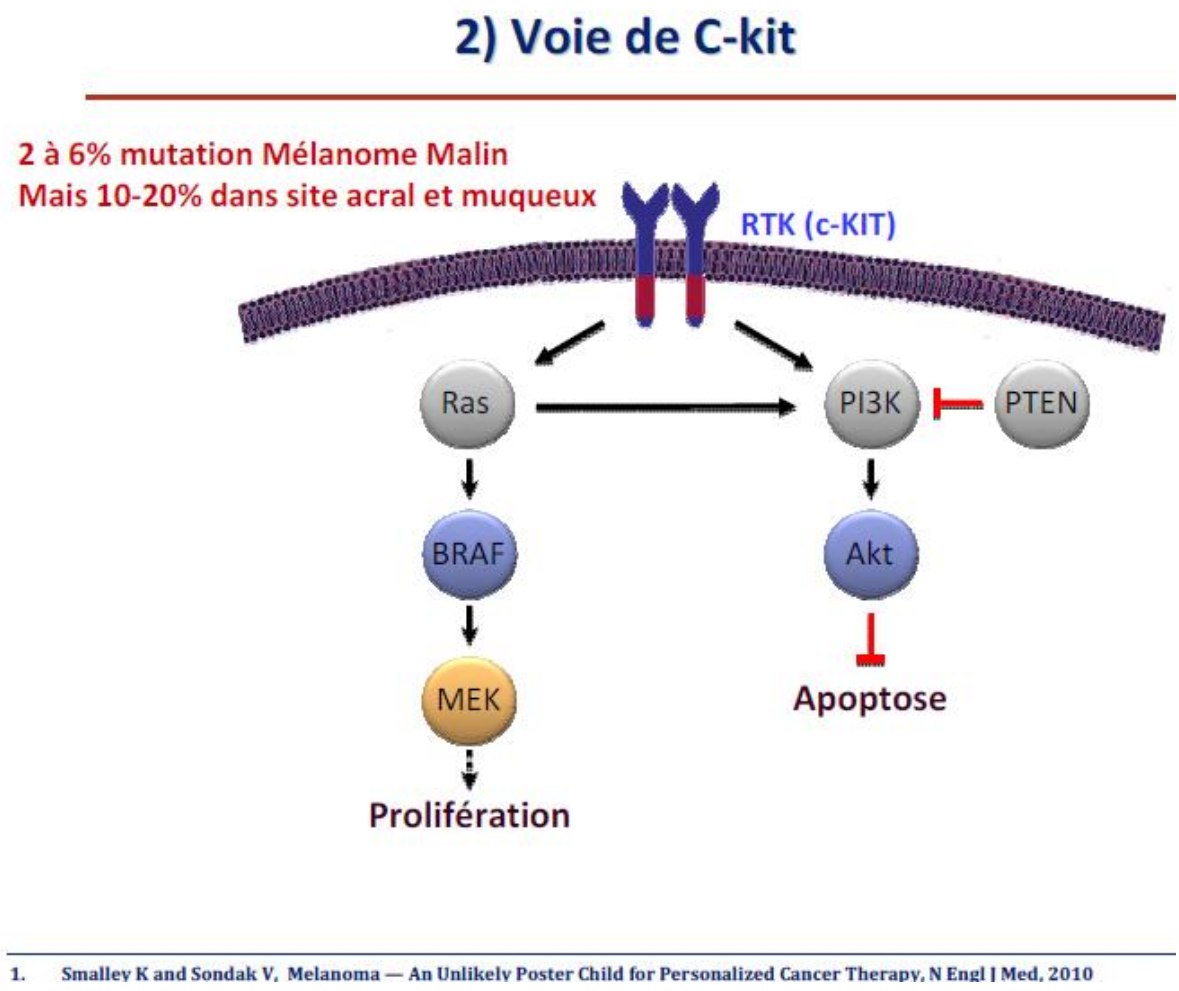


Figure 26 : La voie du Ckit [7].

1. Définition [22, 23, 24]:

Le gène KIT code pour un récepteur transmembranaire tyrosine Kinase de type III. Il comporte cinq domaines distincts comprennent un domaine extracellulaire glycosylé de liaison au ligand contenant 5 répétition de type immunoglobuline (codée par les exons 1Y9), un domaine transmembranaire hydrophobe (codée par l'exon 10), et une partie intracellulaire constitué d'un domaine juxtamembranaire (codé par l'exon 11) et 2 domaines intracellulaires tyrosine kinase (codées par les exons 12Y21).

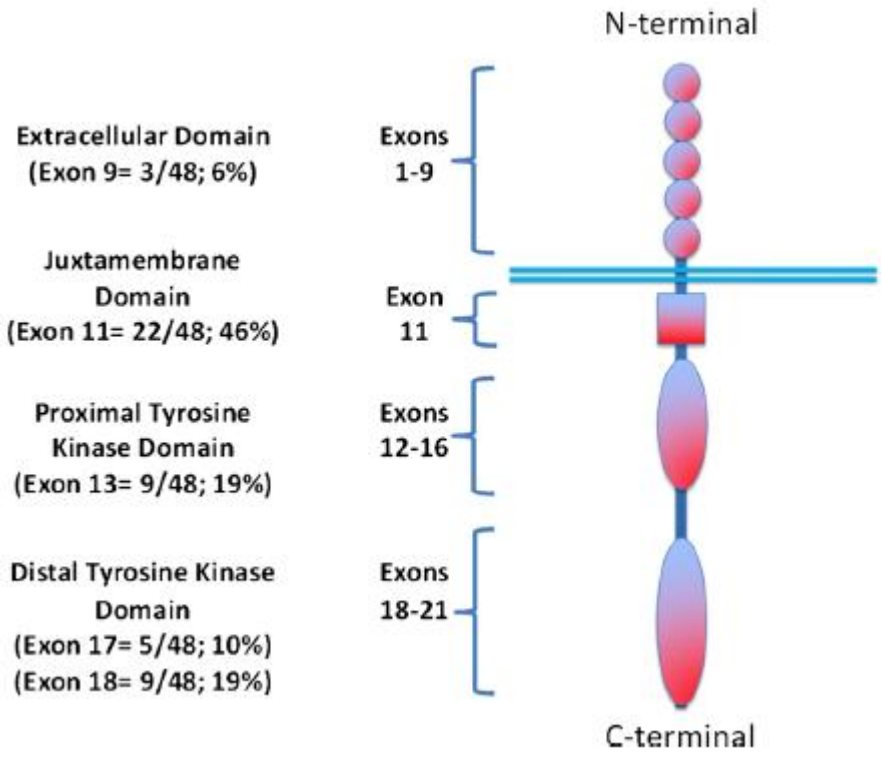


Figure 27 : Diagramme de protéine CKit [24]:

2. FONCTION DU Ckit

Le domaine juxta membranaire joue un rôle auto-inhibiteur, en empêchant l'activation KIT en absence de ligand. La liaison de Ligand de Ckit au domaine extracellulaire entraine la dimérisation du récepteur de Ckit, ce qui entraîne l'autophosphorylation des domaines intracellulaires de la tyrosine kinase. Une fois activé, le domaine de la tyrosine kinase entraine l'activation de différentes voies de signalisation : la voie MAPK / MEK, le phosphatidylinositol 3-OH kinase / AKT, JAK / transducteurs de signal et activateurs de voie de la transcription.

L'activation du gène Kit est importante dans le développement d'un grand nombre de cellules incluant des cellules progénitrices hématopoïétiques, les cellules germinales primordiales, les mastocytes, des mélanoblastes et les cellules interstitielles de Cajal. [24]

Ckit est exprimé par les mélanocytes normaux qui dérivent des mélanoblastes (cellules précurseurs) et migrent à partir de la crête neurale à l'épiderme et aux

follicules pilleux [26]. Cette migration est favorisée par le complexe Ckit-SCF[27, 28, 29]. Une mutation inactivatrice de ces derniers est accompagnée par l'apparition de lésions dépigmentées[30]. Ces constations soulignant le rôle critique du Ckit dans le développement des mélanocytes ainsi dans la survie et la prolifération des mélanocytes pigmentés matures.

Le ligand du gène Ckit est une glycoprotéine, SCF Stem Cell Factor, qui une fois lié au Ckit, ce dernier est activé. Le gène Kit est situé sur le chromosome 4 [28] et le gène SCF est sur le chromosome 12 [29]. Le gène Kit est impliqué dans l'initiation et la progression de différents types de cancers. Dans ces cancers, le complexe Ckit-SCF joue un rôle important dans la prolifération cellulaire, la motilité et l'invasion tumorale. Ckit a été largement étudié dans les tumeurs stromales gastro-intestinales GIST, notamment en rapport avec le traitement Imatinib qui a une activité anti-tyrosine kinase inhibitrice du récepteur Ckit. Ce traitement a révolutionné la prise en charge des GIST. [31]L'expression du Ckit a été rapportée également dans 84% des séminomes, 64% des carcinomes adénoïdes kystiques et 17% des carcinomes à grandes cellules du poumon. [32]

3. IDENTIFICATION DU KIT EN TANT Qu'un ONCOGENE dans le mélanome [33-40]

Le gène KIT joue un rôle primordial dans le développement des mélanocytes dans les conditions normales. Cependant, au début, il a été considéré comme un gène suppresseur de la tumeur dans le mélanome.

Une étude menée par Huang et coll.19 a montré que le mélanome hautement métastatique avec une lignée cellulaire A375SM a présenté une diminution de la capacité à former des métastases et une augmentation du pouvoir apoptotique après la transfection avec le gène KIT. En outre, les études immunohistochimiques

(IHC) ont montré que la perte de production du gène KIT a été corrélée avec la transformation, l'invasion et les métastases.

Compte tenu des suggestions de la fonction KIT comme un oncogène ciblé dans les GIST, des hypothèses initiales de KIT comme un suppresseur de tumeur dans le mélanome ont été réévalués et puis rejetés par la suite. L'hypothèse de KIT comme un oncogène dans mélanome avait suggéré dès 1998, lorsque Bastian et coll.28 ont déclaré une amplification sur le chromosome 4q12 dans le mélanome acral, qui comprend le locus KIT. Curtin et coll.9 a poursuivi ses efforts pour confirmer cette hypothèse, en cherchant la mutation du Kit dans 126 cas de mélanome.

Les résultats ont montré que la plupart des mutations détectées, affectent l'exon 11 qui permet le codage du domaine juxtamembranaire qui joue un rôle primordial dans l'inhibition de l'activation du récepteur du Kit en absence du ligand et par conséquence ces mutations vont entrainer l'activation permanente du récepteur et donc du Ckit et par conséquence une croissance et une prolifération incontrôlée des mélanocytes et donc de l'invasion tumorale et du pouvoir métastatique.

4. Mutation du gène Ckit dans le mélanome

Durant longtemps, le rôle complexe Ckit-SCF a été méconnu dans l'initiation et la progression des mélanomes. Par la suite, des travaux ont prouvé que la perte d'expression du Ckit était retrouvée dans les mélanomes localisés ainsi que les mélanomes métastatiques. [47]. 70% de la lignée mélanocytaire perd l'expression du Ckit.

L'activation de cette voie passe par la stimulation de la voie MAPK (voir schéma), cette dernière est activée grâce à la liaison des facteurs de croissance à leurs récepteurs en transmettant leurs signaux grâce à la voie GTPase Ras. [48]. Une foie la voie GTP est activée, elle active à son tour la voie Ras qui agit sur de nombreux effecteurs, dont les gènes RAF de la famille des sérines thréonines kinases. (Schéma) [49].

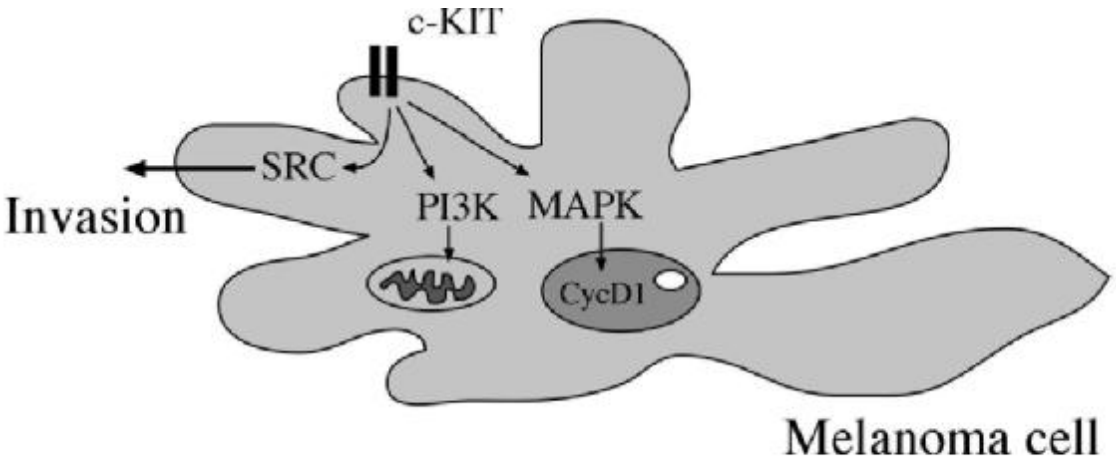


Schéma simplifiant le rôle du cKit dans la progression du mélanome.
Le cKit stimule la voie SRC qui induit l'invasion. La stimulation de P13K et MAPK est à l'origine d'une hyperexpression de la Cycline D1 (33).

Figure 28 : Rôle du Ckit [49].

L'importance de la mutation de C-KIT [40-46] est connue depuis de nombreuses années dans les tumeurs stromales gastro-intestinales. Cette anomalie avait initialement été recherchée dans les mélanomes, sans succès, certainement du fait de sa présence dans un sous-groupe particulier : les mélanomes acrolentigineux, des muqueuses et dans les mélanomes développés avec une exposition solaire chronique. Ce groupe représente une très faible proportion des mélanomes dans les populations blanches. En revanche, il constitue le principal type de mélanome des populations asiatiques. La fréquence globale de la mutation oscille entre 15 à 30 % dans ce type de mélanome selon les études. Elle pourrait faire l'objet d'importantes variations géographiques.

Dans une étude présentée dans les journées de la dermatologie de Paris 2010 [50] a montré que sur les 100 tumeurs étudiées, les mutations KIT ont été détectées dans 2,7% (1/37) des ALM, 20% (2/10) des MM vaginaux, 0% des MM de la sphère ORL (0/23) et 0% des MM anaux (0/6). Ceci fait au total 5% (2/39) des MM muqueux, contre 0% des MM de Dubreuilh (0/5) et 0% des MM sans primitif retrouvé

(0/19). Ces résultats montrent des incidences de mutations de KIT inférieures à celles de la littérature (9 à 23% des cas des ALM, et 15 à 27% des MM muqueux).

Dans notre étude, l'immunomarquage par le CKit fait chez 23 cas, a été positif chez 7 patients (30%) dont 5 présentant un mélanome acro-lentigineux et deux cas de mélanome muqueux (naso-sinusien et oculaire).

Cette expression immunohistochimique du Ckit peut être corréler à la présence d'une mutation sous jacente du gène Kit, ce qui incite à rechercher systématiquement une mutation du kit en cas d'expression immunohistochimique positive. Ceci permet d'améliorer la prise en charge thérapeutique des mélanomes et d'ouvrir une nouvelle perspective de traitement par l'inhibiteur de l'action tyrosine kinase du Ckit. [51].

III. Intérêt de l'étude moléculaire du gène BRAF et CKit dans le mélanome. [52, 53, 54].

Pendant de nombreuses années, le traitement du mélanome au stade métastatique était extrêmement décevant tant en fréquence de réponse qu'en efficacité, mais ces dernières années, une meilleure compréhension de différentes voies de signalisation dans le mélanome a permis de mettre en évidence plusieurs altérations génétiques à l'origine et au maintien de la cellule cancéreuse. La voie la plus importante dans le mélanome, activée dans 75% des cas, est la voie des MAP-kinases, faisant intervenir en cascade plusieurs protéines kinases comme les protéines RAF, MEK et ERK en aval des récepteurs de facteurs de croissance et des protéines Ras. Cette activation peut être consécutive à différentes mutations sur l'oncogène BRAF (50 à 60% des cas).

Dans certains mélanomes acro-lentigineux et muqueux, on observe aussi dans 10 à 15% des cas une mutation activatrice du gène codant pour le récepteur KIT.

La présence de mutations dans les gènes B-RAF et de C-KIT dans ces différents sous-types de mélanome est devenue d'importance majeure depuis la découverte de possibilités thérapeutiques ciblant spécifiquement ces mutations et permettant d'établir des inhibiteurs de BRAF et de CKit Cette recherche de facteurs prédictifs de réponse aux traitements est devenue systématique dans les formes métastatiques. De plus, la plupart des équipes françaises s'accordent sur la nécessité de rechercher ces mutations dans les mélanomes primitifs à fort potentiel métastatique : B-RAF pour les mélanomes classés T3b ou plus (pour lesquels le risque métastatique est de 50 %) et C-KIT dans les mélanomes primitifs acrolentigineux et muqueux. Le travail du groupe multidisciplinaire INCA sur le mélanome aboutira à préciser ces indications et à homogénéiser les techniques moléculaires utilisées

IV. Les autres gènes impliqués dans le mélanome

1. L'EGFR [55-60]

L'EGFR fait également partie de la famille des récepteurs tyrosine kinase. Le gène de l'EGFR est localisé sur le chromosome 7p12, et code une glycoprotéine transmembranaire. Il est exprimé de façon normale dans certains tissus notamment les cellules épithéliales et glandulaires. En effet, l'EGFR joue un rôle clef dans la stimulation et la prolifération tumorale, l'angiogénèse, l'invasion tumorale, la survenue de métastases et l'inhibition de l'apoptose.L' EGFR est fréquemment hyperexprimé et son muté ou amplifié dans de nombreuses tumeurs notamment les cancers mammaires, les cancers gastro-intestinaux, les gliomes, les carcinomes épidermoïde pulmonaires et les cancers de la vésicule biliaire.

L'expression du gène EGFR est aussi présentée dans différents stades de développement des mélanomes. Ainsi Koprowski et collaborateurs ont été les

premiers à rapporter que l'EGFR est hyperexprimé dans des stades tardifs de mélanomes. Aussi Elder et collaborateurs ont objectivé que son expression est accrue dans les mélanomes primitifs à partir de la phase horizontale jusqu'à la phase verticale de la prolifération tumorale mélanique. D'autres études n'ont pas retrouvé les mêmes résultats. Bien que l'EGFR ait été le premier marqueur de métastase utilisé dans les mélanomes, son rôle reste toujours controversé.

2. Le gène NRAS [61]

Il est impliqué dans la voie de signalisation des MAP Kinase. La mutation du gène NRAS est retrouvée dans 56% des naevus congénitaux, 33% des mélanomes cutanés primitifs et 26% des mélanomes métastatiques. Certaines études ont suggéré que la mutation du gène NRAS est corrélée à la survenue de métastases et la progression du mélanome. D'autres études ont démontré le rôle du NRAS dans les mélanomes nodulaires et les mélanomes cutanés avec exposition solaire.

3. CDKN2A (ou p16) et CDK4 [62-63]

Ce sont les deux principaux gènes de susceptibilité au mélanome.

Le gène *CDKN2A* qui est localisé sur le bras court du chromosome 9 (9p21) code par un mécanisme d'épissage alternatif deux protéines impliquées dans la régulation du cycle cellulaire. L'une de ces protéines appelée p16 agit comme suppresseur de tumeur en régulant négativement la division cellulaire via l'inhibition de l'activité du complexe CDK4 ou CDK6, tandis que l'autre appelée p14 induit l'arrêt du cycle cellulaire via les voies métaboliques des gènes *RB* et *p53*.

Le gène *CDK4* localisé sur le chromosome 12 en 12q13, code une protéine cycline dépendante appelée CDK4. La mutation de ce gène abolit le domaine de liaison à la protéine p16, entraînant une perte du signal de régulation négative du cycle cellulaire exercé par cette dernière.

La fréquence des mutations de *CDKN2A* augmente avec le nombre de cas de mélanome dans la famille, un âge inférieur à 50 ans au diagnostic, et la présence de mélanomes multiples. L'expression des mutations de *CDKN2A* est modulée par le phénotype nævique (nombre et type) et l'exposition solaire.

4. Le gène MC1R [64]

Localisé sur le chromosome 16 en 16q24 code le récepteur de la mélanocortine (MSH). Certains variantes seraient associés au phénotype « cheveux roux/peau blanche/difficulté à bronzer » [24]. Des études récentes ont retrouvé une réduction significative de l'âge de survenue du mélanome chez les patients atteints de mélanomes multiples et porteurs de mutations de *CDKN2A* lorsque de multiples variantes alléliques de *MC1R* étaient également retrouvées, ce qui laisse à penser que *MC1R* pourrait agir comme modificateur de l'effet de CDKN2A.

5. Le gène ECR2 [64]

Appartenant au système nucléotide excision repair (NER) dont le rôle est de réparer les lésions induites par les UVB et C. Plusieurs variantes de type faux sens ont été identifiées chez les patients atteints de mélanome [27].

6. Gène de la β-caténine. [65-66]

La β-caténine joue un rôle dans l'adhésion intercellulaire médiée par la cadhérine E. Des mutations activatrices de la β-caténine, engendrant une augmentation de ses effets transactivateurs, ont été détectées dans des lignées de mélanome.

Quand on progresse dans la compréhension des mécanismes de l'oncogenèse du mélanome, on savait qu'une mutation activatrice de BRAF n'était pas suffisante pour induire une transformation cancéreuse, et qu'elle semble plutôt, quand elle est isolée, être un facteur de sénescence des mélanocytes, comme dans les naevus par exemple. Il faut, pour transformer un mélanocyte, un événement supplémentaire,

comme par exemple, une inactivation du gène suppresseur de tumeur p16 (Ink4a). Une équipe française a démontré, *in vitro* et dans un modèle de mélanome murin, que l'activation de la voie Wnt/β-caténine peut être ce deuxième événement nécessaire à la transformation cancéreuse, via une inactivation de p16

Parmi les gènes régulés par la signalisation Wnt/β -caténine, on compte aussi le récepteur CTLA-4[4], que l'on connaissait pour son expression sur les lymphocytes et son rôle de frein physiologique de la réponse immunologique. Cette découverte est importante non seulement pour la biologie intrinsèque du mélanome, mais aussi parce qu'elle apporte des éléments nouveaux pour comprendre les mécanismes de l'immunosuppression induite par les mélanomes ainsi que les effets des anticorps anti-CTLA-4 chez les patients atteints de mélanome métastatique.

Effectivement, on peut faire l'hypothèse que certains effets thérapeutiques observés chez les patients traités par ces anticorps pourraient être liés, au moins en partie, à un effet direct de l'anticorps sur les cellules cancéreuses et non pas uniquement à un effet immunologique, comme on le supposait jusqu'alors.

7. Gène TP53. [67]

Le gène suppresseur de tumeur *TP53*, situé sur le bras court du chromosome 17 est un facteur de transcription intervenant à l'état normal dans le contrôle négatif du cycle cellulaire, la réparation et la division cellulaires, le contrôle de la stabilité génétique et l'apoptose.

Le rôle de p53 dans le mélanome n'est que partiellement compris.

Lorsque le mélanome survient sur un nævus, seules les cellules malignes expriment la protéine p53 [26]. Lors de l'analyse de la tumeur primitive, des pertes d'hétérozygotie (LOH) de *TP53* ont été retrouvées dans environ 20 % des cas.

8. Gène APAF-1[68]

Récemment, des mutations du gène APAF-1 dans des mélanomes métastatiques ont été démontrées et leur chimiosensibilité serait restaurée après réintroduction du gène APAF-1 dans les cellules.

9. Gène PTEN [69]

Le gène suppresseur de tumeur *PTEN* (*phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome TEN*) est localisé sur le bras long du chromosome 10, en 10q23.

Les mutations du gène *PTEN* sont fréquemment retrouvées dans les lignées cellulaires *in vitro* de mélanome.

10. Gène NF1.

Sa place dans la physiopathogénie du mélanome n'est pas claire.

En effet une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires dans le mélanome a permis de mettre en évidence plusieurs altérations génétiques à l'origine du mélanome et par conséquence le développement de nouvelles thérapeutiques ciblées. Cependant, Cette diversité biologique explique probablement en partie les échecs ou les résultats médiocres de la plupart des essais de phase II et de phase III car on ne sait pas encore comment sélectionner efficacement les patients qui pourraient bénéficier d'une thérapie ou d'une autre.

CHAPITRE V : EPIDEMIOLOGIE.

A - Données statistiques :

1-Fréquence.

L'incidence du mélanome a augmenté partout dans le monde ces dernières trente années.

En Europe, l'incidence du mélanome de la peau est hétérogène selon les pays et diminue selon un gradient Nord-sud.

Le taux d'incidence estimé en 2008 varie de 21,9 mélanomes pour 100 000 femmes au Danemark à 2,0 en Grèce et de 16,1 mélanomes pour 100 000 hommes en Suède à 2,5 en Grèce. Parmi les 27 pays européens, la France est classée pour cette même année au 20 ème rang pour l'homme et au 15ème rang pour la femme.

Les mélanomes cutanés représentent la 14 ème et 12 ème cause de décès chez la femme et chez l'homme avec, respectivement, 720 et 900 décès estimés pour l'année 2011. [70]

Aux Etats-Unis d'Amérique, le mélanome présente 4% de toutes les tumeurs malignes diagnostiquées en 2004, avec un nombre de cas de 55100 [28].Par contre, les zones les moins touchées sont principalement l'Asie et

L'Afrique. [71]

En Afrique, malgré un ensoleillement intense, ces pays enregistrent des taux d'incidence faibles ; ceci est fort probablement dû au phototype foncé de leurs populations [72].

En ce qui concerne les mélanomes muqueux, ils représentent 0,03% de la totalité des cancers au monde et 5% de l'ensemble des mélanomes.

L'exposition solaire n'a aucun rôle pathogénique dans ce type de lésion.

Le Maroc qui partage les mêmes facteurs de risque et habitudes que les autres pays de Maghreb, connait un taux d'incidence bas. En fait, les statistiques officielles sont

rares. Néanmoins, on rapporte que 287 cas de mélanome ont été répertoriés entre l'année 1973 et 1994 aux centres hospitaliers universitaires (CHU) de Casablanca et de Rabat, donnant un taux d'incidence de 0 ,048 cas/100.000 habitants/an. Selon une étude publiée en 2007, faite au CHU Ibn Rochd de casablanca, le mélanome cutané représente 3,5 % des cancers cutanés diagnostiqués sur une période s'étalant entre 1984 et 2007 [73-74].

A Fès, cette fréquence est estimée à 4,3% de l'ensemble des cancers cutanés selon le registre des cancers cutanés du service d'anatomopathologie du CHU Hassan II.

Le mélanome occupe le troisième rang, après les carcinomes primitifs et les sarcomes. [75].

Dans notre série, il représente avec les 23 cas colligés durant notre période d'étude (2009 et 2010), 3,89% de l'ensemble des cancers cutanés.

Pour le mélanome muqueux, on a enregistré 3 cas (nasosinusien, rectal et oculaire) au cours de la période d'étude.

Ces résultats rejoignent les données de la littérature malgré le caractère étroit de nos échantillons (23 cas seulement).

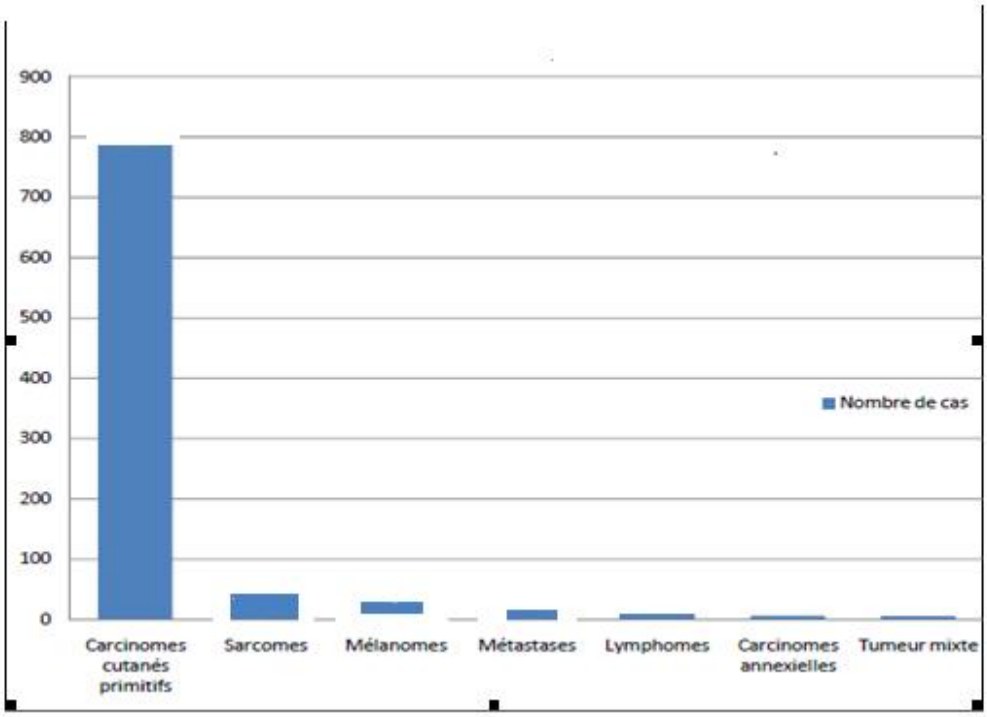


Figure 29 : REPARTITION DES CANCERS DE LA PEAU SELON LE TYPE HISTOLOGIQUE [75].

2- Sex-ratio :

Le mélanome malin semble plus fréquent chez la femme, mais cette différence n'est pas retrouvée dans toutes les statistiques. Ainsi, dans les pays occidentaux, le taux d'incidence est de 9,5/100 000 habitants/an chez la femme et 7,6 chez l'homme, ce qui représente un sex-ratio homme/femme de 0,8 [76].

De même, dans notre série, parmi les 23 cas explorés, il y avait 8 hommes et 15 femmes, le sexe ratio H/F était donc 0.53H/1F.

3 -Répartition selon l'âge :

L'âge moyen d'apparition du mélanome est de 58 ans chez l'homme et 56 ans chez la femme [6].Au Maroc, L'âge moyen, tout sexe confondu est de 50 ans. [76].

L'âge moyen de nos patients est de 54.56 ans, il rejoint les données de littérature.

4 – Topographie:

Le mélanome prédomine au niveau du thorax chez l'homme et au niveau des membres inférieurs chez la femme [40].

Le mélanome ne se limite pas à la peau, il peut survenir au niveau des muqueuses (notamment buccale, ano-rectale et vulvo-vaginale), de certaines structures oculaires (uvée, choroïde, rétine), ainsi qu'au niveau de l'oreille interne et des leptoméninges. [77]

Dans notre série :

Tableau 21 : Différentes localisations de mélanome

Localisation du mélanome	Visage	Tronc et dos	Membres		muqueux	occipitale	pleurale
			Non acral	acral			
Nombre de cas	3	3	2	10	3	1	1
Pourcentage	13%	13%	8.6%	43.47%	13%	4.3%	4.3%

On constate que la localisation acrale est la plus fréquente dans notre série (43% de l'ensemble des localisations) dont 34% au niveau du pied (30% plante du pied). Cette prédominance plantaire s'explique par le fait que cette zone constitue une partie non photo-protégée par la pigmentation naturelle et souvent victime de microtraumatismes répétés qui seraient impliqués dans la genèse du mélanome.

La localisation plantaire est également prédominante dans les autres pays du Maghreb (50% en Algérie et 70% en Tunisie) et surtout africaines (62% en Côte d'Ivoire à 100% en Mali). Ces pays partagent certaines habitudes comportementales telles que la marche pied nu qui expose éventuellement aux microtraumatismes.

B- Facteurs de risque :

1. Prédisposition génétique :

. Syndrome de nævi communs et/ou atypiques. [78]

Le syndrome du nævus atypique se définit par la présence chez un individu d'un grand nombre de nævus (> 50), de grande taille (> 6 mm de diamètre), ayant des aspects atypiques (bords irréguliers, couleur inhomogène) et siégeant en peau non exposée au soleil, sans qu'aucune définition formelle ne puisse en être donnée.

L'existence de nævus cliniquement atypiques est corrélée à une augmentation du risque de mélanome. Ce risque est d'autant plus élevé qu'il est associé à un contexte familial de nævus atypique ou à des antécédents personnels ou familiaux de mélanome.

Dans notre série, un seul patient (mélanome de type SSM) présente la notion de syndrome de naevus atypique.

- Nævus congénital géant.

L'existence d'un nævus congénital géant (nævus > 20 cm de diamètre présent à la naissance, prédispose au risque de développer un mélanome (RR ajusté à la population d'origine caucasienne = 2,4 ; p < 0,001) [79,80].

Dans notre série, 2 patients ont présenté un mélanome (type nodulaire) sur un naevus congénital géant au niveau lombaire et tronc.

- Antécédent familial de mélanome.

Les antécédents familiaux de mélanome sont définis par l'existence d'un mélanome chez : soit 2 membres de la parenté du premier degré, soit 3 membres de la famille quel que soit le degré de parenté. Cinq à dix pour cent des mélanomes surviennent dans un contexte familial. Le risque relatif de développer un mélanome chez un sujet ayant des antécédents familiaux de mélanome est de 1,7 [81,82].

Dans notre étude, aucun cas de mélanome familial n'été rapporté.

- Le Xeroderma pigmentosum.

C'est une maladie génétique rare qui touche les gènes de réparation de l'ADN (MLH, MSH) cellulaire qui s'accompagne d'une augmentation de la sensibilité aux ultraviolets et donc d'une augmentation de risque d'avoir un cancer cutané [83].

Dans notre étude un seul patient (mélanome nodulaire) avait 2 sœurs qui présentant une xéroderma pigmentosum.

- Phototype et caractéristiques physiques des sujets.

Les individus de phototypes les plus clairs I et II (peau claire ne bronzant pas, cheveux blonds ou roux, éphélides) sont plus exposés au risque de mélanome que les individus de phototype IV et V. En méta-analyse, le risque relatif de développer un mélanome est en effet respectivement estimé à 2,09 (IC 1,67-2,58) ; 1,84 (IC 1,43-2,36) et 1,77 (IC 1,23-2,56) pour les individus de phototype I, II et III en comparaison aux individus de phototype IV. [81].

Dans notre étude, 17 patients avaient un phototype du groupe IV, 4 avaient un phototype groupe III, et 2 avaient un phototype II. Ces divergences de résultats avec la littérature peuvent être expliquées par le degré important d'ensoleillement dans notre population ce qui explique la survenue élevée de mélanome même chez les phototypes foncés et aussi par la prédominance des mélanomes acrolentigineux (35%).

Tableau 22: Corrélation entre le type histologique, localisation et phototype

Type histologiue	localisation	phototype
M type SSM	épaule	III
M nodulaire	occipitale	III
M nodulaire	plante du pied	IV
M acrolentigienux	plante du pied	IV
M nodulaire	tronc	IV
M acrolentigienux	pouce	IV
M sur mélanose de Dubreuil	poumon+joue	II
M nodulaire	talon	IV
M acrolentigienux	plante du pied	IV
métastase gg d'un mélanome	inguinale	IV
métastase cutanée d'un mélanome	bas du dos	IV
M acrolentigienux	talon	IV
M muqueux	naso-molaire	IV
M acrolentigineux	pouce	IV
M nodulaire	oreille	IV
M acrolentigineux	plante du pied	IV
M acrolentigineux	avant pied	IV
M acrolentigineux	plante du pied dt	IV
M nodulaire	lombaire	III
méta d'un mélanome	pleural	IV
M sur mélanose de Dubreuil	joue	III
M muqueux ulcéré infiltrant nf optiq	œil droite	II
M muqueux ulcéré	rectum	IV

2. Antécédent personnel de mélanome.

Les sujets ayant eu un mélanome ont un risque plus élevé (RR compris entre 1,2 et 8,5) de développer un autre mélanome. 60% des seconds mélanomes se développent dans les 12 mois qui suivent et ont une épaisseur inférieure au mélanome initial [81].

Dans les antécédents de nos patients, on note la notion d'antécédents de mélanome. On note aussi la notion d'antécédent de mélanome :

- non documenté avec l'apparition d'un second mélanome après une période de 2 ans, au niveau du même site chez 2 patients (notion de lésion noirâtre du pouce (avec régularisation de la deuxième phalange) et de l'oreille (avec exérèse).
- documenté (preuve anapath) chez un patient qui a présenté un an après avoir bénéficie d'une parotidectomie pour un mélanome, la notion du mélanome cutané au niveau du bas du dos.

3. L'exposition aux ultraviolets. [84-85]

Il a été démontré par de nombreuses études épidémiologiques que l'exposition solaire représente le facteur de risque majeur de survenue d'un mélanome, même si elle ne peut expliquer la survenue de certains d'entre eux (mélanomes palmoplantaires ou muqueux notamment). De nombreuses questions restent en suspens concernant le rôle du type d'exposition (intermittente ou chronique) et des coups de soleil en tant que facteur de risque indépendant. Afin de tenter d'y répondre, une méta-analyse des données de la littérature a récemment été effectuée. Comme on pouvait s'y attendre, l'exposition solaire dans sa globalité apparaît comme un facteur de risque de mélanome (RR 1,34 [IC 1,02-1,77]). L'exposition solaire intermittente et des antécédents de coups de soleil confèrent

respectivement un risque de 1,61 (IC 1,31-1,99) et 2,03 (IC 1,73-2,37) alors que l'exposition solaire chronique apparaît plutôt protectrice (RR 0,95 [IC 0,87-1,04]).

En outre, le risque lié à l'utilisation des sources artificielles d'UV et notamment des cabines de bronzage reste controversé.

La notion d'exposition solaire d'intensité moyenne a été retrouvée chez 10 patients présentant un mélanome acral (8 patients), du tronc et de la joue alors que la notion d'exposition solaire intense a été retrouvée chez 3 patients qui présentent un mélanome de la joue, naso-sinusien et oculaire, ce qui appuis le rôle important et incriminé de l'exposition solaire dans la survenue du mélanome.

4. Etat immunitaire [86].

Les états d'immunodépression favorisent la survenue du mélanome. Un taux accru de mélanomes a été mis en évidence chez les patients immunodéprimés (traitements immunosuppresseurs cytotoxiques, VIH, hémopathies). Ces malades doivent donc être régulièrement surveillés.

5. Antécédent de traumatisme. [87, 88]

Certains auteurs affirment que la survenue du mélanome acral est due dans 25 à 55 % des cas à un traumatisme en s'appuyant sur le fait que ces mélanomes surviennent dans des zones supportant du poids et sur leur prépondérance au niveau des ongles du pouce et du gros orteil qui sont plus exposés aux traumatismes.

Cependant, d'autres auteurs considèrent que cette association est due au fait que le traumatisme attire l'attention sur une lésion cutanée pigmentée, et non à une relation cause-effet.

Dans les antécédents de nos patients, on note la notion de traumatisme du pied chez 2 patients qui présentent un mélanome acral de la plante du pied.

La notion de microtraumatismes répétés était retrouvée chez 3 patients qui présentent un mélanome acral du pied (talon et plante).

Nous nous demandons ici s'il s'agit d'un épiphénomène qui attire juste l'attention ou d'un événement qui illustre une fragilité accrue du tégument, ou bien s'agit-il d'un vrai facteur favorisant qui explique la prédominance du mélanome acral dans notre pays.

. Autres facteurs. [89]

Autres facteurs de risque ont été incriminés comme des affections virales ou l'exposition à certains facteurs chimiques ; en effet, Green et al., ont trouvé une forte association entre l'exposition aux produits agricoles chimiques et la survenue de mélanome . D'autres études sont nécessaires pour appuyer ou réfuter cette association.

Parmi les facteurs de risque qui sont aussi discutables, on peut retenir la L-dopa.

En général, plus les facteurs de risque s'accumulent chez un même sujet, plus le risque de développer un mélanome est devenu élevé.

CHAPITRE VI : ASPECTS CLINIQUES ET DERMATOSCOPIQUES.

A-Aspects cliniques :

L'analyse sémiologique d'une lésion cutanée pigmentée suit la règle ABCDE décrite par Friedman et al. en 1985 et modifiée par Thomas et al. en 1998.

L'acronyme ABCDE signifie : A = asymétrie ; B = bord ; C = couleur ; D=diamètre; E = évolutivité.

Une lésion susceptible d'être un mélanome est :

- Ø Une lésion asymétrique (critère A) ;
- Ø Avec des bords irréguliers, encochés, polycycliques, nettement délimités par rapport à la peau environnante (critère B) ;
- Ø De couleur inhomogène, toutes les nuances chromatiques de la mélanine, du brun clair au noir foncé, pouvant être observées (critère C). Des zones blanches où le pigment a disparu, des zones rouges inflammatoires ou des zones cicatricielles qui apparaissent bleutées peuvent également être observées ;
- Ø De diamètre > 6 mm (critère D) ;
- Ø Evolutive dans sa taille, sa couleur ou son épaisseur (critère E).

L'association de plusieurs critères de la règle ABCDE augmente la spécificité du diagnostic et diminue la sensibilité. Le nombre de critères validés est significativement plus élevé entre une lésion mélanocytaire bénigne et un mélanome (1,2 versus 3,5 ; $p < 0,001$). [76, 90]

Une règle, dérivée de la règle ABCDE, dite « règle des 7 points du groupe de Glasgow » a été publiée en 1989 par Mackie. Cette règle prend en compte 3 critères majeurs et 4 critères mineurs et donne une place prépondérante au concept d'évolution.

- v Les critères majeurs sont les suivants :

1) changement de taille dans une lésion connue ou croissance d'une nouvelle lésion;

2) changement dans la forme de la lésion ;

3) changement dans la couleur de la lésion.

- Les critères mineurs sont les suivants :

1) un plus grand diamètre > 7 mm;

2) inflammation ;

3) présence d'une ulcération ou d'un saignement ;

4) changement dans la sensibilité de la lésion.

Une lésion est suspecte lorsqu'elle présente un critère majeur ou 3 critères mineurs. [91,92]

La liste révisée des 7 points du groupe de Glasgow est plus sensible et plus spécifique que la règle ABCDE. Elle est préconisée pour les médecins généralistes par les recommandations anglaises. Cependant, les recommandations françaises et écossaises recommandent indifféremment le recours aux critères abécédaires cliniques ou à la liste des 7 points du groupe de Glasgow. [90]

Ces tests diagnostiques seraient plus efficaces si on prend en considération deux notions importantes, qui sont :

- L'analyse différentielle de la lésion mélanocytaire par rapport aux autres naevi du patient. Ainsi, une lésion qui ne partage pas les aspects morphologiques des autres lésions serait-elle fort probablement une lésion maligne, réalisant le signe du « vilain petit canard », tel est le cas pour les naevi atypiques. [90]

- La notion d'évolutivité rapide et récente d'une lésion comme le naevus.

D'autres signes plus inconstants tels que le prurit, la douleur, la sensation de brûlure, l'ulcération et le saignement doivent attirer l'attention. [90]

Cette analyse clinique amène à distinguer plusieurs formes cliniques [92] :

1-Mélanome à Extension Superficielle (SSM) :

C'est la plus fréquente des variétés du mélanome (70% des cas). Il survient chez les sujets âgés de 40 à 45 ans, préférentiellement au niveau du membre inférieur pour la femme et du dos pour l'homme.

Cette lésion évolue en deux temps : une 1ère phase de croissance horizontale et lente, et une 2ème phase verticale ou d'envahissement :

- Pendant sa phase de croissance horizontale le mélanome a l'aspect d'une tache noire à contours irréguliers polycycliques, de couleur inhomogène ou polychrome (noir, marron, rouge, achromique), sans relief à la palpation.
- Pendant sa phase de croissance verticale, le mélanome devient accessible à la palpation.

2-Mélanome Nodulaire :

Il représente 15 à 20 % des mélanomes. Il atteint le sujet âgé de 50 à 60 ans surtout de sexe masculin avec une prédilection au niveau du cou, de la tête et du tronc. Il présente une progression d'emblée verticale et se caractérise par un nodule souvent arrondi, de couleur bleue, noire, assez homogène (photo 1) mais qui peut parfois être achromique (5% des cas). Sa croissance rapide peut donner une lésion polypoïde ou une ulcération spontanée, recouverte d'une croûte qui témoigne de son agressivité.

Figure 30: Mélanome de type nodulaire. [186]

3-Mélanome de Dubreuilh (Lentigo Malin):

Constitue 5 à 10 % des mélanomes. Il est observé au niveau des zones photoexposées du visage, décolleté, avant-bras et particulièrement les joues. Touche plus souvent la femme après l'âge de 60 ans. Le mélanome de Dubreuilh se présente sous la forme d'une tache pigmentée inhomogène allant du noir au marron foncé. La phase d'extension horizontale dure plusieurs années avant d'évoluer vers une forme invasive qui apparaît plus noire ou sous la forme d'un nodule ou d'une zone indurée ou ulcérée.

Figure 31 : Mélanome de Dubreuilh [186]

4-Mélanome acrolentigineux :

C'est une variété rare : 2 à 8 % des cas chez les blancs, mais il est beaucoup plus fréquent (35 à 60 % des cas) chez les noires, les Orientaux et les Hispaniques.

L'âge moyen de survenue est de 50 à 60 ans. L'aspect clinique est celui d'une macule pigmentée qui siège de façon privilégiée au niveau des extrémités.Les mélanomes acraux ne sont pas tous des mélanomes acro-lentigineux. Ils peuvent prendre l'aspect d'un mélanome nodulaire, d'un Lentigo malin ou encore d'un SSM.

- Mélanome acral non unguéal:

Il débute généralement par une macule brune ou noire, qui se forme en quelques années ou en quelques mois. Les bords de la lésion sont généralement déchiquetés et des nodules peuvent apparaître et former une tumeur exophytique pouvant s'ulcérer. Cette tumeur est parfois achromique ce qui augmente le délai diagnostique.

Figure 32 : Mélanome acro-lentigineux non unguéal [186].

- Mélanome unguéal [93]:

Il s'agit d'une macule brune ou noire du lit de l'ongle, qui siège préférentiellement au gros orteil ou au pouce. Il s'exprime par une bande dès lors qu'elle est située dans la matrice unguéale. Il n'existe pas d'image spécifique de mélanome, les bandes d'une largeur excédant 4 mm, les bandes multiples sur un même ongle ou les bandes pour lesquelles la pigmentation déborde sur le repli unguéal (signe de

Hutchinson), sont les plus suspectes. Dans les formes évoluées, une dystrophie unguéale, une destruction matricielle ou une tumeur ulcérée peuvent apparaître.

Figure 33 : mélanome acral de type unguéal [186]

5. Formes cliniques particulières

a. Mélanome muqueux [94]

Ils représentent 5 % de l'ensemble des mélanomes. Leur fréquence est constante dans toutes les races. Il s'agit en général de mélanomes de diagnostic tardif et de mauvais pronostic, et ce d'autant plus que la tumeur a probablement un accès plus rapide à un drainage ganglionnaire bilatéral. Le mélanome vulvaire survient plus fréquemment chez la femme âgée. Le mélanome des fosses nasales serait de meilleur pronostic que les autres [49]. Le mélanome anorectal est de très mauvais pronostic car la tumeur reste longtemps méconnue. Il est révélé par une lésion pigmentée, une tumeur ou un saignement, avec un indice de Breslow souvent élevé attestant d'un diagnostic tardif. Sa prise en charge est, comme pour le mélanome cutané, prioritairement chirurgicale. Les traitements adjuvants sont mal codifiés. Les récidives sont très fréquentes, surtout systémiques et responsables du pronostic sombre.

En général, elles se localisent sur les conjonctives, les muqueuses (buccale, ORL(en particulier du sinus et du naso-pharynx), digestive et génitale), sur la choroïde de l'oeil et sur les méninges. Les autres localisations sont exceptionnelles.

Figure 34 : mélanome muqueux buccale, vulvaire, oculaire et rectale [94]

b.Mélanome de l'enfant [95]

Il reste exceptionnel et son diagnostic est difficile ; en effet, beaucoup de faux diagnostics de mélanome correspondent en fait à des nævus évolutifs inflammatoires de type Spitz présentant des anomalies cytologiques qui évoquent à tort la malignité. Les mélanomes survenant avant l'âge de 20 ans représenteraient 1 à 4 % de tous les mélanomes [38] et les mélanomes survenant avant la puberté 0,3 à 0,4 %. Les mélanomes de l'enfant surviennent le plus souvent de novo, les mélanomes congénitaux restent exceptionnels.

Les mélanomes congénitaux sont exceptionnels. Les mélanomes de l'enfant et de l'adolescent peuvent également être observés au cours du syndrome du naevus de Clark (dysplasique), du xéroderma pigmentosum ou d'un état d'immunodépression (immunodéficience génétique, néoplasie, chimiothérapie, transplantations

d'organes, infection par le virus d'immunodéficience humaine). Le risque de mélanome est multiplié par trois à six chez ces malades.

c. Mélanome et grossesse

Aucune étude épidémiologique n'a pu établir que la grossesse favoriserait le développement du mélanome ou aggraverait le pronostic des patientes ayant un antécédent de mélanome.

d. Mélanomes achromiques [96]

Ces mélanomes qui ne sont pas pigmentés se présentent généralement sous la forme d'une lésion rose ou rouge. Leur diagnostic est difficile car ils peuvent simuler un certain nombre d'autres lésions (carcinome basocellulaire, fibrome, granulome pyogénique, botryomycome). Leur pronostic est en général sombre d'une part en raison d'un fréquent retard diagnostique, d'autre part parce que ce sont volontiers des formes nodulaires à croissance rapide.

Figure 35 : Mélanome achromique [113]

d. Halo mélanome : [97]

C'est un mélanome entouré d'un halo dépigmenté.

Diagnostic différentiel: naevus de Sutton.

Figure 36 : Naevus de Sutton [113] Figure 37 : Halo Mélanome [113]

e. Autres formes : [97]

Mélanome desmoplastique

La première description de cette forme rare a été réalisée en 1971 par Conley et al. Il survient sur les zones photoexposées chez des sujets d'âge moyen ou âgés à peau claire. La tête et le cou sont les sites de prédilection. Mais il peut également se développer sur le tronc, les extrémités ou les muqueuses. La tumeur apparaît généralement sur une peau sénile endommagée par une exposition solaire prolongée. Elle se développe également sur une radiodermite ou des cicatrices de brûlures. Cliniquement, il s'agit d'une plaque indurée ou d'un nodule souvent achromique. Le diagnostic est difficile. Le pronostic est donné, comme pour les autres formes, par l'épaisseur de la tumeur.

Mélanome primitif non trouvé

Il s'agit d'un mélanome métastatique avec des métastases cutanées, ganglionnaires ou viscérales, apparemment primitives. Le mélanome primitif peut être soit un mélanome cutané non diagnostiqué qui a été détruit sans examen anatomopathologique (cryothérapie, électrocoagulation), soit un mélanome ayant spontanément régressé ou encore un mélanome muqueux non détecté. Malgré l'interrogatoire et l'examen clinique de l'ensemble des téguments et des muqueuses (sphère oto-rhino-laryngologique [ORL], anus, rectum, muqueuse buccale), la

localisation du mélanome primitif reste souvent indéterminée. Les mélanocytes étant parfois physiologiquement présents dans les ganglions, certains mélanomes peuvent probablement naître dans ces ganglions. Leur pronostic est identique à celui des formes métastatiques de mélanome cutané identifié.

On peut rencontrer d'autres formes:

* mélanome verruqueux.

* mélanome spontanément régressif.

Dans notre série, six patients avaient un mélanome de type nodulaire dont 2 cas au niveau du pied, un cas au niveau du tronc, un cas au niveau lombaire et 2 au niveau de tête (oreille et occipital) avec un âge moyen de 45 ans, huit patients ont présenté un mélanome acro-lentigineux avec six cas au niveaux du pied et 2 cas au niveau de la pouce avec un âge moyen de 58 ans, trois patients ont présenté un mélanome muqueux (rectale, naso-sinusien et oculaire) avec un âge moyen de 48 ans, un seul cas de mélanome type SSM au niveau de l'épaule avec un âge de 65 ans et 2 cas de mélanome sur mélanose de Dubreuilh au niveau de la joue avec un âge moyen de 72 ans et 3 cas de métastase d'un mélanome (pleurale, cutanée et ganglionnaire).

Ces résultats sont compatible plus ou moins avec les données de la littérature (les mélanomes cutanées sont beaucoup plus fréquentes que les mélanomes muqueux) malgré le nombre réduit de nos échantillons (23 cas).

B-La dermatoscopie : [98]

La dermatoscopie ou épiluminescence est une méthode d'examen complémentaire non invasive utilisant un appareil permettant de supprimer les phénomènes de réfraction, diffraction et de réflexion à l'interface entre la peau et l'air par l'application d'une huile d'immersion. La dermatoscopie utilise une

sémiologie qui lui est propre reposant sur l'analyse de patrons qui décrivent l'image observée dans son ensemble. L'utilisation de la dermatoscopie permet de faciliter le diagnostic différentiel avec d'autres lésions (kératose séborrhéique, angiome, carcinome basocellulaire). Elle permet également de rassurer par rapport à la clinique et d'éviter des exérèses inutiles en utilisant la règle ABCDE.

Toutefois, l'examen dermatoscopique est hautement opérateur-dépendant, et il repose comme le simple examen clinique sur une analyse de distribution de couleur comme reflet de la malignité. Il est donc soumis aux mêmes pièges lorsque la couleur reflète mal ou pas le désordre architectural de la tumeur.

En outre, le diagnostic des tumeurs pigmentées nodulaires ou purement dermiques demeure difficile avec la dermoscopie dont le domaine de visualisation s'étend essentiellement jusqu'au derme papillaire.

Tableau 23 : Critères dermatoscopiques pour distinguer une lésion mélanocytaire d'une lésion non mélanocytaire adapté de Stolz et al., 2003 et Marghoob et al., 2004 [98].

La présence d'une ou de plusieurs caractéristiques morphologiques	… est évocatrice d'un (e)
Réseau pigmentaire, globules bruns agrégés, pseudopodes ou courants radiaires, pigmentation bleue homogène, ou architecture parallèle (lésions palmo-plantaires).	Lésion mélanocytaire
Couleur bleue diffuse ou pigmentation bleue homogène	Naevus bleu
Pseudo-kystes cornés ou pseudo-comédons ou structure cérébriforme ou aspect de dermatoglyphes	Kératose séborrhéique
Lagunes ou aires rouge-bleu ou aires homogènes.	Hémangiome ou angiokératome
Structures digitiformes ou télangiectasies arborescentes, ou structures en roue dentée ou nids ovoïdes, ou multiples globules gris-bleu, ou ulcération	Carcinome basocellulaire

Dans notre série, l'examen dermatoscopique a été réalisé chez 17 patients (tous les patients du service de dermatologie) et a montré une pigmentation diffuse hétérochrome suspecte de malignité, ce qui a aidé à évoquer le diagnostic du mélanome chez ces patients.

Figure 38 : Vue dermatoscopique d'un mélanome sur mélanose de Dubreuilh [186]

CHAPITRE VII: HISTOPATHOLOGIE DU MELANOME.

I – HISTOGENESE DU MELANOME :

L'histogenèse des mélanomes suit la théorie biphasique, qui postule que les mélanomes évoluent dans une première phase «horizontalement» en nappe, au dessus de la membrane basale (phase intraépidermique) puis dans le derme superficiel (phase microinvasive), et dans une deuxième phase «verticalement» pénétrant profondément le derme (phase invasive).

Le mélanome a donc en règle :

- Une composante intraépidermique faite de mélanocytes qui constituent une nappe (mélanomes lentigineux) ou des thèques (amas plus ou moins globulaires de mélanocytes) irrégulières le long de la basale, avec souvent un envahissement des couches superficielles de l'épiderme ;
- Une composante dermique invasive associée à une inflammation [99].

Dans notre série, 70 % des tumeurs étaient en phase d'extension verticale au moment du diagnostic, ceci est du principalement non seulement à la fréquence du type nodulaire (six cas) qui se caractérise par une composante intra-épidermique latérale très réduite voire même absente, mais également au diagnostic tardif de ces lésions.

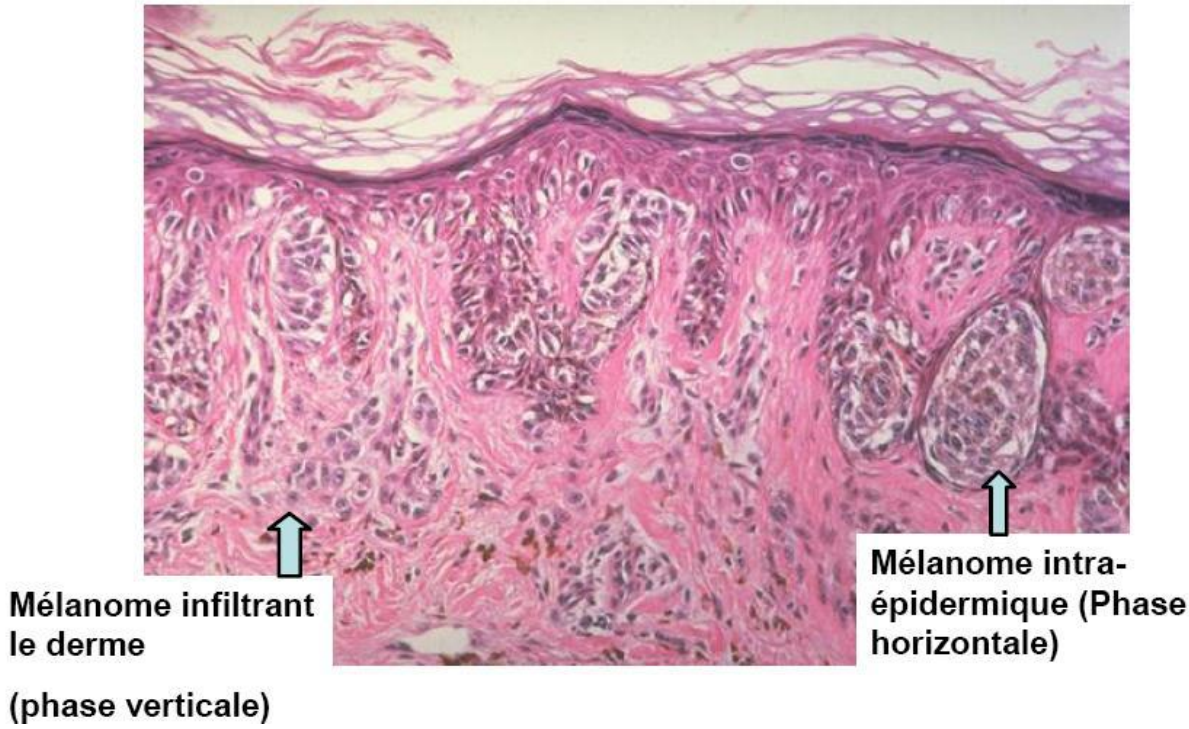


Figure 39 : coupe histologique montrant les deux phases d'évolution du mélanome [92].

II – LE DIAGNOSTIC ANATOMOPATHOLOGIQUE:

1-Principe et intérêt de la biopsie-exérèse;

Toute lésion suspecte d'être un mélanome justifie une exérèse complète et de pleine épaisseur afin de pouvoir déterminer de façon fiable la nature histologique de la lésion et, en cas de malignité, la profondeur de l'envahissement en termes d'indice de Breslow et de niveau de Clark.

La simple incision-biopsie ne peut être effectuée que :

- pour les lésions unguéales et péri-unguéales.
- pour les lésions dont la surface ou la localisation rend l'exérèse complète difficile.

Dans ces cas, elle sera réalisée sur la partie de la tumeur jugée cliniquement comme la plus caractéristique ou la plus épaisse, et la reprise chirurgicale secondaire éventuellement devrait être faite rapidement.

De nombreuses études ont démontré la supériorité de la biopsie-exérèse face aux autres types de biopsie : incision–biopsie, shaved-biopsy, et punchbiopsy. En effet, le taux de diffusion métastatique ainsi que le taux de mortalité sont diminués chez les patients ayant subi une biopsie-exérèse par rapport à ceux qui ont subit d'autres types de biopsies [100].

2 - Examen anatomopathologique

2-1 L'examen macroscopique.

Il est réalisé sur une pièce fraiche ou après une période de fixation de 12 heures pour une biopsie et de plus de 24 heures pour une pièce d'exérèse de gros volume.
Pour les petites lésions (2-5 mm) : il faut faire un plan de coupe passant au ras de la lésion puis inclure toute la lésion (pour que le bloc puisse être débité sur plusieurs niveaux de coupe étudiant toute la lésion).
Si la lésion est un peu plus grande, il faut faire des coupes parallèles à son plus grand axe ou selon l'axe pour lequel les marges sont les plus étroites. Pour les lésions de grand volume, non incluables en entier, il est possible de faire des coupes parallèles au petit axe ou des prélévements en croix si possible [90].
Les coupes réalisées dans le bloc d'inclusion font 4-5 microns d'épaisseur. Elles sont étalées sur lame et colorées à l'hématoxyline éosine-safran [90].

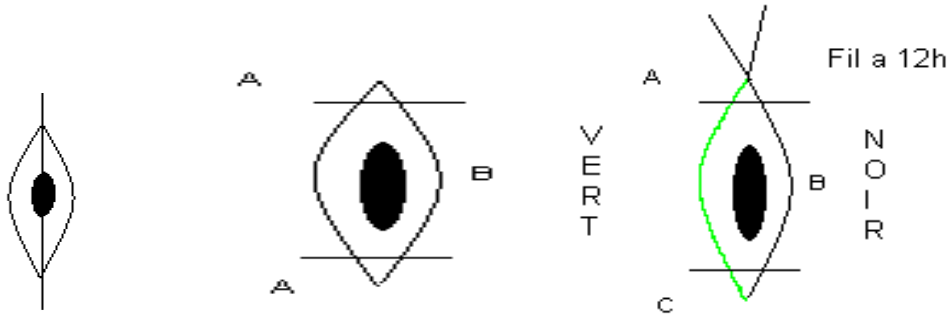


Figure 40 : Prise en charge macroscopique d'un mélanome

2-2 L'examen histologique :

L'histologie affirme la nature mélanocytaire ainsi que la malignité d'une lésion cutanée pigmentée :

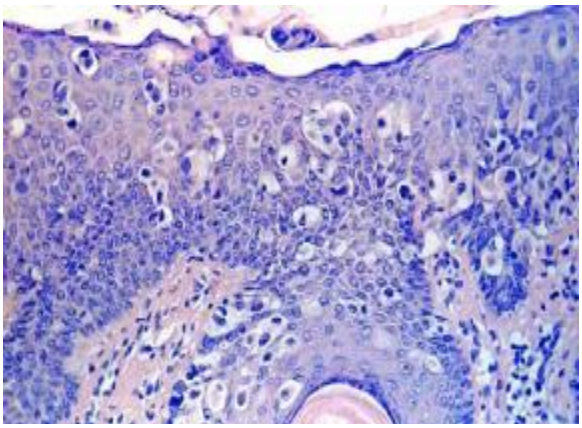
a - la nature mélanocytaire.

Elle sera confirmée par la pigmentation ou la visualisation de la mélanine dans la cellule néoplasique et la présence d'inflexion lentigineuse et pagétoïde.

En mode lentigineux, les mélanocytes s'organisent le long de la membrane basale en nappe, de façon irrégulière, tout en suivant la basale des annexes : c'est le cas du mélanome sur mélanose de Dubreuilh et du mélanome acro-lentigineux.

En mode pagétoïde : les cellules s'organisent en thèques irrégulières ou en cellules isolées dont certaines migrent vers la surface épidermique.

Cette étape de démarche diagnostique a été améliorée par l'immuno-marquage.



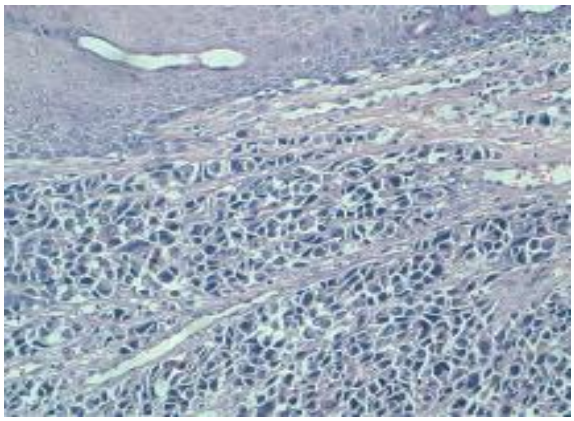


Fig41 : Mélanome en mode pagétoïde Fig42 : Mélanome en mode lentigineux

[101]

Dans notre série, la pigmentation mélanique a été visualisée au niveau des cellules tumorales chez 75% des cas. De même, la prolifération lentigineuse a été retrouvée chez 43% des cas. Ce qui a permis de faciliter le diagnostic de la nature

mélanocytaire lors des examens histologiques des prélèvements effectués sur nos patients.

b– Les critères de malignité [92]:

▪ Critères architecturaux :

- La grande taille de la tumeur qui n'est pas un critère absolu.
- L'asymétrie des limites latérales qui peut manquer dans les mélanomes nodulaires.
- L'invasion des couches superficielles, granuleuses et cornées de l'épiderme par les cellules tumorales (épidermotropisme pagétoïde) est le critère majeur de malignité a été trouvé seulement dans 2 cas.
- L'absence de maturation des cellules dermiques en profondeur et le polymorphisme cellulaire, sont d'autres critères de malignité.
- La présence d'éventuels emboles vasculaires (un seul cas) ou d'une extension neurotrope (un seul cas) est précieuse au diagnostic.

▪ Critères cytologiques :

Constituent des éléments moins importants.

L'atypie cellulaire est subjective, car les mélanocytes malins sont des cellules pléomorphes ; les types cellulaires les plus souvent observés sont les types

épithélioïde et fusiforme.

La présence de mitoses atypiques est significative, mais l'index mitotique est souvent faible dans le mélanome.

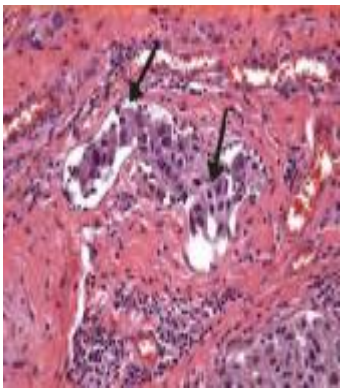
Les notions d'atypies nucléaires et d'anisonucléose ne définissent pas toujours le caractère malin de la lésion.

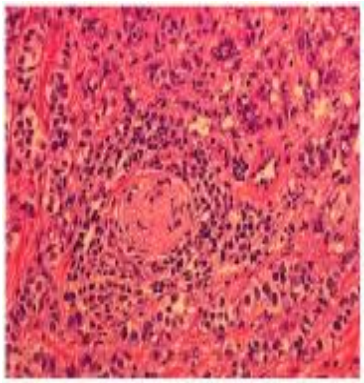
Des remaniements cellulaires comme l'altération épidermique, l'hyperplasie réactionnelle, l'ulcération tumorale ainsi que des phénomènes de régression

spontanée du genre : disparition complète ou partielle des mélanocytes tumorales, d'infiltrations lymphocytaires, de fibrose sont tous fréquents.

Les critères de malignité architecturaux et cytologiques retrouvés chez nos patients étaient :

- Le polymorphisme cellulaire dans la moitié des cas.
- L'index mitotique élevé: 8 mitoses / 10 champs en moyenne.
- La présence d'une ulcération dans 60 % des cas et de l'engainement périnerveux dans 2 cas.
- Un seul cas d'emboles vasculaires.
- La nécrose était retrouvée dans 3 cas (13%).





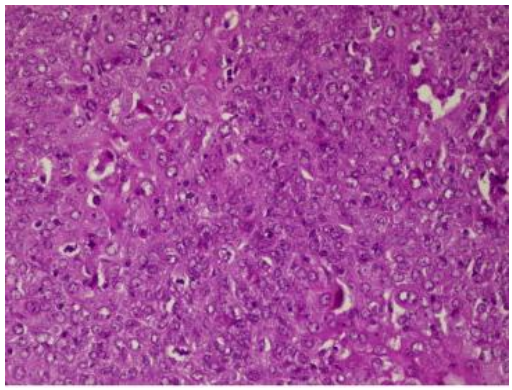


Fig43Embols vasculaire Fig 44 : EPN* Fig45Melanome +IM↗ [102]

EPN* : Engrainement périnerveux

IM : Index mitotique

2–3 Etablissement de la classification en fonction des indices de Clark et de Breslow :

Histologiquement, les mélanomes sont classés selon deux indices : l'indice de Clark et l'indice de Breslow.

- L'indice de Breslow (figure 11) : est la mesure de l'épaisseur maximum (zone la plus épaisse qui ne correspond pas forcément à la zone la plus invasive) de la lésion depuis la couche granuleuse la plus haute située dans l'épiderme (ou depuis le fond d'une ulcération si la zone la plus épaisse est ulcérée) jusqu'à la cellule maligne la plus éloignée en profondeur. Les embols sont exclus, mais les îlots tumoraux séparés du corps principal de la tumeur sont compris

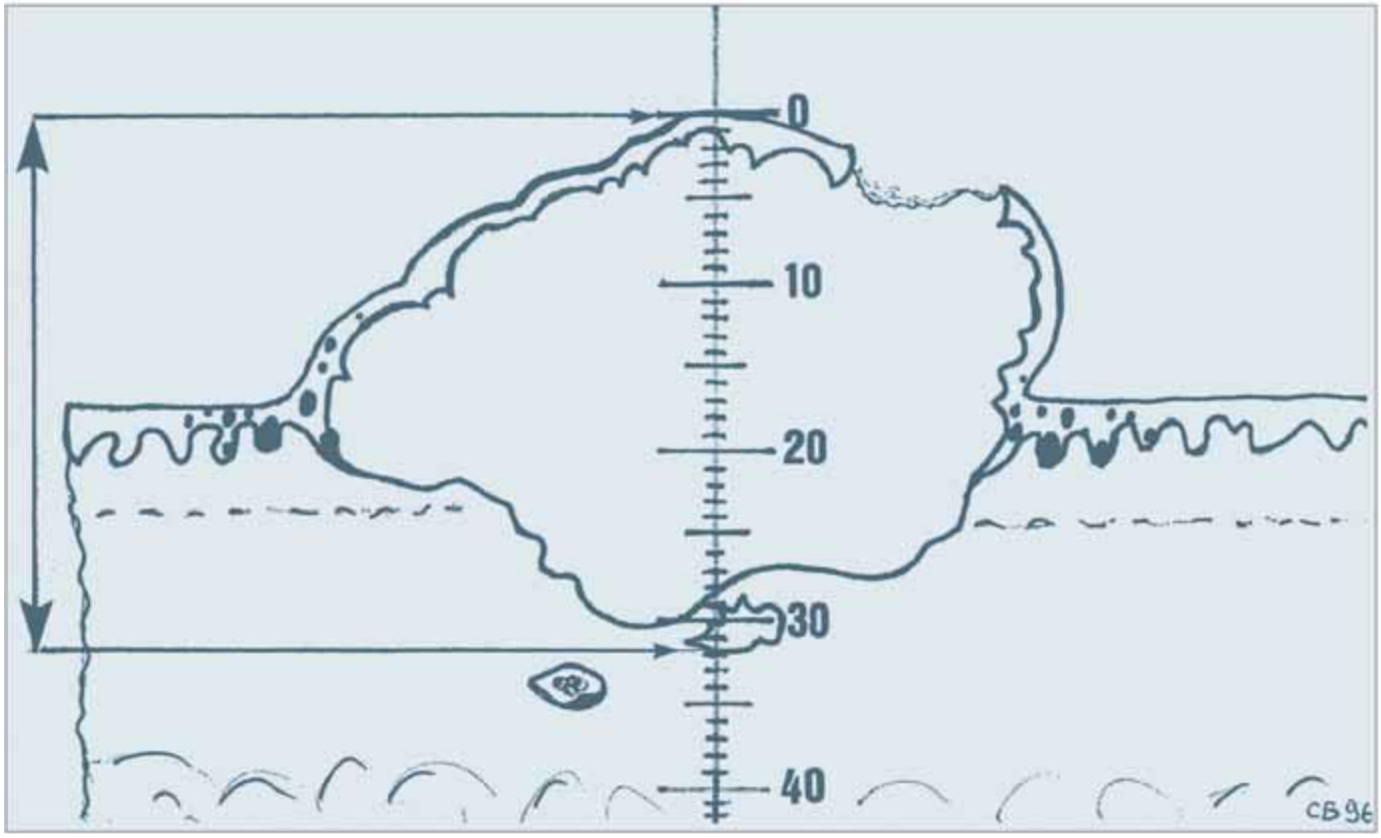


Figure46 : Schéma montrant la mesure de l'épaisseur selon Breslow [92].

Le niveau d'invasion ou niveau de CLARK, est la détermination du niveau d'invasion tumorale dans les différentes couches de la peau, variant de 1 à 5 selon l'extension croissante en profondeur

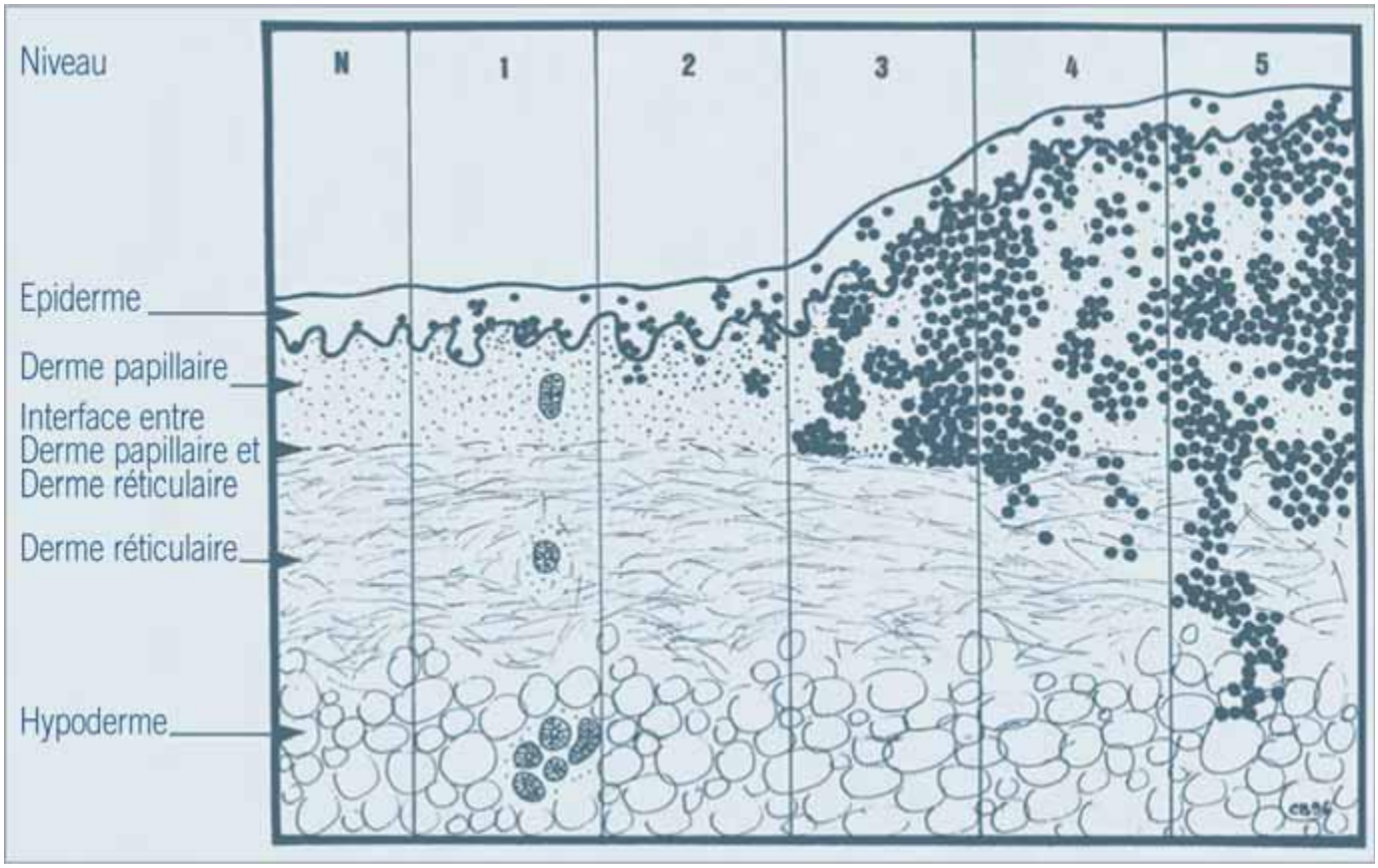


Figure 47: schéma montrant les 5 niveaux d'invasion de Clark et Mihm [92].

◇ Niveau I : correspond à un envahissement épidermique.

◇ Niveau II : correspond à un envahissement discontinu du derme papillaire.

◇ Niveau III : correspond à un envahissement continu du derme papillaire.

◇ Niveau IV : correspond à un envahissement du derme réticulaire.

◇ Niveau V : correspond à un envahissement de l'hypoderme.

L'examen histologique des lésions tumorales retrouvées chez nos patients a Révélé un indice de Breslow varie entre 1 mm et 20 mm avec une moyenne de 8.42 et un niveau de Clark à V chez 7 patients (41%), IV chez 5 patients (30%), III chez 4 patients (23%) et I (5%) chez un seul patient.

Pour les mélanomes non cutanés et les métastases, le niveau de Clark n'était pas calculé.

A partir des données du tableau (12), on note que l'indice de Breslow est supérieur à 4 mm dans 100% des cas de mélanome muqueux et dans 67% des cas de mélanome nodulaire, ce qui concorde avec les données de la littérature. Alors qu'il est supérieur à 4 mm dans 50% des cas du mélanome sur mélanose de Dubreuilh et entre 2.1 et 4 mm dans 50% du même type histologique. Pour le mélanome de type SSM, l'IB est entre 2.1 et 4 dans 100% (un seul cas).

Ces chiffres élevés peuvent refléter le temps écoulé entre l'apparition des lésions et le délai de consultation et ainsi le manque des moyens efficaces de dépistage des patients à risque dans notre population.

2–4 L'analyse immuno-histochimique

Les antigènes exprimés par les cellules du mélanome sont identifiés par des techniques immuno-histochimiques. Celles-ci sont applicables aux coupes déparaffinées [90, 103,104, 105] :

a. L'anti-protéine S100 :

La protéine S100 est le marqueur le plus sensible mais non spécifique des tumeurs mélanocytaires. Elle ne permet pas la distinction entre tumeurs bénignes et malignes. Le marquage est cytoplasmique et nucléaire.

b. Les anticorps anti-mélanomes :

- . HMB 45.

L'anticorps HMB 45 (anti gp 100) détecte une glycoprotéine des prémélanosomes et marque les cellules de mélanome malin, mais également les mélanocytes activés de certains naevi bénins. Par ailleurs, l'anticorps HMB45 est plus sensible et sa réaction est fréquemment négative dans les mélanomes à cellules fusiformes de type desmoplastique à stroma fibreux. Le marquage est cytoplasmique.

- NKIC 3.

N'apporte pas d'avantages par rapport à l'HMB45

- Melan A.

L'anti-Melan A (MART-1) ou A103 est un anticorps monoclonal qui marque 80 à 90 % des mélanomes. Le marquage est cytoplasmique et souvent plus homogène que celui de l'HMB45.

- A62.

L'anticorps monoclonal KBA62 marque les lésions mélaniques bénignes et la plupart des lésions mélaniques malignes.

- Tyrosinase.

L'anticorps anti-tyrosinase T311 est très sensible (94% des mélanomes). Le marquage cytoplasmique est très hétérogène dans les mélanomes de stade évolué.

- MiTF (Facteur de transcription de la microphtalmie).
- MAGE.

Au total, l'anticorps le plus sensible est l'anti-protéine S100 suivi de l'antityrosinase (T311), puis de l'anti-Melan A (A103), puis de l'anti-MiTF (D5) et enfin de l'HMB 45 (anti-gp100). Les anticorps les plus spécifiques restent l'HMB45 et l'anti-Melan A.

Dans notre série, le Melan A est le marqueur le plus sensible (95%) puis la PS 100 (86%). (Tableau 13)

c- Les autres anticorps :

- Ckit ou CD117: c'est un récepteur à activité tyrosine kinase. Il est exprimé par les mélanocytes normaux. Il peut être exprimé surtout dans les mélanomes de type acraux et muqueux avec un marquage membranaire et cytoplasmique

. Vimentine : La vimentine est positive dans les mélanomes et les naevi.

. Marqueurs épithéliaux.

La cytokératine est négative en paraffine dans les mélanomes de même que l'EMA.

Dans notre travail, la PS 100 a été positive chez 20 patients (86%), Melan A a été positive chez 22 patients (95%) et le CKit a été positive chez 7 patients dont 5 présentant un mélanome acro-lentigineux et 2 un mélanome muqueux, ce qui rejoint les données de la littérature. (Tableau 13)

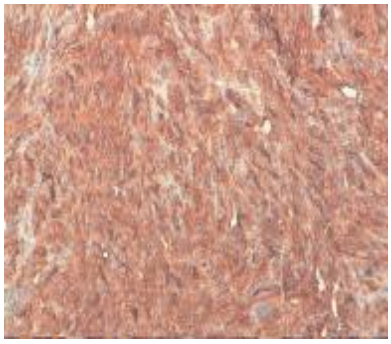


Fig 48:CKit

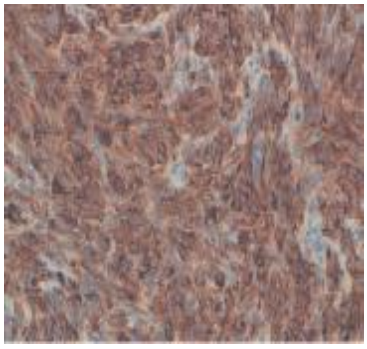


Fig49 :Melan A

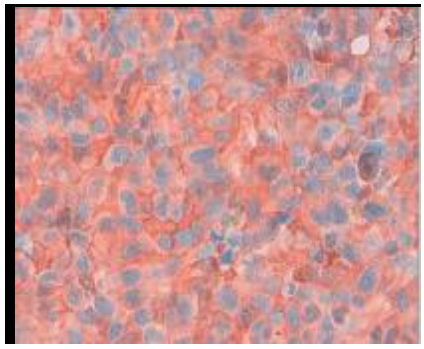


Fig 50: PS100 [102]

3-Le compte rendu histologique :

Il doit préciser six critères jugés indispensables :

- Le diagnostic de la nature mélanocytaire et de la malignité.
- L'épaisseur maximale en millimètres selon la méthode de Breslow.
- Le niveau d'invasion (niveau de Clark)
- L'état des marges d'exérèse
- Les signes de régression : ils correspondent à la disparition partielle ou totale, locale ou globale des mélanocytes intratumoraux intraépidermiques.
- L'existence ou non d'une ulcération.

Les indications facultatives de type anatomo-pathologique comprennent : l'existence d'emboles (Agglomérats de cellules tumorales dans les vaisseaux sanguins, lymphatiques intra et péri-tumoraux), Le neurotropisme, L'activité mitotique, Les atypies marquées, Les localisations satellites (correspond à des îlots tumoraux situés en dehors de la tumeur à n'importe quel niveau d'épaisseur

cutanée dans un rayons de moins de 5 cm), Le type cellulaire, la présence de lymphocytes infiltrant la tumeur, La croissance verticale ou horizontale, [90, 106, 107]

III – DIAGNOSTIC HISTOLOGIQUE SELON LE TYPE HISTOGENETIQUE.

1 – Le mélanome acro-lentigineux :

Comporte deux caractéristiques : la présence de mélanocytes à très longs dendrites et celle d'un épiderme hyperpapillomateux et hyperkératosique caractéristique des extrémités. Comme le mélanome de Dubreuilh et le mélanome à extension superficielle, le mélanome acro-lentigineux évolue en deux phases d'abord horizontale lentigineuse, puis verticale dermique [108-110]. Les mélanocytes ont peu tendance à ascensionner dans l'épiderme mais colonisent volontiers les canaux sudoripares et les accompagnent dans leur trajet dermique plus ou moins profondément. On rencontre peu d'aspects pagétoïdes, mais on peut noter quelques fois la présence de thèques très irrégulières et confluentes [111].

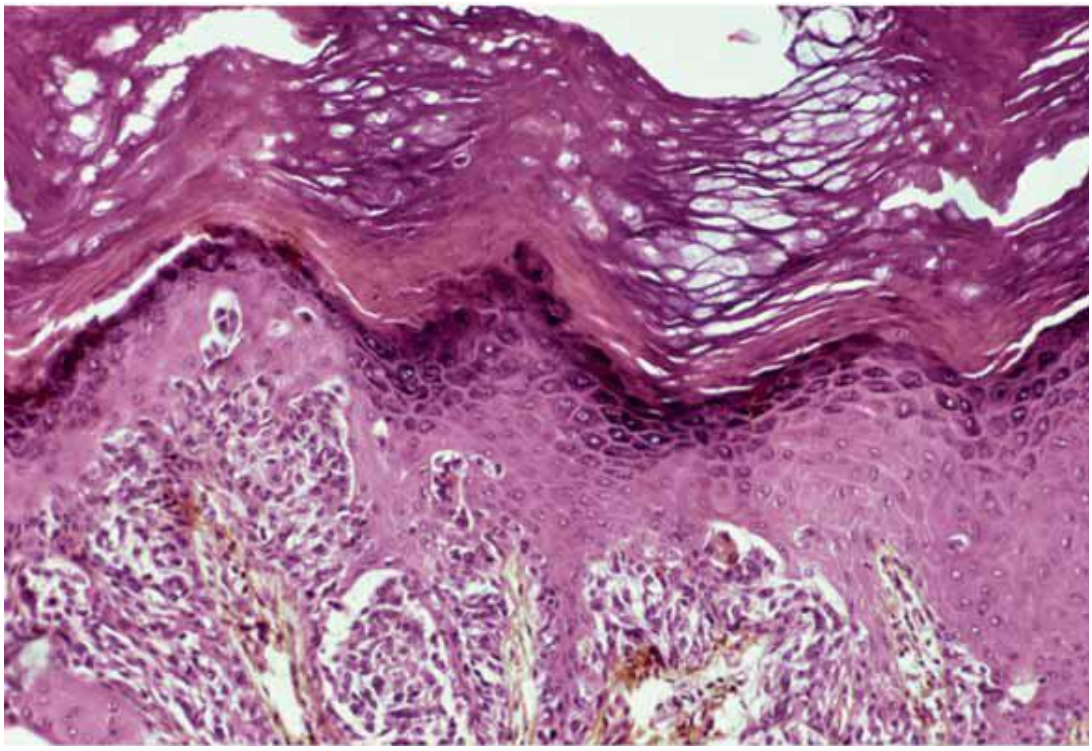


Figure 51 : Coupe histologique d'un mélanome acro-lentigineux [92].

2- Le mélanome nodulaire.

Ce type mélanocytaires tumorales qui prolifèrent à la jonction dermo-épidermique et envahissent le derme en profondeur, sans phase d'extension horizontale, et donc sans composante épidermique latérale (ou inférieure à 3 crêtes). Les crêtes épidermiques sont allongées en coup d'ongle sur les berges du nodule. La population mélanocytaire est variable, volontiers polyclonale, pigmentée ou achromique, avec une activité mitotique souvent forte. L'ulcération est fréquente [110,112]. correspond à la sélection d'emblée d'un clone agressif de cellules

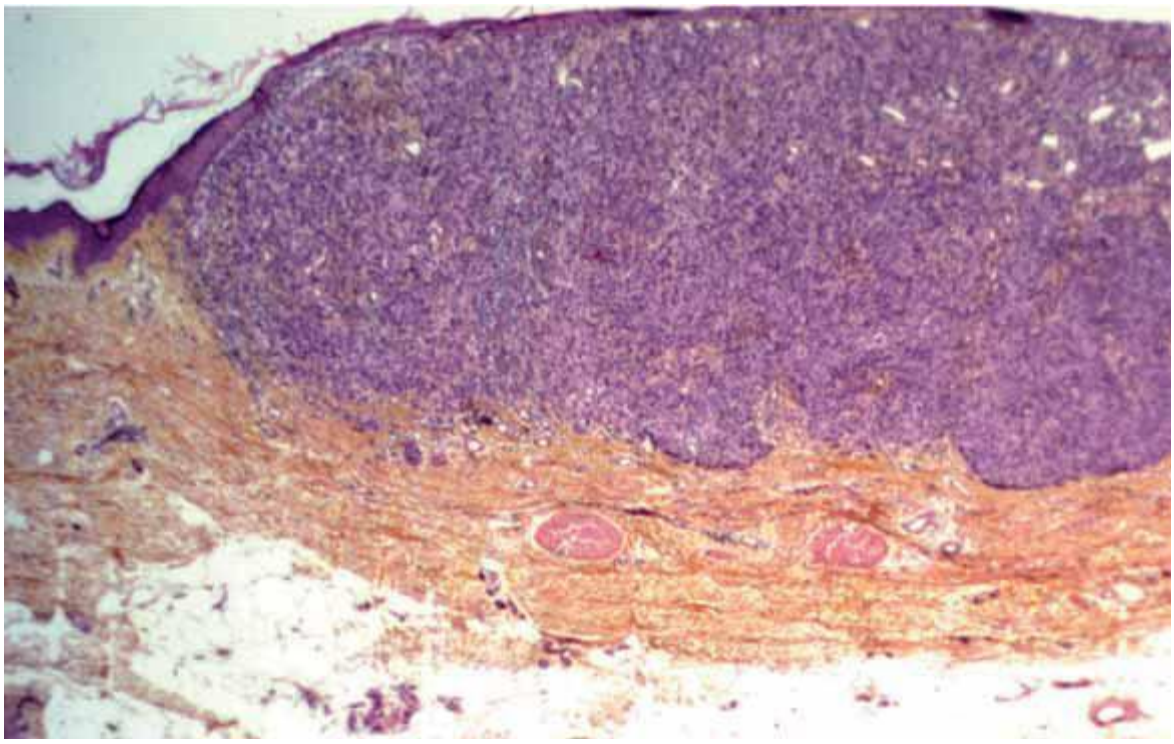


Figure 52 : Coupe histologique d'un mélanome de type nodulaire [92].

3-Mélanome superficiel extensif (SSM) :

Il correspond à la prolifération tumorale de cellules à cytoplasme clair et abondant. Le noyau est rond ou ovale et le pigment mélanique prend une disposition en poussière. Les cellules se disposent très rapidement en nid, envahissant l'épiderme qui est le plus souvent acanthosique. Après cette phase de

croissance horizontale, vient la phase de croissance verticale qui se caractérise par l'envahissement du derme. On note l'existence de phénomène de régression partielle dans ce type de mélanome [110,112].

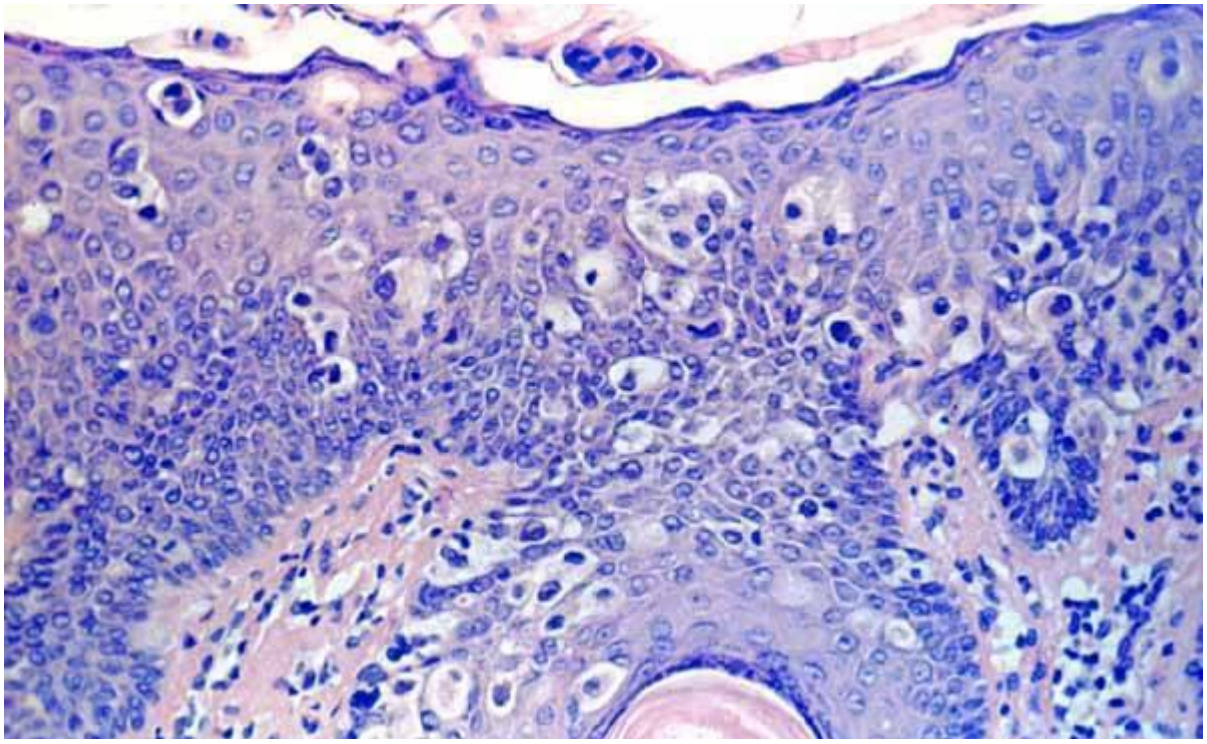


Figure 53 : Image montrant l'extension superficielle d'un mélanome de type SSM. Noter la présence de cellules tumorales à cytoplasme clair en intraépidermique. (GX40 COLORATION HES) [92].

4- Le mélanome de Dubreuilh :

Ce type de mélanome se caractérise par une phase intra-épidermique très prolongée, et correspond histologiquement à une prolifération mélanocytaire intraépidermique atypique. Les cellules sont localisées le long de la membrane basale, migrant dans les follicules pileux, et ascensionnant peu vers les couches superficielles de l'épiderme.

Un infiltrat inflammatoire souvent dense, comportant des lymphocytes, des macrophages chargés de pigment mélanique est retrouvé dans le derme superficiel.

Une atrophie épidermique et une élastose actinique s'associent à ces lésions [110,112].

En général, les cellules sont pléomorphes dans la phase horizontale, puis deviennent fusiformes dans la phase verticale. Les mitoses sont souvent peu nombreuses.

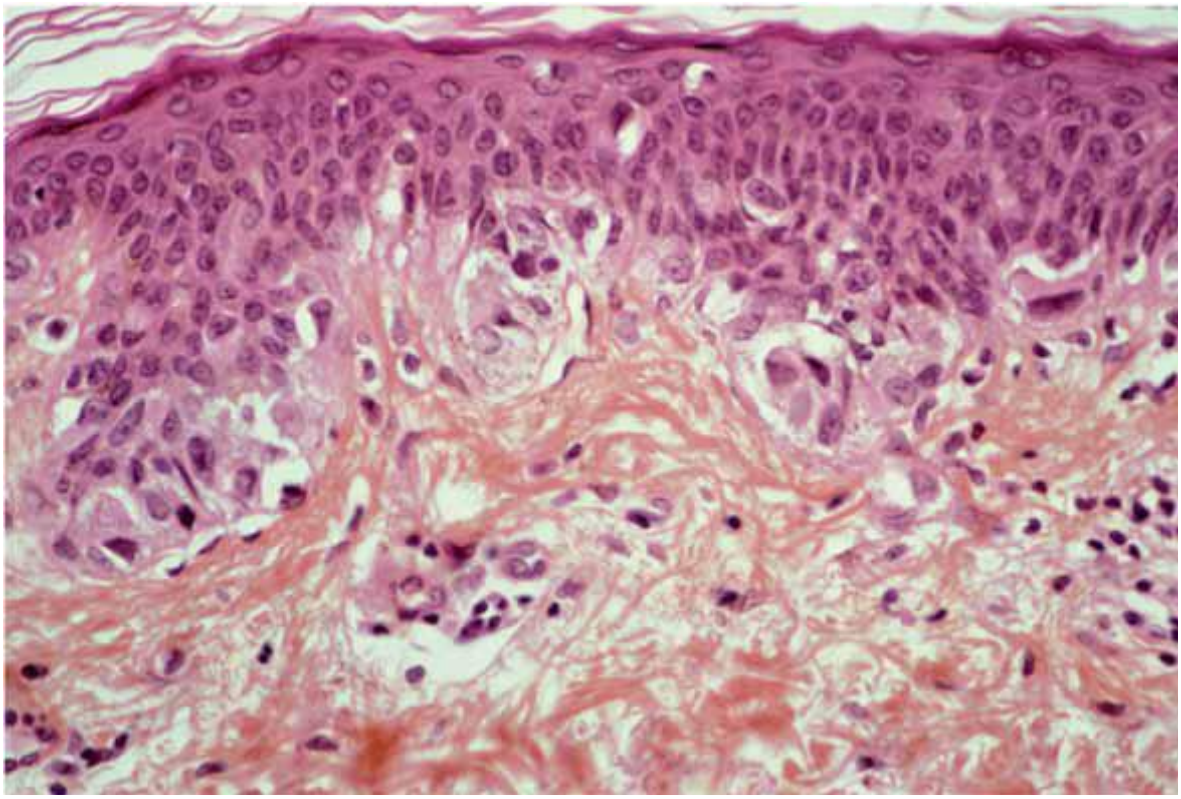


Figure 54: Coupe histologique d'un mélanome de Dubreuilh [92].

5. Autres formes particulières [113 ,114]

Mélanome muqueux :

Architecture polymorphe, souvent se présente sous forme d'une prolifération fusocellulaire, mais peut aussi se présenter sous forme de nappes diffuses, méningothéliale, périthéliomateux (autour des vaisseaux), storiforme, pseudopapillaire, alvéolaire...

Mélanome achromique :

Le diagnostic a été considérablement facilité par l'immunohistochimie : PS100 ++, vimentine ++ dans les formes fusocellulaires. Si non HMB45, Melan A, MiTF, CK -. L'association de populations fusocellulaires et globocellulaires suggère le diagnostic de mélanome. La présence de nombreux pseudonucléoles (noyaux troués), sans être spécifique, est un argument de plus. Il faut rechercher une activité jonctionnelle.

Mélanome *à cellules ballonnisantes* :

Equivalent malin du naevus à cellules ballonnisantes. Rare dans ses formes pures ou presque pures (0,15%) qui se voit à tout âge (moyenne 54 ans), surtout tête et cou et partie >> du tronc, plus de 50% de grandes cellules ballonisées, polygonales ou rondes à cytoplasme spumeux avec des vacuoles de taille variable, le plus souvent achromiques (certaines cellules contiennent des lipides).

Les mélanomes desmoplastiques sont rares. L'aspect histologique est celui d'une prolifération de cellules fusiformes disposées en trousseaux d'orientation variée avec fibrose dense du stroma tumoral associé à un neurotropisme, et une composante jonctionnelle minime ou absente.

Le mélanome sarcomatoïde ou sarcome à cellules claires

C'est un mélanome des parties molles qui prédomine aux extrémités. Histologiquement, il s'agit d'une prolifération en nids ou lobules (parfois aspect pseudo-endocrine) voire faisceaux, nappes, pseudo-alvéoles, microkystes séparés par des septas fibreux grêles, ou se trouvant dans des structures collagéniques orientées telles un tendon, des aponévroses donnant un aspect en bancs de poissons. Cellules pâles, monomorphes, rondes ovoïdes ou fusiformes, rarement rhabdoïdes. Le cytoplasme est légèrement granulaire, les noyaux sont ronds,

ovoïdes, vésiculaires, à chromatine fine avec un nucléole bien visible basophile, pas ou peu de pléomorphisme sauf dans les récidives ou les métastases.

IHC : HMB45 + dans 95% des cas, PS100+ dans 75 à 100%, kératines parfois + (CK et EMA), Melan A + dans 43 à 71%, marqueurs neuroendocrines parfois positifs.

Les mélanomes sur naevus bleu

Ou sur mélanose dermique (naevus ophtalmomaxillaire d'Ota) à développement intradermique sont diagnostiqués souvent tardivement. L'existence de foyers hémorragiques ou de nécrose sont plus évocateurs que les atypies cellulaires difficiles à mettre en évidence sur des cellules tumorales fortement pigmentées.

Les mélanomes spitzoïdes

Ou mélanomes se développant sur naevus de Spitz, observés chez l'enfant et l'adulte jeune, sont de diagnostic extrêmement difficile. Les critères de malignité retenus sont l'absence de maturation en profondeur, la présence de mitoses atypiques dans les couches les plus profondes du derme. Mais il apparaît souvent nécessaire de faire appel à plusieurs lecteurs indépendants.

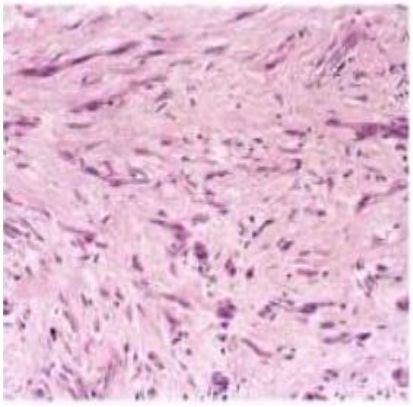


Fig55:M. desmoplastique

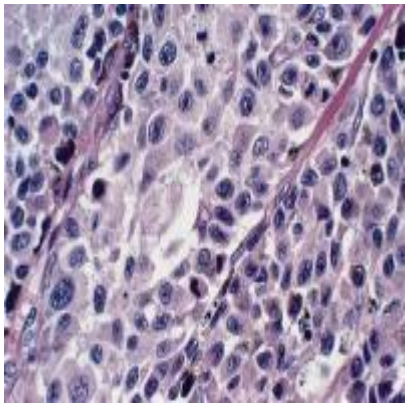


Fig56:M. achromique

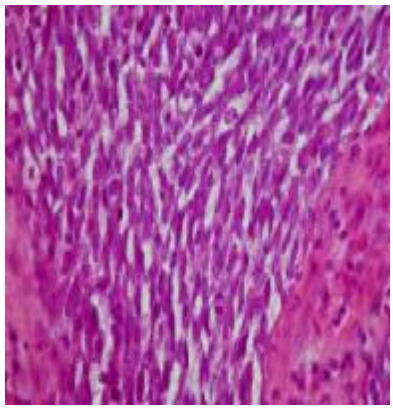
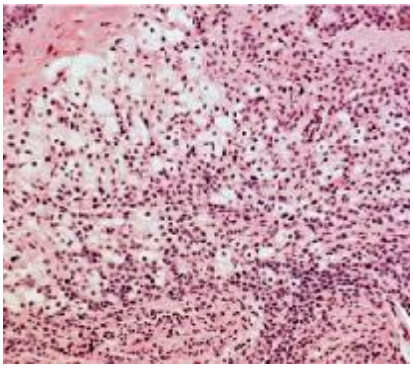
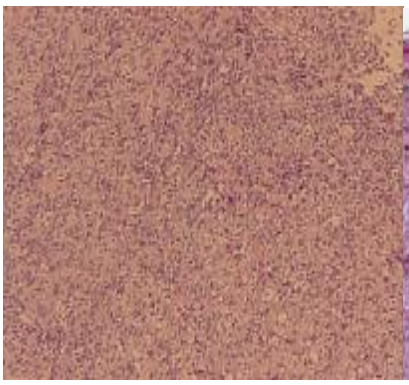


Fig57:M. muqueux naso-sinusien [113]





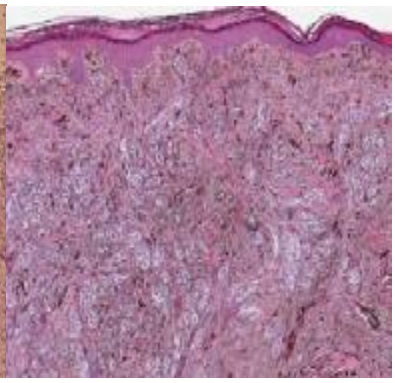


Fig58:M. à Cl bollonnisantes Fig59:M. sarcomatoïde Fig60 : M. sur naevus bleu [113]

Les mélanomes malins peuvent présenter aussi des aspects déroutants [114,115]

- rhabdoïdes sous forme de grandes cellules polygonales avec inclusion paranucléaire.

- formes ostéogéniques ou ostéocartilagineuses dans des ALM avec une composante ostéoïde +/- abondante

- myxoïde (accumulation de MPS, Pas D -, BA +), souvent amélanotique, correspond le plus souvent à des métastases

- Mélanome neurotrope : par l'interaction avec les tissus adjacents

- à cellules en bague à chaton, mucine -, rarement mucine +)

- à petites cellules, HPC like, adénoïdes ou pseudopapillaires.

- mélanome à maturation paradoxale , malgré la maturation en profondeur, se distingue d'un naevus composé par des noyaux plus grands et des mitoses en profondeur alors que le mélanome naevoïde est constitué de petites cellules dans toute la lésion, d'architecture nodulaire ou verruciforme sans composante intra-épidermique marquée. Ce mélanome n'est pas verruciforme, présente une composante intra-épidermique nette et des cellules mélanocytaires plus grandes en

surface. L'immunohistochimie montre une diminution du marquage du Ki67 et de l'HMB 45 en profondeur.

Dans notre série, six patients avaient un mélanome de type nodulaire, huit patients ont présenté un mélanome acro-lentigineux, trois patients ont présenté un mélanome muqueux (rectale, naso-sinusien et oculaire), un seul cas de mélanome type SSM et deux cas de mélanome sur mélanose de Dubreuil et 3 patients présentaient de métastase d'un mélanome (pleurale, cutanée et ganglionnaire).

Tous les cas de mélanome muqueux se sont présentés sous forme d'une prolifération fusocellulaire.

CHAPITRE VIII : BILAN DU MELANOME ET CLASSIFICATION.

A – BILAN DU MELANOME.

Après le diagnostic du mélanome, un bilan initial s'impose à la recherche d' :

- un deuxième mélanome dont la fréquence est de l'ordre de 5 à 10 % ; le deuxième mélanome est souvent découvert de façon concomitante au premier (19 à 39 % des cas) ou dans l'année qui suit. Le risque de mélanomes multiples est plus élevé chez les malades ayant eu un mélanome à un âge précoce, qui sont atteints de nævi atypiques ou qui ont une histoire familiale documentée de mélanome. Dans ce dernier cas, la proportion de mélanomes multiples varie de 13,8 à 50 % selon les séries ;
- une récidive locale, en transit, régionale ou à distance.
- une autre tumeur (liée au mélanome dans la plupart des études épidémiologiques) comme les carcinomes basocellulaires et les carcinomes épidermoïdes cutanés. [117]
- Ce bilan commence d'abord par l'interrogatoire qui recherche :
    - Les antécédents familiaux et personnels de mélanomes, d'autres cancers cutanés et de lésions naeviques.
    - Les antécédents de coup de soleil sévères dans l'enfance ou l'adolescence.
    - Les éventuels signes fonctionnels de dissémination.

Ensuite, un examen clinique complet qui doit comporter :

- L'inspection de la totalité du revêtement cutané à la recherche d'un deuxième mélanome, d'un naevus congénital ou de naevus atypique (éventuellement complétée par une dermoscopie).
- L'évaluation du nombre de naevi et du phototype
- La palpation de toutes les aires ganglionnaires et un examen clinique général.

- Les autres explorations complémentaires seront réalisées en fonction de l'indice de Breslow. Il s'agit essentiellement de :

Une radiographie du thorax et une échographie abdominale [117]:

Réalisées même dans le mélanome stade I dans le but de la constitution d'une imagerie de référence et le dépistage d'image fortuite (détection d'anomalie bénigne ou maligne). Mais la valeur de ces examens, en tant qu'imagerie de référence, est discutée et peut déboucher sur des compléments d'exploration invasifs.

Une Tomodensitométrie (TDM) cérébro-thoraco-abdominale [83]:

Semble être l'examen le plus adapté vu la supériorité de ses performances diagnostiques établie par plusieurs études.

L'imagerie par résonnance magnétique [83]: L'IRM reste le meilleur examen pour la détection des métastases hépatiques, osseuses et surtout cérébrales. Cependant, elle n'offre aucun avantage pour la mise en évidence de lésions pulmonaires par rapport à la TDM.

Pour des raisons financières et d'accès aux machines d'IRM, la TDM reste l'examen de référence.

L'échographie dite « ganglionnaire » [118,119]:

L'échographie « dite ganglionnaire » avec une sonde de 7,5 à 10 MHz est plus sensible et spécifique que l'examen clinique. Elle détecte des ganglions pathologiques de 3 à 4 mm pour lesquelles sa sensibilité est estimée à 93 % contre 71 % pour la palpation.

Cette analyse échographique du ganglion peut être discriminante, séparant le ganglion normal simplement hyperplasique, du ganglion métastatique. Le niveau d'expertise du radiologue est donc important.

L'échographie locorégionale ganglionnaire est de plus en plus

Recommandée dans le bilan initial et le suivi, d'autant que la technique est sans risque et peu coûteuse mais elle ne se substitue pas à la technique du ganglion sentinelle. Son impact est fonction de la fréquence à laquelle il peut raisonnablement être mis en oeuvre, qui dépend-elle même de son coût et de sa disponibilité. On ne sait pas, par exemple, si une échographie ganglionnaire 2 fois par an est plus performante qu'une palpation 4 fois /an.

La cytoponction ganglionnaire [118]: La cytoponction ganglionnaire

pratiquée sur des images découvertes par échographie n'est performante que dans les centres ayant une bonne expérience et n'a, en pratique, de valeur absolue que si elle est positive. Son intérêt reste donc discutable.

Les examens biologiques [118]: Il n'existe pas à ce jour de marqueur tumoral validé pour le mélanome et les bilans biologiques de routine sont toujours normaux en dehors des métastases.

La TEP/FDG et TEP/CT : [120,121] La tomographie par émission de

positons au 2-Fluoro-2-Deoxy-D-Glucose marqué au fluor 18 (18F-FDG) est une technique d'imagerie qui réalise, par un examen unique, le bilan d'extension du corps entier. Grâce à l'activité métabolique glucidique élevée des mélanomes malins, elle permet une bonne discrimination entre tissu tumoral et tissus normaux. A noter que le cerveau, le coeur, les voies urinaires et les muscles peuvent montrer de manière physiologique une captation élevée du FDG ce qui conduit parfois à une interprétation faussement positive de la TEP. Il en est de même dans certains états inflammatoires ou infectieux. Le risque de faux négatifs peut se rencontrer lors de métastases qui sont trop petites pour la résolution spatiale de la caméra et de lésions cachées par une activité métabolique cérébrale ou une excrétion urinaire normale. Ainsi, la TEP est plus sensible et plus exacte que les examens radiologiques conventionnels pour la détection des métastases à distance sauf pour

les métastases cérébrales (IRM supérieure) ou pulmonaires (tomodensitométrie supérieure). Néanmoins, cet examen n'a pas de place pour le diagnostic des micrométastases ganglionnaires.

La performance du TEP/FDG est actuellement améliorée par l'utilisation combinant de la tomodensitométrie (TEP/CT) permettant de préciser le caractère pathologique des fixations repérées par la TEP/FDG et la localisation des métastases.

Bilan initial du mélanome selon les SOR

Stade I AJCC
Standards
Examen clinique complet (inspection de la totalité du revêtement cutané et la palpation de toutes les aires ganglionnaires à la recherche d'une extension locorégionale, d'un deuxième mélanome, d'un nævus congénital et de nævus atypiques).
L'utilisation de marqueurs biologiques spécifiques n'est pas recommandée.
Stades IIA et IIB (NO clinique)
Standards
Examen clinique complet.
L'utilisation de marqueurs biologiques spécifiques n'est pas recommandée.
Options
■ échographie locorégionale de la zone de drainage,
■ les autres examens complémentaires ne sont pas recommandés en dehors de signes d'appels.
Stades IIC et III AJCC
Standards
Examen clinique complet
L'utilisation de marqueurs biologiques spécifiques n'est pas recommandée.
Options
■ échographie locorégionale de la zone de drainage,
■ TDM thoracique, abdominopelvienne et cérébrale,
■ TEP-FDG pour les patients présentant un envahissement ganglionnaire (stades III AJCC).

Figure61: Bilan initial du mélanome selon le SOR. [118]

Dans notre série, tous les patients avaient bénéficié d'une radiographie thoracique, une échographie abdominale et ganglionnaire ainsi qu'une TDM thoraco-abdominopelvienne et cérébrale.

La TEP-FDG n'est pas disponible au CHU de Fès, aucun cas n'en a bénéficié.

Dans notre série, le bilan d'extension réalisée chez nos patients a révélé des métastases chez 11 patients (47%) :

- Pulmonaires chez 9 des patients (39%).
- Ganglionnaires chez 10 patients
- Cérébrales chez un patient.
- hépatiques chez deux patents.
- Surrénaliennes chez 2 patients.
- Osseuses et péritonéales chez 2 patients.

A partir de l'analyse du tableau (14,15,16), on peut déduire que la fréquence de la présence de métastases ganglionnaires et viscérales au moment du diagnostic pourrait être expliquée par :

- L'indice de Breslow élevé (supérieur ou égale à 4 mm dans 80% des cas) et le niveau de Clark aussi élévé au moment du diagnostic (à V dans 41% et à IV dans 30% des cas).
- La négligence du patient de sa lésion surtout qu'elle ne s'accompagne pas de symptomatologie douloureuse.
- Les contraintes financières qui empêchent la population démunie de consulter.
- La localisation relativement « cachée » de certaines lésions (par exemple au niveau plantaire).

B – CLASSIFICATIONS :

La classification la plus utilisée dans les pays anglo-saxons et dans la littérature est celle de l'American Joint Committee on Cancer (AJCC) et de l'Union Internationale Contre le Cancer (UICC) :

La 5ème édition de cette classification était basée sur les seuils d'épaisseur, les niveaux d'invasion, la présence de lésions satellites, de récidives locales et sur la taille des métastases ganglionnaires [117].

Une 6ème édition a été proposée en 2001, validée en 2005 (voir tableau 8).

Cette nouvelle version a l'avantage, par rapport aux précédentes, de s'appuyer sur une analyse multi variée d'une cohorte de 17600 patients.

Les points nouveaux sont une modification des seuils d'épaisseur classant et la place plus modeste attribuée aux niveaux de Clark.

Au chapitre de l'envahissement régional (N), les indicateurs pronostiques indépendants étant le volume (micro ou macro) des métastases et le nombre de ganglions envahis, on voit apparaître la distinction entre métastases microscopiques (décelées par l'histopathologie du ganglion sentinelle, s'il est pratiqué) et macrométastases. Pour ces dernières ce n'est plus la taille mais le nombre qui fait changer de groupe pronostique. Les satellites, quel que soit leur siège, sont considérés comme des métastases régionales.

Cette classification permet de classer les patients en groupes plus homogènes ce qui devrait faciliter l'analyse des essais thérapeutiques [119].

Tableau 24 : Classification de ptNM de L'UICC et l'AJCC, 6ème édition.

Stades	Critères
IA	Tumeur ≤ 1 mm d'épaisseur, niveau de Clark II ou III, sans ulcération (pT1a), N0, M0
IB	Tumeur ≤ 1 mm, niveau de Clark IV ou V ou avec ulcération (pT1b), N0, M0. Tumeur > 1 mm et ≤ 2 mm d'épaisseur, sans ulcération (pT2a), N0, M0.
IIA	Tumeur > 1 mm et ≤ 2 mm d'épaisseur, avec ulcération (pT2b), N0, M0. Tumeur > 2 mm et ≤ 4 mm d'épaisseur, sans ulcération (pT3a), N0, M0.
IIB	Tumeur > 2 mm et ≤ 4 mm d'épaisseur, avec ulcération (pT3b), N0, M0. Tumeur > 4 mm d'épaisseur, sans ulcération (pT4a), N0, M0.
IIIA	Tumeur sans ulcération (tous pT), métastases microscopiques dans 1 à 3 ganglions lymphatiques régionaux (N1a, 2a), M0.
IIIB	Tumeur sans ulcération (tous pT), métastases macroscopiques dans 1 à 3 ganglions régionaux ou métastases « en transit » (N1b, 2b, 2c), M0. Tumeur avec ulcération (tous pT), métastases microscopiques dans 1 à 3 ganglions régionaux ou métastases «en transit » (N1a, 2a, 2c), M0.
IIIC	Tumeur avec ulcération (tous pT), métastases macroscopiques dans 1 à 3 ganglions régionaux (N1b, 2b), M0 Tumeur avec ou sans ulcération (tous pT), métastases dans 4 ou + ganglions régionaux ou métastases en transit + métastase ganglionnaire régionale (N3).
IV	Métastases à distance (tous pT, tous N, M1)

CHAPITRE X:EVOLUTION ET PRONOSTIC.

I – EVOLUTION :

Le risque évolutif du mélanome est la survenue de métastases. Le taux de survie, tous types de mélanomes confondus, à 5 et 10 ans, varie d 74 à 86 % selon les études.

L'évolution peut se faire soit vers une récidive locorégionale, soit vers la constitution de métastases viscérales qui ne suivent pas forcément une récidive locorégionale. Dans 18 à 27 %, les premières métastases sont viscérales [118].

Les localisations des premières métastases à distance sont :

- Pulmonaires (34 à 44 %).
- Cérébrales ou atteinte du système nerveux central (17 à 22 %).
- Hépatiques (7 à 14 %).
- Osseuses (7 à 8 %).

Au stade locorégional, la maladie reste accessible à des moyens de traitement efficaces. Au-delà de ce stade, les chances d'avoir un traitement curatif sont presque nulles, d'où l'intérêt d'un suivi pour les malades opérés pour un mélanome primitif. Les délais et fréquences de survenue d'une première métastase sont corrélés à l'indice de Breslow. La survenue d'une métastase est d'autant plus précoce que la tumeur est épaisse et, dans ce cas, la possibilité de décès est maximum entre la deuxième te la troisième année post-opératoire. Dans les tumeurs minces, les métastases sont plus rares et plus tardives. Au total, les métastases tardives peuvent survenir au-delà de 10 ans. A l'échelon individuel, on est incapable de prédire fiablement l'évolution car on a constaté qu'il y a des tumeurs minces qui ont donné des métastases et des tumeurs épaisses qui n'ont pas métastasé.

Au stade de l'extension métastatique ganglionnaire, le pronostic est surtout lié au nombre de ganglions atteints et on distingue trois sous-populations :

- Un ganglion envahi.
- Deux à quatre ganglions envahis.
- Plus de quatre ganglions.

En fonction de ces sous-populations, la survie à 5 ans est entre 14 à 79 %. Au cours du stade métastatique, ce pronostic est sombre avec un taux de survie d'environ 8 % à 5 ans et d'environ 5 % à 10 ans, avec une médiane de survie de 6 à 9 mois. Cette survie est plus longue avec les métastases cutanées et ganglionnaires qu'avec les métastases viscérales [118].

Dans notre étude et durant une durée moyenne du suivie de 21 mois :

- 10 patients ont été toujours en vie sans récidive locale ou régionale.
- 4 patients ont présenté une récidive locale pour laquelle ils ont eu une ré exérèse. Actuellement ils sont en vie sans notion de récidive.
- 2 patients ont été perdus de vue.
- 7 patients (30%) sont décédés, ils ont été d'emblée métastatiques.

Les tableaux (17,18,19) résument les différentes formes dévolution de nos patients selon la localisation, type histologique, anomalie moléculaire, métastases et le type du traitement .

L'analyse des résultats de ces tableau permet de conclure que les cas de mélanomes ALM, SSM et nodulaire ont été marqués par une bonne évolution.

Alors que les patients ayant un mélanome muqueux et de Dubreuilh ont présenté une mauvaise évolution dans 100% des cas. P : 0.14 (non significatif)

On remarque aussi qu'en cas d'IB ≤ 1mm, on a une bonne évolution dans 100% des cas. Par contre, on note une mauvaise évolution dans 58,3%, en cas de Breslow > 4 mm. P : 0.39 (non significative)

Le taux élevé de décès (30%) et de récidive (17 %) chez nos patients peut être expliqué par :

- La consultation à un stade avancé vu la négligence et manque de conscience de la gravité de ce cancer et de son pouvoir métastatique.
- L'indice de Breslow et le niveau de Clark élevés au moment de consultation.
- Le taux élevé de métastases (47%) décelé lors du bilan d'extension, ce qui rend la prise en charge du malade difficile avec et la chance de guérison quasinule.

II – PRONOSTIC :

Le pronostic du mélanome est redoutable. Comme déjà cité, son potentiel métastatique est important et contraste avec le peu de moyens thérapeutiques disponibles. La nécessité de prédire le profil comportemental évolutif de ces cancers se révèle ainsi important.

Plusieurs types de facteurs pronostiques ont été déterminés ; certains ont une valeur prédictive plus importante que d'autres. En gros, il s'agit de paramètres cliniques, histologiques et biologiques ou moléculaires.

Récemment, l'introduction de la notion du ganglion sentinelle dans les nouvelles classifications a mieux clarifié le pronostic.

A – Critères cliniques :

1. Age du malade [122]:

L'âge avancé du malade est considéré comme un facteur de mauvais pronostic. Ainsi, les patients de moins de 65 ans ont un taux de survie à 10ans de 88,4%, contre 81,8% pour les patients de plus de 65ans.

2. Sexe [122]:

Le sexe masculin est également un facteur de mauvais pronostic. Ainsi, les Hommes ont un taux de survie à 10ans de 83,5%, contre 85,5% pour les femmes. D'après certaines études, ce pronostic meilleur chez les femmes provient du fait que celles-ci réunissent des critères de bon pronostic par rapport à l'homme notamment un indice de Breslow et un taux d'ulcération moindres ainsi qu'une localisation tumorale de bon pronostic.

3. Topographie [123]:

La corrélation entre la localisation anatomique du mélanome et le pronostic a été validée par plusieurs études. Celles-ci ont conclu que les mélanomes de la tête, du cou et du tronc sont de mauvais pronostic par rapport aux autres localisations. Ces données concordent avec celles de notre série.

4. Site des métastases à distance :

Les malades ayant des métastases cutanées, sous-cutanées ou ganglionnaires ont un pronostic relativement bon par rapport à ceux ayant des métastases dans d'autres sites. Ceux ayant des métastases pulmonaires ont un pronostic intermédiaire. Enfin, les autres localisations viscérales ont un plus mauvais pronostic par rapport aux précédentes [124].

Tous ces critères cliniques sont étroitement liés à un paramètre histologique prédominant, l'indice de Breslow.

B- Critères histologiques :

1- Au cours du stade local.

1-1 ; Critères principaux :

a. L'indice de Breslow.

L'épaisseur tumorale selon Breslow est la mesure de l'épaisseur maximum de la lésion depuis les cellules superficielles de la couche granuleuse épidermique jusqu'à la base de la tumeur y compris les localisations satellites. C'est un facteur indépendant, prédictif du risque de métastases ganglionnaires régionales [125], de récidive précoce [126] et de décès; en effet, il existe une corrélation linéaire entre l'épaisseur tumorale et le délai moyen de survie dans les mélanomes de moins de 6mm, au-delà, cette progression du risque relatif de décès n'augmente pas de façon linéaire. En outre, ce paramètre perd de crédibilité en cas de métastases régionales ou viscérales. Chez nos patients l'indice de Breslow a été plus de 4 mm dans 60% des cas, ce qui peut expliquer le taux élevé de métastases (47%), de récidive (17%) et de décès (30%).

Pour nos patients, vu que la technique du ganglion sentinelle n'est pas disponible, les seuls cas à évaluer sont ceux qui présentent des métastases ganglionnaires.

Tableau 25: Probabilité de survie à 5ans et à 10 ans en fonction de l'indice de Breslow au cours du stade local [127].

Indice de Breslow (IB)	Survie à 5ans	Survie à 10ans
< 1 mm	95%	61%
1,1 < IB < 2	84%	74%
2,1 < IB < 4	68%	57%
> 4 mm	56%	44%

b. L'ulcération

Définie histologiquement par une perte de substance complète de l'épiderme en surface d'une portion importante d'un mélanome primitif. L'épithélium est remplacé par une membrane fibrino-leucocytaire reposant sur un tissu de granulation. Il est important de distinguer cette ulcération du mélanome de lésions de grattage qui correspondent à des excoriations superficielles sans interruption complète de l'épithélium ou d'un décapage artéfactuel lors du prélèvement.

L'ulcération apparaît être un facteur pronostique indépendant dans plusieurs études multivariées [128,129] Elle constitue avec l'indice de Breslow les facteurs histopathologiques les plus intéressants [130, 131, 132].

Dans notre série, l'ulcération était présente dans 60 % des cas, dont 50% ont présenté un mauvais pronostic.

Tableau 26 : La survie à 5 ans en fonction de la présence d'une ulcération [133]

Probabilité de survie à 5 ans pour les patients atteints d'un mélanome de stade III en fonction du statut ganglionnaire et de la présence d'une ulcération [163].

Ulcération	Atteinte ganglionnaire microscopique			Atteinte ganglionnaire macroscopique		
	1 ganglion envahi	2/3 ganglions envahis	> 3 ganglions envahis	1 ganglion envahi	2/3 ganglions envahis	> 3 ganglions envahis
Absente	69 %	63 %	27 %	59 %	46 %	27 %
Présente	52 %	50 %	37 %	29 %	25 %	13 %

c. Le niveau d'invasion de Clark.

Ce paramètre a une valeur pronostique bien moins établie que l'épaisseur de Breslow. Sa valeur pronostique apparaît toutefois intéressante pour les mélanomes de faible épaisseur (inférieure à 1 mm).

On distingue 5 niveaux dans la classification de Clark, avec un taux de survie qui est de l'ordre de :

* 95% pour le niveau II.

* 85% pour le niveau III.

* 80% pour le niveau IV.

* 55% pour le niveau V. [134]

Dans notre série, le niveau de Clark était à V chez 41% des patients, à IV chez 30%, à III chez 23% et à I chez 5%.

d. La régression [135, 136]:

Elle correspond à des critères histologiques bien définis : dépigmentation de la basale épidermique dépourvue de proliférations mélanocytaires, angiogénèse dermique, infiltrat inflammatoire du derme, lymphocytaire et macrophagique avec de nombreux mélanophages, fibrose dermique.

La régression minore souvent l'indice de Breslow.

Dans notre étude, aucun cas de régression n'a été enregistré.

e. Phases de croissance horizontale et verticale : [137,138]

Un mélanome en phase horizontale est un mélanome soit de niveau 1 soit de niveau 2 mais dont les amas de cellules tumorales dermiques superficiels sont de taille inférieure ou égale aux thèques de la composante intraépidermique.

Un mélanome de phase de croissance verticale est un mélanome de niveaux III, IV, ou V, ou un mélanome de niveau 2 dont les agrégats cellulaires dermiques superficiels sont plus volumineux que les plus grosses thèques intra-épidermiques ou contiennent au moins une mitose.

Les mélanomes en phase de croissance horizontale peuvent croître mais ne métastasent pas (mélanomes de bon pronostic), tandis que les mélanomes en phase

de croissance verticale sont capables de métastaser (mélanomes de mauvais pronostic).

Dans notre série, la tumeur était en phase d'extension verticale dans 70 % des cas, ce qui explique le niveau élevé de Clark élevé de nos patients, et le taux élevé des métastases (47% des malades).

1-2. Critères accessoires :

a-Le type tumoral [138] :

Les mélanomes de Dubreuilh ont un meilleur pronostic (80 % de survie à 10 ans) que ceux à extension superficielle (70 %) et que les formes nodulaires (50 %).

Pour ces deux derniers, il est à noter toutefois qu'à épaisseur égale le pronostic est le même.

Le mélanome muqueux est de mauvais pronostic.

Dans notre série, le seul cas de mélanome superficiel, a présenté une bonne évolution sans métastase ni récidive, alors que les 2 cas de mélanome de Dubreuilh ont présenté un mauvais pronostic avec survenue de métastases.

Les cas de mélanome nodulaire et acrolentigineux ont présenté une évolution variable.

Les 3 cas de mélanome muqueux (rectal, naso-sinusien et oculaire), ont présenté un mauvais pronostic (décédés).

b-L'invasion vasculaire [135] :

Considérée par plusieurs auteurs comme facteur pronostic indépendant. Elle diminue la survie avec un risque de métastases qui est évalué à 74 % contre 22 % pour les patients n'ayant pas d'invasion vasculaire. Ce paramètre serait plutôt prédictif pour un mélanome épais de plus de 4mm.

Dans notre série, l'extension vasculaire a été trouvée chez un seul cas qui correspond à un cas de mélanome rectal qui a présenté des métastases péritonéales et ganglionnaires.

c-L'index mitotique [135,139] :

Différentes méthodes sont utilisées pour évaluer l'index mitotique des tumeurs, la plus utilisée en routine clinique est l'évaluation du nombre de mitoses par 10 champs au fort grossissement (mitoses/10 HPF). Cette méthode pose cependant un problème de reproductibilité, parce que les champs d'un microscope n'ont pas de valeur universellement définie. Il est donc préférable de définir le nombre de mitoses par mm2. La valeur-seuil étant défini comme < 1mitose/mm2.

Certaines études ont montré le rôle d'un index mitotique élevé dans la diminution du taux de survie à 5 ans : 98,4% en absence de mitoses versus 63% lorsque l'index mitotique dépasse 6.

Dans, notre étude, le nombre de mitoses était en moyenne : 8 mitoses / 10 champs. Il varie de 2 à 26 mitoses / 10 champs.

d- Les lymphocytes infiltrants les tumeurs [135, 140, 141]:

Plusieurs études ont suggéré que la présence de lymphocytes infiltrant le mélanome est considérée comme un facteur de bon pronostic. Le taux de survie en présence de ce stroma réaction est 3 fois meilleur qu'en son absence.

e-Localisations satellites/ en transit [142]:

Elles réalisent des clones cellulaires capables de vivre indépendamment de la tumeur primaire. Elles sont ainsi assimilées à des formes agressives ; en effet, plusieurs études ont montré leur rôle dans la diminution du taux de survie à 5ans et dans l'augmentation du taux de récurrences.

2 – Au cours du stade régional :

2-1. Statut ganglionnaire et ganglion sentinelle [143]:

L'atteinte ganglionnaire attribue au pronostic une valeur très péjorative avec une survie de 16 à 69 % à 5 ans. Par ailleurs, il existe une différence significative entre les statuts micro-métastatique et macro-métastatique en terme de pronostic qui est relativement meilleur en cas de micro-métastases.

Actuellement, le statut du ganglion sentinelle occupe une place particulière dans l'évaluation du risque évolutif du mélanome. Sa positivité ou non est significativement corrélée au risque de rechutes et à la survie :

- Le taux de rechutes est de l'ordre de 10 à 11 % si GS est positif, et de 2 à 4 % si GS est négatif.

- Le taux de survie à 5 ans est de l'ordre de 92 % pour les patients ayant un GS négatif, contre 67 % pour ceux ayant un GS positif.

Dans notre étude, vu que la technique du ganglion sentinelle n'est pas disponible, les seuls cas à évaluer sont ceux qui présentent des métastases ganglionnaires.

2-2. Nombre des ganglions et La rupture capsulaire [144]:

Une fois qu'on détecte une micro-métastase dans un ganglion sentinelle, le nombre des ganglions doit être précisé car il est considéré comme un facteur pronostic.

Plusieurs auteurs, considèrent la rupture capsulaire ganglionnaire comme facteur de mauvais pronostic.

2-3. Ulcération [145]:

Déjà décrite au stade local, elle est aussi considérée comme facteur pronostic au stade régional.

Cependant les critères les plus importants pour le pronostic, sont le stade locorégional et ganglionnaire selon l'AJCC, ainsi la survie globale est variable en fonction des stades.

Tableau27 : Prédictions de survie à 5 ans et 10 ans en fonction du stade AJCC

	Survie à 5 ans	Survie à 10 ans
Stade I	93 %	85 %
Stade II	68 %	55 %
Stade III	45 %	36 %
Stade IV	11 %	6 %

C – Facteurs biologiques :

Leur rôle dans le pronostic ne cesse de s'accroître ces dernières années. Ils sont considérés comme des marqueurs biologiques de la progression du mélanome, et on distingue trois groupes : les métabolites liés à la mélanogenèse et à ses précurseurs, les antigènes non spécifiques et spécifiques associés au mélanome, enfin, les molécules adhésives : cytokines, protéines de l'inflammation ainsi que des enzymes. Les principaux marqueurs sont :

1- Lacticodéhydrogénases [135, 146]:

C'est un ensemble d'enzymes sériques dont l'augmentation dans le sang signifie l'existence de métastases viscérales. Ils sont considérés comme le facteur biologique indépendant le plus puissant qui est reconnu mondialement.

2- Antigènes associés au mélanome [147]:

Ce sont principalement la protéine PS 100 et la melanoma-Inhibiting Activity (MIA) :

La protéine S100 (PS-100) : sa concentration sérique est souvent corrélée à la survie des patients et au stade de la maladie.

Le melanoma inhibiting activity (MIA) est un nouveau marqueur sérique peu étudié jusqu'à présent. Il serait utile pour mieux classer les tumeurs primitives et suivre la progression de la maladie d'un stade local à un stade plus avancé.

3- Protéine C réactive [148]:

Un taux élevé du CRP prédit une diminution de la survie au cours du stade IV ainsi qu'une résistance à l'immunothérapie à base d'interleukine-2.

4- Métabolites et précurseurs de la mélanogenèse:

Le 5-S-cystéinyldopa.

L'élévation de ses concentrations sériques précéderait l'apparition clinique des métastases et leur détection par les méthodes conventionnelles (imagerie). Certains auteurs lui attribuent une valeur pronostique.

5- Marqueurs moléculaires de croissance et dissémination tumorale [149]:

Seule la protéine KI67, les cyclines A, la protéine P16 et la protéine P53 ont une valeur pronostique indépendante de l'épaisseur tumorale.

Récemment, la positivité de l'ARNm de la tyrosinase est considérée comme facteur de mauvais pronostic pour les malades de stade IV.

Dans notre série, la plupart de ces facteurs, (indice de Breslow élevé, l'ulcération dans 60%, un niveau de Clark élevé, siège nodulaire (26%), siège muqueux chez 2 patients, l'index mitotique élevé (en moyenne 8M/10CFG) et la présence de métastases viscérales (ganglionnaire, pulmonaire, osseuse, surrénalienne, hépatique et cérébrale) au moment du diagnostic), ont été retrouvés ce qui explique le taux de mortalité élevé (30 %) chez nos patients.

CHAPITRE XI : TRAITEMENT – SURVEILLANCE.

A- TRAITEMENT DU MELANOME : [150].

I. Au stade de la tumeur primitive

1. Traitement chirurgical [151]

L'exérèse chirurgicale est essentielle puisqu'elle permet de faire le diagnostic et constitue le seul traitement potentiellement curatif du mélanome. Une fois l'exérèse initiale réalisée, une reprise chirurgicale emportant des marges de sécurité doit être effectuée. Son intérêt est d'éliminer les micrométastases locales qui pourraient se propager par voie hématogène. Les marges chirurgicales sont définies selon l'épaisseur du mélanome qui représente le principal facteur pronostique. Les recommandations concernant la taille de ces marges d'exérèse qui ont été établies à partir des données des différents essais ont récemment été réactualisées lors des SORS 2005 [151]. Ces recommandations sont les suivantes :

- pour les mélanomes « in situ » : marges de 0,5 cm ;
- pour les mélanomes $\leq$ 1 mm : marges de 1 cm ;
- pour les mélanomes de Breslow compris entre 1,01 et 2 mm : marges de 1 à 2 cm;
- pour les mélanomes de Breslow compris entre 2,01 et 4 mm : marges de 2 cm ;
- pour les mélanomes de Breslow supérieurs à 4 mm : marges de 2 à 3 cm.

Pour les mélanomes lentigineux (Dubreuilh ou MM acrolentigineux), lorsque l'épaisseur faible, ce qui est le plus fréquent, ne justifie pas de marges importantes, une marge minimale de 1 cm reste recommandée puisque plusieurs études [152] ont conclu à l'insuffisance des marges de 5 mm habituellement recommandées pour les mélanomes in situ en raison du caractère mal limité et souvent multifocal des mélanomes lentigineux expliquant un risque majeur de récidive. Lorsque cette marge de 1 cm ne peut pas être respectée pour des raisons anatomiques ou

fonctionnelles une marge réduite de 5 mm peut être acceptée sous couvert d'un contrôle histologique strict des berges (via l'utilisation de la chirurgie de Mohs ou de son équivalent). Le respect de ces marges nécessite souvent l'amputation d'une phalange pour les mélanomes des extrémités. [153].

2. Recherche et analyse du ganglion sentinelle dans la prise en charge initiale [154]

Il a été démontré que le curage ganglionnaire systématique n'apportait aucun bénéfice en termes de survie globale alors que la morbidité qu'il engendre est non négligeable. D'autres techniques ont donc été développées avec pour objectif de permettre une détection des éventuelles métastases ganglionnaires infracliniques tout en limitant la morbidité.

La technique du ganglion sentinelle permet d'identifier le premier relais ganglionnaire drainant le territoire de la lésion primitive appelé « ganglion sentinelle » (GS) à l'aide de l'injection périlésionnelle d'un colorant et d'un traceur radioactif. Le GS est ensuite prélevé et analysé à la recherche de micrométastases. Le ganglion doit être inclus en totalité après avoir été coupé en tranches de 3 à 5 mm, et l'immunohistochimie doit être utilisée sur au moins un niveau de coupe. Le protocole accepté par l'European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) peut également être adopté (20 coupes réparties en six niveaux séparés de 50, 100, 150, 200, et 250 µm avec alternance de coloration hématéine-éosine [HE] et d'immunohistochimie).

Si le bénéfice thérapeutique de cette technique est incertain et actuellement en cours d'évaluation, son intérêt pronostique est en revanche reconnu.

Les recommandations des experts (SORS 2005) [151] sont que l'exérèse du GS ne doit pas être proposée de façon systématique mais que son utilisation peut être proposée dans le cadre d'essais thérapeutiques ou de protocoles d'évaluation pour les mélanomes de plus de 1 mm de Breslow ou pour les mélanomes ulcérés.

3. Traitements adjuvants au stade initial[151,155].

De nombreux traitements ont été proposés afin de tenter d'améliorer le pronostic des patients à haut risque de récidive (Breslow > 1,5 mm), une fois l'exérèse chirurgicale de leur mélanome effectuée. Certains traitements ont fait la preuve de leur inefficacité et ne doivent donc pas être proposés (BCG thérapie, IL2, Lévamisole, chimiothérapie systémique, hormonothérapie, chimiothérapie sur membre isolé perfusé, radiothérapie).

L'immunothérapie a pour principe de tenter de stimuler les défenses immunitaires du sujet contre son mélanome. L'immunothérapie adjuvante par interféron qui utilise les propriétés immunomodulatrices et antiprolifératives de l'interféron alpha est la thérapeutique la plus employée. Les procédures vaccinales utilisent l'injection au patient d'antigènes spécifiques du mélanome afin d'obtenir une réponse immunitaire spécifique et d'aboutir au rejet des cellules tumorales.

L'interféron-alpha2a dispose d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) européenne pour les patients dits « à haut risque de récidive » c'est-à-dire les patients atteints d'un mélanome de Breslow supérieur à 1,5 mm sans atteinte ganglionnaire ni extension cutanée, et sans maladie décelable après exérèse chirurgicale. Aucun bénéfice en termes de survie globale n'a pu être mis en évidence mais un bénéfice en termes de survie sans récidive a été rapporté.

La place du PEG-interféron (interféron pégylé « retard ») et l'intérêt d'un traitement plus prolongé sont en cours d'évaluation.

Procédures vaccinales : elles s'adressent aux patients à haut risque de récidive de par leur Breslow ou de par l'occurrence d'une récidive cutanée ou ganglionnaire de mélanome. Leur utilisation se fait actuellement dans un cadre exclusif de recherche. Le BCG, les vaccins mélaniques et le GMK (vaccin ganglioside GM2) qui ont été testés chez des patients de stade II et III en monothérapie, versus placebo ou versus chimiothérapie (Dacarbazine [DTIC]) pour certains n'apportent aucun bénéfice en termes de survie (SORS 2005).

II. Au stade locorégional

Un certain nombre de mélanomes récidivent de façon locorégionale sous forme de métastases cutanées ou sous-cutanées. Lorsque ces métastases restent confinées au territoire situé entre la tumeur primitive et le premier relais ganglionnaire, on parle de métastases en transit.

La chirurgie est efficace lorsque le nombre de lésions est limité.

La thermo-chimiothérapie régionale est une option thérapeutique pour le traitement des mélanomes des membres. Le principe est de perfuser le membre après l'avoir isolé du reste du corps, avec un agent cytotoxique à très forte concentration. La chimiothérapie utilisée est habituellement le melphalan mais d'autres drogues peuvent être utilisées. Cette technique peut permettre d'obtenir un bon contrôle local, son bénéfice en termes de survie n'est toutefois pas prouvé et sa morbidité est réelle. La thermochimiothérapie n'est pas utilisable en routine car elle nécessite des installations bien particulières, notamment des circuits d'épuration extracorporelle.

La chimiothérapie locale par Miltéfosine (Miltex®) peut être efficace même si elle ne dispose pas de l'AMM dans cette indication. Il en est de même pour l'Imiquimod (Aldara®).

III. Au stade de métastases ganglionnaires [156]

1. Curage ganglionnaire

Le curage ganglionnaire reste le traitement de référence. La chirurgie doit compter au moins un curage de l'aire ganglionnaire atteinte mais il n'y a pas de consensus quant à la nécessité d'élargir le curage aux aires ganglionnaires adjacentes.

2. Traitement adjuvant avec réalisation du curage ganglionnaire

Le seul traitement ayant fait la preuve de son efficacité est l'interféron-alpha2b à fortes doses administré selon le protocole Kirkwood : 20 millions d'UI/m^2 par voie intraveineuse 5 jours sur 7 pendant 4 semaines, puis 10 millions d'UI/m^2 3 fois par semaine en sous-cutané pendant 48 semaines. Il a été démontré que ce traitement apporte un bénéfice en termes de survie sans récidive. Les données concernant l'amélioration de la survie globale sont plus controversées. Les effets secondaires sont importants et le traitement a un lourd impact sur la qualité de vie.

3. Radiothérapie

Elle peut être proposée à titre palliatif lorsque les lésions ganglionnaires sont inaccessibles à la chirurgie ou que la précarité de l'état général rend le patient inopérable.

IV. Au stade de métastases viscérales [157, 158,159]

Le traitement reste quasi exclusivement palliatif à ce stade, sauf en cas de lésion viscérale unique où des survies prolongées peuvent être observées.

1. Chirurgie

Elle peut être proposée en cas de lésion viscérale unique. Des survies à 5 ans de l'ordre de 20 % après exérèse de métastases pulmonaires et de 28-41 % après exérèse de métastases gastro-intestinales ont été rapportées.

2. Radiothérapie

Elle peut être proposée pour le traitement palliatif des métastases osseuses, des compressions médullaires, des métastases cutanées ou ganglionnaires inopérables, ou des métastases cérébrales multiples (radiothérapie pancérébrale).

La radiothérapie stéréotaxique (Gamma-Knife) est une technique de radiothérapie permettant de traiter de façon focalisée après repérage stéréotaxique des lésions cérébrales sans effraction de la boîte crânienne. Cette technique peut être proposée aux patients porteurs d'une métastase cérébrale unique en lieu et place de la chirurgie.

3. Chimiothérapie

La chimiothérapie de référence reste la Dacarbazine (Déticène®) qui est un analogue des bases puriques se comportant comme un agent alkylant après activation hépatique. Les taux de réponse rapportés sont de 15 à 23 %, avec un taux de réponse complète de seulement 5 %. Les schémas d'administration varient selon les équipes avec des doses de 700 à 1000 mg/m^2 administrées sur 1 à 5 jours tous les 21 à 28 jours. Les métastases répondant le mieux à la Dacarbazine sont les métastases cutanées, ganglionnaires et pulmonaires.

Le Temozolomide (Temodal®), autre agent alkylant, offre l'avantage d'un passage de la barrière hématoméningée et d'une administration orale avec une efficacité identique à celle de la Dacarbazine.

La fotémustine (Muphoran®) reste la chimiothérapie de référence des métastases cérébrales car elle franchit la barrière hématoméningée.

Les nitroso-urées (BCNU, CCNU), les alcaloïdes de la pervenche (Vindésine) et le Cisplatine sont également utilisés en monochimiothérapie avec des taux de réponse de l'ordre de 10 % à 20 %.

L'utilisation de polychimiothérapies et poly-immuno-chimiothérapies a été proposée sur de petites séries de patients. Ces traitements ne sont pas employés en pratique.

4.Immunomodulateurs

L'interféron-alpha2 ne dispose plus de l'AMM dans l'indication mélanome métastatique bien que des taux de réponse de l'ordre de 15 % aient été rapportés dans la littérature.

L'IL2 peut être utilisée en monothérapie ou en association avec des taux de réponse de l'ordre de 15 à 25 % dont 5 % de réponses complètes. Ce traitement n'est pas utilisé en routine.

V. Traitements en cours d'évaluation [160]

Ces traitements ne sont pratiqués que dans le cadre de protocoles de recherche clinique. Leur principe est de stimuler les défenses antitumorales du patient contre son mélanome.

1. Vaccination antitumorale [161]

Le principe est d'identifier des antigènes cibles du mélanome qui peuvent être des antigènes de différenciation mélanocytaire (tyrosinase, gp100n, Melana/MART-1, gp75), ou des antigènes spécifiques de tumeur (Mage-1 à -3, Bage, Gage 1 et 2, Muc-1, Rage-1, NA-17), puis de les réinjecter aux malades afin d'induire une réponse immunitaire spécifique aboutissant au rejet des cellules tumorales. Ces vaccinations peuvent avoir pour cible d'une part les lymphocytes T cytotoxiques CD8 et les cellules *natural killer* (NK) dans le but d'exercer une activité tumorale directe et d'autre part les cellules présentatrices d'antigènes (macrophages ou cellules dendritiques) capables de stimuler les lymphocytes T CD8 via l'activation des CD4. L'utilisation des vaccinations peut se faire en monothérapie ou en combinaison à d'autres traitements immunomodulateurs (IFN, IL2, anti-CTLA4, GM-CSF). On

distingue actuellement trois grands types de vaccins : vaccins de première, de deuxième et de troisième génération

Pour le moment, les essais publiés dans cette indication sont peu nombreux et n'ont pas montré de bénéfice, voire étaient négatifs.

2. Modificateurs de la chimiorésistance

La protéine MGMT est une protéine de réparation de l'ADN dont le rôle dans la chimiorésistance au Témozolomide est établi. Deux molécules (le lomequatrib et le benzylguanine) agissant comme des pseudosubstrats de MGMT ont été développées et font actuellement l'objet d'essais thérapeutiques. De la même manière, des agents inhibiteurs de la poly (ADP-ribose) polymérase, elle aussi impliquée dans la chimiorésistance au Témozolomide, sont en cours d'évaluation [162].

3-Les anti-CTLA4 [163,164]

Principe

Ce sont des anticorps monoclonaux dirigés contre la molécule CTLA-4, qui est un frein physiologique sur la costimulation entre les cellules présentatrices d'antigènes et les lymphocytes. En bloquant le CTLA4, le rétro-contrôle négatif sur la stimulation lymphocytaire n'a plus lieu, et le système immunitaire est activé de manière non spécifique.

Molécules

Deux molécules sont en cours de développement, l'Ipilimumab (BMS, Medarex) et le Tremelimumab (Pfizer).

Les résultats de phase I/II n'ont pas montré de réelle supériorité en taux de réponse mais les réponses observées sont importantes et surtout prolongées.

Ces réponses sont souvent retardées, survenant parfois plus de 12 semaines après le début du traitement.

Les résultats d'une importante étude de phase III portant sur 500 patients randomisés en double aveugle sur 2 bras, Dacarbazine +/- Ipilimumab en phase métastatique (stade IIIc ou IV) sont attendus.

Effets indésirables

Ce traitement est cependant assorti d'effets secondaires de type auto-immun, parfois graves, dont les cibles sont principalement le tube digestif, la peau, le foie et l'axe hypothalamo-hypophysaire.

L'Ipilimumab :

L'Ipilimumab n'a pas encore d'AMM mais est disponible en ATU pour le traitement du mélanome métastatique :

- en 2ème intention ou plus après Dacarbazine (sans mutation de c-kit) ;
- en 3ème intention ou plus après Dacarbazine et Imatinib (avec mutation de c-kit).

L'an dernier, l'immunothérapie par Ipilimumab (3mg/kg) en première ligne a démontré une efficacité significative sur la survie moyenne par rapport à une vaccination tumorale (peptide gp100). Cette année une étude de phase III incluant 502 patients a comparé deux schémas thérapeutiques : Dacarbazine seule et Dacarbazine associée à Ipilimumab (10mg/kg).

Cette étude confirme le bénéfice de l'association ipilimumab + Dacarbazine sur la survie globale avec une diminution du nombre de décès de 28 %.

La durée de réponse est également significativement augmentée dans le bras associant l'Ipilimumab 19,3 mois *versus* 8,1 mois avec la Dacarbazine seule.

La manipulation d'un traitement par Ipilimumab est délicate et nécessite d'être réalisée dans des centres experts. Les effets indésirables sont essentiellement immunologiques (colite, thyroïdite, hypophysite,...).

Un partenariat entre les deux laboratoires développant l'Ipilimumab et le Vémurafenib (inhibiteur du Braf), est en cours de mise en place afin de tester

l'intérêt de l'association de ces deux stratégies thérapeutiques chez les patients porteurs de mutations de Braf.

4. L'immunothérapie [164,165,166]

Le système immunitaire joue un rôle important dans le développement du mélanome. Ceci est corroboré par l'observation de régressions spontanées de lésions primitives ou secondaires et d'un meilleur pronostic chez les patients présentant des stigmates d'auto-immunité (vitiligo...). Cette dernière donnée, la valeur pronostique de l'apparition d'une auto-immunité notamment sous interféron, est discutée et semble au contraire infirmée par d'autres études. Il existe plusieurs voies de stimulation du système immunitaire actuellement testées dans le mélanome métastatique.

L'interféron alpha et l'interleukine 2 ont fait l'objet de très nombreuses études et restent controversés. L'IL2 a obtenu une AMM aux Etats-Unis en phase métastatique devant de meilleurs taux de réponse parfois prolongé.

Néanmoins, les cytokines restent critiquées car les réponses obtenues se font sans réel prolongement de la survie globale et au prix d'une toxicité importante.

L'interféron alpha est actuellement le seul traitement à avoir l'AMM en situation adjuvante pour des mélanomes à haut risque de récidive (stade II et III).

L'usage de l'interféron reste très débattu notamment en raison d'une morbidité non négligeable, surtout à fortes doses.

L'immunothérapie adoptive par *tumour infiltrating lymphocytes*(TIL) [167].

Consiste à réinjecter les propres lymphocytes infiltrant les tumeurs des patients après les avoir amplifiés et activés ex-vivo. Cette technique permettrait d'obtenir 70% de réponses objectives et souvent prolongées.

Ces résultats ne tiennent pas compte des patients pour lesquels cette procédure n'a pas pu être réalisée (prélèvement de lymphocyte insuffisant) ou a dû être interrompue sur toxicité (lourds traitements de conditionnement).

5. Les cytotoxiques [168].

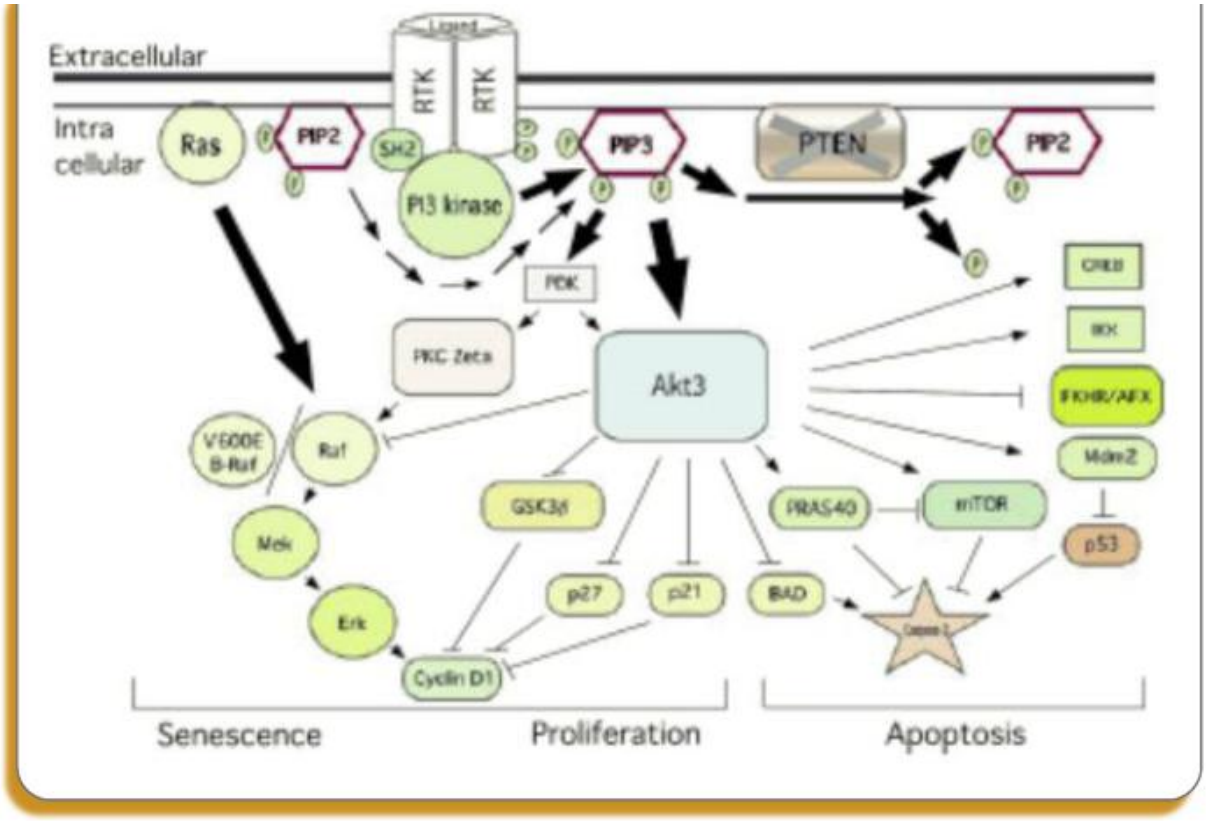
La recherche a peu progressé en c e qui concerne les cytotoxiques. Une molécule est actuellement en cours de développement, l'Abraxane ou Nab-Placitaxel. Cette molécule est composée de Placitaxel différent de la formulation classique par le remplacement du solvant par de l'albumine sérique, favorisant son transport à travers les cellules endothéliales.

Les premières études ont montré des résultats intéressants mais non supérieurs aux cytotoxiques déjà utilisés.

VI. Les thérapies ciblées

Ces dernières années, une meilleure connaissance de la biologie du mélanome a permis de mettre en évidence plusieurs altérations génétiques à l'origine et au maintien de la cellule cancéreuse (26). La voie la plus importante dans le mélanome, activée dans 75% des cas, est la voie des MAP-kinases, faisant intervenir en cascade plusieurs protéines kinases comme les protéines RAF, MEK et ERK en aval des récepteurs de facteurs de croissance et des protéines Ras. Cette activation peut être consécutive à différentes mutations sur l'oncogène N-RAS (15% des cas), l'oncogène BRAF (50 à 60% des cas). Ces mutations sont surtout retrouvées sur le mélanome de type SSM, et moins fréquemment sur les autres types de mélanome.

La voie PI3 kinase est également une voie de signalisation importante dans le mélanome qui peut être activée par délétion de PTEN ou par mutation d'AKT. Dans certains mélanomes (acro-lentigineux, muqueux, Dubreuilh), on observe dans 10 à 15% des cas une mutation activatrice du gène codant pour le récepteur Kit.



Interaction des voies de signalisation MAP Kinase et PTEN-AKT3. extrait de Madhunapantula SV, Robertson GP. The PTEN-AKT3 signaling cascade as a therapeutic target in melanoma. Pigment Cell Melanoma Res 2009;22:400-19.

Figure62 : Interaction des voies de signalisation MAP Kinase et PTEN-AKT3.

1. Inhibition de la voie de signalisation BRAF [169,170,171]

De nombreuses molécules inhibent les fonctions kinases de la protéine BRAF mutée ou l'une des protéines impliquées dans la cascade de signalisation.

Certaines de ces molécules sont en phase précoce de développement, mais deux molécules font déjà l'objet d'étude de phase III en sélectionnant les patients atteints de mélanomes Braf muté.

• PLX4032 ou RO 5185426 est un inhibiteur très spécifique et puissant de BRAF. Les résultats de la phase I ont été publiés à l'ASCO 2009 et à l 'ESMO 2009 (K Flaher t y ASCO 2009, P Chapman, ESMO 2009). Cette molécule suscite énormément d'espoir avec un taux de réponse rapporté de 70% chez les patients dont le mélanome est muté sur *BRAF*. De tels résultats n'avaient jamais été observés jusqu'à présent dans

le mélanome. Les résultats de la phase II sont attendus prochainement et la phase III est en cours.

Vémurafenib : est une petite molécule expérimentale prise par voie orale conçus pour inhiber une forme mutée de la protéine BRAF promotrice du cancer. il est indiqué dans les mélanomes métastatiques BRAF V600 positif. Les études de phase I et II avaient montré que les taux de réponse à l'anti-Braf (Vémurafenib) étaient supérieurs à 50 % chez les patients porteurs de mutation V600E. Une étude de phase III (BRIM3) compare le vémurafenib (960mg×2/j) avec le DTIC (1000mg/m^2 IV toutes les 3 semaines) en première ligne chez des patients (n=675) atteints d'un mélanome métastatique (IIIC ou IV) ayant la mutation V600E et non préalablement traités.

Les objectifs primaires étaient la survie globale et la survie sans progression, et les objectifs secondaires étaient le taux de réponse, la durée de la réponse et la tolérance ; 675 patients ont été inclus.

À 6 mois, la survie globale était de 84 % avec le Vémurafenib contre 64 % avec le DTIC. Le taux de réponse était de 48,4 % avec le Vémurafénib et de 5,5 % avec le DTIC et l'effet sur la survie sans progression était de 5,3 mois vs 1,6 mois. La diminution du risque de décès est de 67 %. Le Vémurafenib améliore donc la survie globale et la survie sans récidive des mélanomes porteurs d'une mutation V600E.

Ces résultats très encourageants ont permis de proposer au bout d'un an un amendement autorisant de passer les malades du bras DTIC dans le bras Vémurafenib en cas de progression.

Les effets secondaires du Vérumafénib étaient : éruptions cutanées, arthralgies, « rash », fatigue, alopécie, kératoacanthomes et CE, photosensibilité, nausées et diarrhées nécessitant une modification des doses chez 38 % des patients.

L'actualisation des études de phases II (BRIM2) ont été également présenté à l'ASCO 2011 (Ribas et al, Abtr 8509). Cette étude a inclus 132 patients et l'objectif

primaire était le taux de réponse. Le taux de réponse en deuxième ligne était comparable à celui de BRIM3 à savoir 52,3 %. Le taux de survie à 1 an était de 58 %. Au moment de cette présentation la médiane de survie globale n'était pas atteinte.

Dans ces études il a été montré que 25 à 30 % des patients traités sous vémurafénib développaient des CE.

Résistance aux anti-Braf [171].

Les taux de réponses exceptionnels obtenus avec le Vémurafenib sont malheureusement suivis d'une progression dans la grande majorité des cas après 6 à 8 mois. Des travaux sont en cours pour identifier les mécanismes de cette résistance. Dans la plupart des cas il s'agit d'une activation de la voie de la MAPK censée être inhibée par le traitement *via* des activations (liées ou non à des mutations) d'autres gènes de cette voie NRAS, MEK ERK ou par activation d'autres voies de signalisation (PI3K). L'utilisation de traitements combinés inhibant d'autres voies kinases pourrait, on l'espère, contrôler ce problème de résistance.

2.Inhibition du récepteur C-Kit [172,173,174].

Les mélanomes muqueux et acrolentigineux ont peu de mutations de Braf ou Nras et au contraire sont porteurs de mutations (surtout exons 11 et 13) ou d'amplification de c-Kit.

Plusieurs inhibiteurs du récepteur Kit sont déjà commercialisés et sont actuellement testés dans les mélanomes présentant une mutation de c-KIT.

L'imatinib Glivec®, molécule princeps, est utilisée pour le traitement des tumeurs stromales et des leucémies myéloïdes chroniques.

L'Imatinib (GLIVEC®) a une AMM dans le dermatofibrosarcome non opérable d'emblée.

L'Imatinib n'a pas d'AMM dans le traitement du mélanome métastatique mais il a été retenu par le GROUM :

•en traitement de 1ère ligne des mélanomes muqueux métastatiques avec mutation de c-kit ;

•en traitement de 2ème ligne des mélanomes métastatiques muqueux, acrolentigineux ou en zone exposée, avec mutation de c-kit, après échec de la Dacarbazine ou de la Fotémustine en cas de métastases du système nerveux central.

Quelques cas de patients polymétastatiques ayant répondu de façon rapide et impressionnante sous imatinib ou autres inhibiteurs de kit ont été rapportés. La réponse au traitement parait corrélée à la présence de la mutation activatrice du récepteur c-KIT.

La surexpression du récepteur (CD117) seule semble insuffisante et non prédictive de réponse tumorale.

Plusieurs essais sont en cours actuellement avec le Dasatinib, l'Imatinib, Nilotinib et des molécules plus récentes.

Dans une étude de phase II 43 patients ayant des mélanomes métastatiques et porteurs d'anomalies de c-Kit ont été traités par Imatinib (400mg/j).

Les doses étaient augmentées jusqu'à 800mg/j chez les patients en progression. La médiane de suivie était de 12 mois. Le taux de réponse était de 53,5 % : 10 patients ont eu une réponse partielle (RP) soit 23,3 % et 13 une stabilisation (S) de la maladie soit 30,2 %.

Une régression tumorale était observée chez 18 patients (41,9 %). La médiane de survie sans récidive chez les patients en RP ou S était de 9 mois versus 1,5 mois chez les patients en progression.

De même la médiane de survie globale était de 15 mois dans le groupe des répondeurs *vs* 9 mois dans le groupe des non répondeurs. L'Imatinib à la dose de 400mg a une efficacité anti tumorale dans les mélanomes métastatiques porteurs

d'anomalies de C kit. Dans ce travail l'augmentation de la dose à 800mg chez les non répondeurs n'a pas permis d'améliorer les résultats.

3. Inhibition de MEK [175].

MEK est une kinase agissant en aval de RAF sur la voie des MAPK. Plusieurs résultats préliminaires d'études utilisant des molécules anti MEK ont été présentés à l'ASCO 2011 (Gore L et al, abstr 3007 ; Leijen S et al, Abstr 3017 ; Houede N et al, Abstr 3019). Certaines de ces molécules auraient un effet inhibiteur à la fois sur RAF et sur MEK. Elles semblent bien tolérées et des réponses cliniques ont été observées. Une association d'anti-RAF et anti MEK dans une phase I-II incluant 45 patients a été rapportée (Infante JR et al, Abstr CRA8503). La tolérance a été satisfaisante et de manière intéressante aucun CE n'a été observé. Une réponse anti tumorale a pu être rapportée mais est toujours en cours d'évaluation.

L'AZD 6244 est un inhibiteur de MEK. Des résultats encourageants ont été observés en phase précoce de développement et les résultats de la phase III randomisée en double aveugle (Dacarbazine+/-AZD6244) sont attendus.

4.Inhibition de PI3Kinase [176].

L'activation de la voie AKT3 en inhibant l'apoptose favorise la prolifération cellulaire. Plus récemment, il a été démontré également que la protéine AKT3 inhibait la voie MAPKinase et favorisait ainsi le développement du mélanome.

Plusieurs molécules inhibitrices de la voie Pi3K/AKT3/mTOR sont en cours de développement dans le mélanome (30). Le temsirolimus n'a pas montré de résultats probants en phase II et les études n'ont pas été poursuivies.

Ainsi l'association d'inhibiteurs de plusieurs voies kinases va peut être permettre de résoudre les problèmes de résistance observés avec les anti-Braf.

5. Inhibition de l'angiogénèse [177,178].

L'inhibition de la néoangiogénèse tumorale est largement étudiée et a déjà trouvé sa place dans l'arsenal thérapeutique contre plusieurs cancers.

Le rôle pronostique de l'angiogénèse dans le mélanome reste discuté. Certaines études n'ont pas montré de corrélation entre l'angiogénèse et les récidives métastatiques dans le mélanome. D'autres, au contraire, rapportent une augmentation significative de la néoangiogénèse dans les mélanomes métastatiques comparés aux non métastatiques. Ces différences sont probablement liées aux différentes méthodes de quantification des néo-vaisseaux.

Plusieurs molécules anti-angiogéniques sont ou ont été testées dans le mélanome.

• La thalidomide a été le premier antiangiogénique utilisé. En monothérapie ou associée à différents cytotoxiques (Temozolomide, Dacarbazine, Interféron, Tamoxifène), cette molécule s'est montrée décevante.

• Le Bevacizumab Avastin®, est un anticorps monoclonal dirigé contre le VEGF (Vascular Epidermal Growth Factor) qui a déjà fait preuve de son efficacité dans le traitement de plusieurs cancers (colo-rectal, poumons). Dans le mélanome, le Bevacizumab en monothérapie s'est révélé également peu efficace. L'adjonction d'interféron à faible dose (1 millions d'unités par jour) ne semble pas améliorer les résultats dans une étude de phase II, portant sur 32 patients randomisés sur 2 bras (Bevacizumab +/- interféron). Plusieurs associations sont actuellement en cours d'étude avec l'Ipilimumab, le Temozolomide, taxol, le Sorafenib et le Temsirolimus.

• Le sorafenib Nexavar® est un inhibiteur des fonctions kinases des protéines Raf mais également de VEGFR-2, -3, PDGFR-β, Flt-3. Inhibiteur de BRAF et antiangiogénique par son effet inhibiteur sur les récepteurs de VEGF, il paraissait

donc un choix thérapeutique intéressant dans le traitement du mélanome métastatique

• Les intégrines sont des protéines membranaires assurant un lien entre la matrice et le cytosquelette intracellulaire endothélial, responsables de signaux de survie et de mobilité.

Deux intégrines ont déjà montré des résultats intéressants :

- l'anticorps monoclonal *CNTO95 Centocor*, inhibiteur de αvß5 et αvß3
- Le *Volociximab*, anticorps chimérique anti-α5ß1

6. Les pro-apoptotiques [179].

L'apoptose est une autre voie thérapeutique très étudiée ces dernières années dans le mélanome

L' Oblimersen Genasense, oligonucléotide anti-sens anti-Bcl-2 (protéine augmentant la résistance des mélanocytes tumoraux à l'apoptose)

L'Elescomol (STA-4783) est également un pro-aptotique, induisant une apoptose mitochondriale par stress oxydatif.

Une étude de phase III testant Paclitaxel associé à l'Elescomol ou placebo a été arrêtée de manière prématurée devant des résultats délétères dans le bras traité.

Le Tasisulam est actuellement comparé au Paclitaxel dans le cadre d'une étude de phase III, en deuxième ligne de traitement après échec de la Dacarbazine ou du Témozolomide.

B - SURVEILLANCE DES PATIENTS APRES TRAITEMENT [151]

La surveillance des patients ayant développé un mélanome a pour objectif la détection la plus précoce possible d'un nouveau mélanome ou d'éventuelles récidives locorégionales et à distance permettant de mettre en place les mesures thérapeutiques adéquates et rentables.

En revanche, si la surveillance régulière facilite la détection précoce des deuxièmes mélanomes, aucune étude n'a pu préciser si cette découverte précoce était due à l'éducation des patients, au protocole de surveillance lui même ou à d'autres facteurs. Par ailleurs, la déduction que cette découverte conduira à un traitement plus précoce et donc à une meilleure survie, n'a jamais été ni prouvée, ni écartée, et les résultats thérapeutiques actuels des mélanomes métastatiques sont très modestes. Ce qui pousse certains auteurs à considérer la recherche acharnée de ces métastases coûteuse et sans intérêt.

Compte tenu de ces données, les tests de surveillance se limitent en pratique à l'examen clinique. Les autres examens (radiographie du thorax, échographie ganglionnaire ou viscérale, tomodensitométrie ou imagerie par résonance magnétique nucléaire) ne sont réalisés qu'en cas de point d'appel clinique et ne sont par ailleurs performants que s'ils sont faits fréquemment (du fait de la croissance rapide des métastases).

De nombreuses propositions et réunions de consensus ont été faites dans divers pays. Leurs conclusions, bien que parfois divergentes, sont toutefois consensuelles sur les principales recommandations.

. L'ESMO (ou la Société Médicale Européenne d'Oncologie) propose une surveillance clinique tous les trois mois pendant deux ans, puis tous les six à douze mois pendant cinq ans pour un mélanome avec un indice de Breslow de moins de 1,5 mm et jusqu'à 10 ans pour un indice de Breslow de plus de

1,5mm.

- Le groupe suisse mélanome lémanique propose un rythme de surveillance explicité par le tableau suivant :

Fréquence des contrôles cliniques.

Mélanome primaire : stade I et II.

Années à partir du diagnostic	Breslow < 1mm	Breslow ≥ 1mm
1	6 mois	3 mois
2	12 mois	3 mois
3	12 mois	4 mois
4	12 mois	4 mois
5	12 mois	6 mois
Et suivantes «à vie »	6-12 mois	6 - 12 mois

Dès stade III.

Années à partir du diagnostic	Fréquence des contrôles
1	3 mois.
2	3 mois
3	3 mois
4	6 mois
5	6 mois
Et suivantes	6 - 12 mois

Contrôles radiologiques.

Stades I et II

Breslow < 1 mm	→	Aucun examen
Breslow ≥ 1 mm et < 4 mm	→	Pas de CT-scan thoraco-abdominal sauf si bilan initial pathologique
Breslow ≥ 4 mm	→	CT-scan cérébro-thoraco-abdominal 1x / 6 mois

Dès stade III: TDM cérébro-thoraco-abdominal

Années à partir du diagnostic	Fréquence des contrôles
1	6 mois.
2	6 mois.
3	6 mois.
Et suivantes	12 mois.

- La société allemande de dermatologie recommande une échographie abdominale, une radiographie pulmonaire, et des analyses sanguines complètes, à savoir : la vitesse de sédimentation, la fonction rénale, les phosphatases alcalines, les transaminases, la glutaryl-glutamyl transférase et la LDH, en plus de la protéine S100.
- Les Standards, options et recommandations concernant le mélanome cutané préconisent pour le suivi des patients traités pour un mélanome non métastasé (stades I, IIA, IIB, IIC de l'AJCCvii) :

- De stade I : un examen clinique complet tous les 6 mois pendant 5 ans puis tous les ans à vie, une éducation du patient à l'auto-examen et aucun examen complémentaire en dehors des signes d'appel (accord professionnel).
- De stade IIA et IIB : un examen clinique complet tous les 3 mois pendant 5 ans, puis une fois par an au-delà, une éducation du patient à l'autoexamen et, si besoin, une échographie loco-régionale de la zone de drainage tous les 3 à 6 mois (accord professionnel), mais aucun examen d'imagerie complémentaire n'est recommandé en dehors de signes d'appel ou pour les patients qui reçoivent un traitement adjuvant (décision au cas par cas).
- De stades IIC et III : un examen clinique complet tous les 3 mois pendant 5 ans puis une fois par an au-delà, une éducation du patient à l'auto-examen et, si besoin, une échographie loco-régionale de la zone de drainage tous les 3 à 6 mois (accord professionnel) ; des examens d'imagerie complémentaire (TEP-FDG, TDM abdomino-pelvienne,cérébrale ou thoracique) peuvent être pratiqués pendant les 5 premières années à la recherche de métastases à distance (leur fréquence est à adapter au cas par cas).

CHAPITRE XII:PREVENTION DU MELANOME. [180-185]

Le mélanome est facile à dépister et a peu de risque de disséminer lorsqu'il est diagnostiqué précocement. En outre, ses facteurs inducteurs (exposition solaire) sont maitrisables. Il est donc une tumeur idéale pour organiser la prévention.

Dans notre série, les malades viennent à un stade tardif avec des métastases locorégionales ou viscérales et avec un indice de Breslow et un niveau de Clark élevé, ce qui refléte le temps écoulé entre l'apparition des lésions et le délai de consultation et ainsi le manque des moyens efficaces de dépistage et de prévention des patients à risque dans notre population. D'où la nécessite de mise en œuvre des moyens plus efficaces pour l'amélioration de la prévention du mélanome.

1 – La prévention primaire du mélanome.

Elle vise à diminuer l'incidence de la maladie en agissant sur ses facteurs de risque.

1 - 1. Prévention primaire et soleil.

Les radiations ultraviolettes sont le seul facteur d'environnement impliqué dans la carcinogenèse du mélanome. Par ailleurs, elles sont incriminées dans la survenue des deux tiers de ce cancer. Ainsi la prévention du mélanome passe essentiellement par la réduction de l'exposition au soleil et aux ultraviolets artificiels (utilisés dans les bancs solaires). En fait, il ne s'agit pas seulement d'une éviction des coups de soleil et du bronzage mais aussi d'une diminution de l'exposition totale au soleil, qu'elle soit intentionnelle ou non intentionnelle, au cours des activités quotidiennes et professionnelles. Cette prévention est basée sur :

- La protection vestimentaire par des vêtements limitant au maximum les parties découvertes du corps, un chapeau à larges bords et des lunettes de soleil. A

noter que la fiabilité de cette protection dépend du tissu, de la texture, de l'épaisseur et de la couleur.

- L'éviction des heures d'ensoleillement intense, ce qui implique une protection pendant les périodes estivales allant de fin mai au début septembre, ainsi qu'entre 12h et 16h de la journée.
- L'utilisation d'écrans solaires filtrant à la fois les ultra violets A et B, d'indice de protection élevé (FPS 30 au minimum), en quantité suffisante, avec renouvellement toutes les 2 heures. Cependant, le rôle de ces produits dans cette protection est encore discuté. Des études récentes suggèrent qu'ils ont un rôle dans la diminution d'apparition des naevi, mais leur action préventive vis-à-vis du mélanome n'est pas prouvée. En plus, leur action protectrice contre les coups de soleil et retardatrice de l'erythème solaire peut encourager à des expositions plus prolongées avec augmentation des risques de mélanocarcinogenèse. Ils doivent donc être utilisés uniquement comme un moyen complémentaire à la protection vestimentaire.

1 – 2. Prévention primaire et naevus.

L'exérèse prophylactique des lésions naeviques est sans intérêt. Par contre, l'exérèse systématique d'un naevus congénital de grande taille semble justifiable puisque le risque de dégénérescence peut aller jusqu'à 12%. Mais, celle-ci n'est pas toujours faisable du fait de la perte esthétique majeure et l'association à des anomalies complexes du système mélanocytaire, d'autant plus que les méthodes curatives de ces naevi n'ont pas fait preuve d'efficacité.

2 – La prévention secondaire du mélanome.

Elle a pour but de diminuer la morbidité et la mortalité de la maladie en posant le diagnostic à un stade précoce. Ce diagnostic précoce impose une action de surveillance qui se divise en deux catégories :

2 – 1. Dépistage de masse :

L'objectif de ce dépistage est de guetter les premières manifestations de la lésion mélanique, notamment l'apparition d' :

- Une tache noire ou brun foncé, irrégulière, polychrome, de plus de 6 mm de diamètre.
- Un nodule de couleur noire, ferme, arrondi, de croissance rapide (quelques semaines), ulcéré, croûteux ou suintant.
- Un nævus dont l'aspect est très différent des autres nævus du patient, d'autant plus que ce nævus sera apparu ou modifié récemment.

En pratique, les outils sémiologiques les plus utilisés sont la règle d'«ABCDE» et le signe du « vilain petit canard ».

2 – 2. La surveillance du sujet à risque :

Le screening de toutes les populations à risque est le vrai challenge dans la prévention secondaire du mélanome. Toutefois, la définition de cette population est excessivement difficile. Des méta-analyses de Gandini et al. ont permis d'identifier les caractéristiques génétiques ou phénotypiques pour lesquels le risque de développer le mélanome est ≥ 2 :

- La présence de nævus atypiques ($n \geq 2$, RR = 2,6).
- Plus de 40 lésions mélanocytaires ou nævus communs (le risque étant d'autant plus élevé que le nombre de nævus est grand).
- Les antécédents personnels de mélanome (RR = 4,3).
- Les cheveux roux (RR = 3,6), ou blonds (RR = 2,0).

- Les antécédents de brûlures solaires du 2e degré (dans l'enfance, RR = 2,2).
- des éphélides nombreuses (RR = 2,1).
- Le phototype I (RR = 2,1).
- La peau de couleur claire (RR = 2,1).
- Les antécédents familiaux de mélanome.

La surveillance de cette population à risque suppose une fréquence suffisante, c'est-à-dire au moins quatre fois par an. Cependant, et pour des raisons économiques, tous les sujets ne peuvent pas être vus par un médecin tous les trois mois. Il nous faut donc enseigner l'auto-surveillance à la majorité et sélectionner les sujets qui nécessitent le plus une surveillance médicale. Il s'agit des sujets à haut risque, qui ont de plus des difficultés à s'auto-surveiller pour des raisons intellectuelles ou sociales, ou un grand nombre de naevi atypiques rendant difficile le repérage d'un éventuel mélanome.

L'efficacité de l'auto-examen a été démontrée dans plusieurs études ; sa pratique est statistiquement associée à un dépistage plus précoce des mélanomes ayant un indice de Breslow < 1 mm et permet de réduire le risque de mélanome métastasé; Ainsi il a été préconisé par les recommandations écossaises, néozélandaises, australiennes et américaines.

Ceci dit, l'auto-examen est associé à plusieurs difficultés notamment la mémoire visuelle des lésions entre deux examens de la peau. Grob suggère de faciliter l'autosurveillance par un support iconographique, mais cette méthode n'a malheureusement pas été évaluée.

A noter que l'efficacité de cet examen sera dépendante du degré de motivation des patients, et limitée par la difficulté d'examiner certaines régions de ses propres téguments, comme les fesses, le cuir chevelu, les régions rétroauriculaires Etc.

3 – Moyens à mettre en œuvre pour améliorer la prévention du mélanome :

La prévention du mélanome est un vrai problème de santé publique qui nécessite:

- Des campagnes d'éducation de la population générale sur la nécessité de protection solaire :

Elles permettent un accroissement significatif de la connaissance du risque dans la population bénéficiant de l'information sans aucun effet sur les comportements de protection soleil (effet du mode vestimentaire sur lequel aucune influence ne peut être exercée).

- Des campagnes de sensibilisation au mélanome et d'incitation au diagnostic précoce :

Plusieurs études ont montré que le nombre de sujets ayant recours à un médecin pour identifier une lésion mélanocytaire suspecte est supérieur dans les populations ayant reçu une éducation à l'autodiagnostic du mélanome
(21% versus 11%, $p<0,001$).

- La formation des professionnels de santé :

Le rôle du médecin est déterminant dans la sensibilisation des patients à la prévention primaire et l'identification du mélanome. Il doit avoir une bonne connaissance de la sémiologie des mélanomes. Des campagnes d'information auprès du milieu médical sont donc nécessaires ; elles permettent une augmentation significative du nombre des mélanomes diagnostiqués, avec une nette diminution de l'épaisseur des mélanomes identifiés.

Des ressources doivent être mobilisées pour pérenniser l'efficacité de ces campagnes car même si elles permettent d'augmenter la détection des mélanomes

et/ou de modifier le comportement des populations en matière de photoprotection, leurs résultats ne se maintiennent pas dans le temps.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le mélanome est une tumeur maligne développée aux dépens des mélanocytes. Son incidence est en augmentation constante dans le monde.

L'objectif de notre travail est d'étudier les aspects cliniques , anatomopathologiques, moléculaire, thérapeutiques et pronostiques des mélanomes à travers une étude rétrospective ,portant sur des prélévements colligés au laboratoire d'anatomie pathologique du CHU de Fès de 2009 à 2010.

L'âge moyen de nos patients est de 51.5 ans avec une prédominance féminine.

L'exposition solaire a été retrouvé chez 56% de nos patients ce qui appuis le rôle important et incriminé de l'exposition solaire dans la survenue du mélanome.

La localisation acrale est de loin la plus fréquente (43% de nos patients).

Sur plan anatomo-pathologique, la forme acro-lentigineux (31%) et nodulaire (27%) sont les plus fréquente, avec un indice de breslow d 8 mm en moyenne et un niveau de Clark varie entre IV et V chez plus de la moitié de nos patients, traduisant le retard diagnostic et par conséquence le manque des moyens efficaces de dépistage des patients à risque dans notre population.

Les mélanomes muqueux ne représentent que 13% de nos cas, ce qui concorde avec les données de la littérature en matière de la rareté de cet antité.

Cette étude, montre une fréquence élevée de facteurs de mauvais pronostic clinique et histologique.

Sur le plan moléculaire, on a trouvé une seule mutation du gène Braf correspondant à un cas de mélanome de type SSM et une expression immunohistochimique de Ckit chez 7 patients, d' où la nécessité de la recherche systématique de ces mutations dans les mélanomes primitifs à fort potentiel métastatique : B-RAF pour les mélanomes classés T3b ou plus (pour lesquels le

risque métastatique est de 50 %) et C-KIT dans les mélanomes primitifs acro-lentigineux et muqueux.

La technique de séquençage et de l'allèle spécifique utilisée, a réussi chez 50% de nos patients, vu qu'elle est la première fois réalisée dans le CHU de Fès, et vu le caractère étroit de notre série (23 cas). Ce qui nous incite à utiliser des séries plus larges dans l'avenir et d'améliorer les conditions de fixation et de préservation de l'ADN et d'éviter les échantillons trop pigmentés.

ANNEXES : Les observations des malades

Première observation :

M. MH âgé de 42 ans, sans antécédents pathologiques notables, qui avait présenté 2 ans avant son admission notion de rectorragies et de troubles de transit à type de constipation.

L'examen a trouvé un patient de phototype IV, avec au toucher rectale, on note une lésion de 4 cm, située à 10 cm de la marge anale et semblant fixée au plan du sphincter interne et s'étendant à la partie haute du canal anal en postérieure.

Une biopsie rectale a été réalisée sous ano-rectoscopie, a montré qu'il s'agissait d'un mélanome malin ulcéré avec un indice de Breslow à 7 mm.

Le bilan d'extension a montré la présence de métastase péritonéale et ganglionnaire.

Le patient a bénéficié d'une amputation abdomino-périnéale et une chimiothérapie adjuvante.

Un an après, le patient a été décédé.

Deuxième observation :

Madame Z.A, âgée de 80 ans, ayant comme antécédent une exposition solaire d'intensité moyenne, qui avait présenté 5 mois avant son admission une lésion prurigineuse de la joue, saignante au contact et qui a augmenté progressivement de volume.

L'examen a trouvé une patiente de phototype III qui présente une tumeur nodulaire de 3 cm de grand axe au niveau de la pommette gauche, de couleur rouge violacée, ulcérée au centre et saignante au contact, on a trouvé aussi 2 papules noirâtres à coté de la tumeur (métastase en transit) avec de multiples lentigos et lésions de kératose actinique.

Les aires ganglionnaires sont libres.

Une biopsie cutanée a été effectuée le 03/09/2009, dont l'examen anapath venant en faveur d'un mélanome sur mélanose de Dubreuil, avec un indice de Breslow à 4mm et un niveau de Clark à III .

Un bilan d'extension a été réalisé fait de TDM cérébrale et thoraco-abdominopelvienne a montré des masse tissulaires des parties molles de la face droite, s'étendant vers la graisse sous cutanée avec une localisation pulmonaire, médiastinale, hépatique et ganglionnaire.

La patiente a été adressé au service d'oncologie médicale pour complément de prise en charge où elle a bénéficié d'une chimiothérapie à base de Salaziopyrine et de méthotrexate, La patiente n'a pas terminé ses cure de chimiothérapie vu le manque de moyen puis elle a été perdue de vue.

Troisième observation

Monsieur M.L âgé de 55ans, ayant comme antécédent notion d'exposition solaire intense, opéré en Mars 2009 pour volvulus de sigmoïde, qui a présenté il y a 2 ans une lésion noirâtre au niveau de la joue droite, indolore, non prurigineuse et qui a augmenté progressivement de volume,un mois plus tard, le patient a accusé des douleurs thoraciques avec plusieurs épisodes d'hémoptysie et une dyspnée stade II, pour lesquels il a été hospitalisé au service de pneumologie où il a bénéficié d'une fibroscopie qui a révélé un bourgeon blanc bronchique avec à l'examen anapath : métastase bronchique d'un mélanome puis un avis dermatologique a été demandé pour sa lésion noirâtre avec réalisation d'une biopsie exérèse le 22/06/09 venant en faveur d'un mélanome sur mélanose de Dubreuil avec un indice de Breslow à 0.5 cm et un niveau de Clark à II.

L'examen a trouvé patient de phototype II qui présente une macule hyper pigmentée rigoureuse à la palpation au niveau molaire droit.

le patient a bénéficié d'une TDM cérébrale et thoraco-abdomino-pelvienne qui a montré une lésion secondaire cérébrale frontale gauche de 35 mm de diamètre et occipitale périlésionnelle avec effet de masse sur les sillons corticaux et un processus tissulaire volumineux lobaire inféro-droit avec extension vasculaire à l'oreillette gauche et ganglionnaire avec présence de multiples lésions hépatiques millimétriques.

Le patient a bénéficié d'une greffe cutané au niveau de site d'exérèse, puis il a été adressé au service d'oncologie pour complément de prise en charge, où il a bénéficié d'une radiothérapie cérébrale et d'une chimiothérapie.

Le malade a été décédé après 6 mois.

Quatrième observation:

Madame BM.A, âgée de 65 ans, qui présente comme antécédent notion d'exposition solaire moyenne avec notion de syndrome de naevus atypique, qui a présenté il y a 4 mois de son admission l'augmentation de la taille et la forme d'un naevus au niveau de l'épaule gauche, puis apparition d'une ulcération centrale au sein de cette lésion avec issue de liquide

séro-sanglant puis apparition d'une lésion en relief pigmentée au centre de cette ulcération.

L'examen a trouvé une patiente de phototype III, qui présente une lésion ulcérée et hyperpigmentée de 3 cm de grand axe, au niveau de l'épaule gauche.

Les aires ganglionnaires sont libres.

La patiente a bénéficié d'une biopsie exérèse le 06/05/09 avec à l'examen anapath venant en faveur d'un mélanome de type SSM ulcéré avec une composante

verticale, l'indice de Breslow a été à 3 mm et un niveau de Clark à IV avec des limites d'exérèse saines.

Le bilan d'extension a trouvé des micronodules pulmonaires avec une adénopathie médiastinale de moins de 1 cm.

La patiente a bénéficié d'une chirurgie exérèse avec une marge de 2 cm, avec une greffe de la peau par un greffon prélevé au niveau de la paroi abdominale avec des limites de résection saines.

Au cours du suivi, la patiente a bénéficié d'une TDM thoraco abdomino-pelvienne de contrôle chaque 6 mois pendant 2 ans avec stabilisation des lésions préexistantes.

Cinquième observation :

Monsieur A.A, âgé de 21 ans, qui présente comme antécédents notion de consanguinité de première degré, avec 2 sœurs suivies pour xéroderma pigmentosum, opéré il ya 8 ans pour tuméfaction de cuir chevelu, non documenté, qui a présenté 5 ans de son admission une tuméfaction au niveau de la région occipitale de la taille d'une lentille et qui a augmenté progressivement de volume et devenu de plus en plus douloureuse, alors il a bénéficié d'une biopsie exérèse le 05/06/09 venant en faveur d'une métastase ganglionnaire d'un mélanome. Par ailleurs, le patient a rapporté depuis l'âge de 15 ans, l'apparition de multiples lésions hyperpigmentées au niveau de visage et de décolletés avec notion de photosensibilité et de photophobie.

L'examen a trouvé un patient de phototype III, qui présente de multiples macules hyperpigmentées infra centimétriques au niveau de visage, la partie supérieure du dos et au niveau de décolletés avec à l'examen dermatoscopique, ils correspondent à des lentigines, avec la présence de 2 papules hyperpigmentées au

niveau sous angulo-mandibulaire associées à de multiples lésions de kératoses actiniques.

Le bilan d'extension montre 2 micronodules intraparenchymateux lobaires supéro-droit, un est calcifié avec de nombreux ganglions mésentériques sans caractère spécifique.

Le patient a bénéficie d'une électrocoagulation des lésions de kératose actiniques. La décision du staff RCP est de réaliser une exérèse avec curage ganglionnaire.

Au cours de suivi, le patient n'a pas présenté autre lésion.

Sixième observation :

Madame A.F âgé de 85 ans, qui a comme antécédent notion d'exposition solaire moyenne et qui a présenté 7 ans avant son admission, l'apparition d'une lésion noirâtre au niveau du talon gauche et qui a augmenté progressivement de volume, puis 5 ans après, une ulcération centrale a apparu avec issue de liquide séro-hémorragique. La patiente a bénéficié d'un traitement traditionnel mais sans amélioration.

L'examen a trouvé une tumeur ulcéro-bourgeonnante, volumineuse, de consistance molle, mesurant 7,5 de grand axe, siégeant au niveau du talon gauche.

L'examen anapath venant en faveur d'un mélanome acro-lentigineux exprimant le Melan A et l'HMB45 avec un indice de Breslow à 2 cm et un niveau de Clark à IV.

Le bilan d'extension a montré une masse surrénalienne gauche faisant suspecter un adénome surrénalien.

La patiente a bénéficié d'une amputation transtibiale gauche, avec surveillance de la masse surrénalienne.

Septième observation :

Monsieur H.R âgé de 30 ans, qui ne présente pas d'antécédents pathologiques notables, et qui a présenté 8 mois avant son admission, la modification de la taille et la forme d'un naevus congénital au niveau de la région mammaire gauche associée à des douleurs thoraciques et une dyspnée.

L'examen a montré un patient de phototype IV qui présente une tumeur cutanée pigmentée polylobée et mal limitée, de 3.5 de grand axe, au niveau de la région de la ligne axillaire.

Le patient a bénéficié d'une biopsie exérèse le 01/07/09 avec une marge de 2 cm.

L'examen anapath venant en faveur d'un mélanome nodulaire de niveau V de Clarck avec une épaisseur de 11 mm selon Breslow.

Les limites de résection périphériques et profondes sont saines.

Le bilan d'extension a montré des nodules parenchymateux et sous pleuraux droit avec pleurésie avec une localisation secondaire surrénalienne bilatérale associée à une carcinose péritonéale.

Un examen anapath a été réalisé pour les lésions suspectes à la TDM venant en faveur d'une tuberculose caséo-folliculaire, alors le patient a été traité par un traitement anti-bacillaire avec une bonne évolution.

Huitième observation :

Madame M.EB âgée de 70 ans, qui a comme antécédent une amputation du pied droit il y a 4 ans avant sans admission , à Rabat pour tuméfaction noire (mélanome) et qui a présenté 9 mois avant son admission une tuméfaction inguinale droite douloureuse, augmentant progressivement du volume pour laquelle elle a bénéficié d'une exérèse à l'hôpital provincial de El Majel le 08/08/09, l'étude

anapath a révélé un aspect histologique évoquant un mélanome malin pigmenté avec absence de reliquat ganglionnaire évident à la périphérie de la tumeur puis la patiente a été adressée chez notre formation pour complément de prise en charge.
L'examen a trouvé une patiente de phototype IV, qui présente une cicatrice de l'intervention inguinale droite avec de nombreux naevus dispersés sur tout le corps.
Une relecture des blocs a été faite, montrant un aspect histologique soit un mélanome ou une métastase ganglionnaire d'un mélanome avec absence de reliquats ganglionnaire évidente en périphérie de la tumeur. L'étude immunohistochimique a montré l'immunomarquage des cellules tumorales par le Melan A et la PS100.

Le bilan d'extension a montré une masse tumorale hypervasculaire, centrée sur l'aile iliaque droit avec des adénopathies inguinales bilatérales et des micronodules pulmonaires.
La patiente a bénéficié d'un curage ganglionnaire et d'une chimiothérapie.
La patiente a été perdue de vue.

Neuvième observation :

Madame F.C âgée de 49 ans, elle a comme antécédent la notion d'exposition solaire moyenne et qui a présenté il y a 2 ans de son admission une lésion noirâtre au niveau de la plante du pied gauche, augmentant progressivement de volume, prurigineuse et non douloureuse alors la patiente a bénéficié d'un traitement traditionnel par des points de feu, la lésion est devenue par la suite douloureuse et continue à augmenter de volume avec un suintement centrale ce qui a poussé la patiente à consulter dans notre formation.

L'examen a trouvé une patiente de phototype IV, qui présente une plaque bleu noirâtre au niveau de la plante du pied gauche, à contours irréguliers, à limites

nettes et à surface irrégulière, surmontée d'un enduit purulent, de consistance ferme, à base non indurée et de forme ovalaire, mesurant 4.5 cm de grand axe. L'examen dermatoscopique a montré une lésion hétérogène, asymétrique avec des zones brunâtres claires et d'autres plus foncées et des zones faite de voile blanc gris bleu avec des télangiectasies.

La patiente a bénéficié le 22/06/09 d'une biopsie exérèse avec une marge de 3 cm avec à l'examen anapath venant en faveur d'un mélanome nodulaire avec une épaisseur de 6 mm selon l'indice de Breslow et un niveau V de Clark. Le bilan d'extension a été sans particularité.

La patiente n'a pas présenté de récidive ou de métastase au cours de son évolution.

Dixième observation :

Madame A.B âgée de 82 ans, qui a comme antécédent la notion d'exposition solaire moyenne et qui a présenté 5 ans avant son admission une tumeur de taille d'une pomme, au niveau de la plante du pied gauche, douloureuse et suintante, augmentant progressivement de volume,la patiente a bénéficié d'une exérèse de la tumeur à 3 reprises avec notion de récidive.

L'examen trouve une tumeur ulcéro-bourgeonnante recouverte par la fibrine et le pus, mesurant 7 cm de grand axe, siégeant au niveau de la plante du pied gauche.

La patiente a bénéficié le 25/09/09 d'une exérèse profonde de la plante du pied gauche avec des marges d'exérèse larges.

L'examen anapath a montré un mélanome nodulaire ulcéré en surface avec un indice de Breslow à 20 mm et le niveau de Clark est à V.

Le bilan d'extension était sans particularité. Au cours des 2 ans de surveillance, la patiente n'a pas présenté de récidive ni de métastase.

Onzième observation

Madame S.M âgée de 18 ans, opérée il y a 10 ans pour un kyste hydatique du foie et qui a présenté 2 ans avant son admission une lésion noirâtre douloureuse, prurigineuse, augmentant progressivement de volume, siégeant au niveau de la plante du pied gauche.

L'examen trouve une patiente de phototype IV, qui présente une lésion noirâtre de 4 cm de grand axe, à contours irréguliers et à fond propre.

La patiente a bénéficié le 14/09/09, d'une biopsie exérèse avec une marge de 1cm latérale et 1 cm en profondeur.

L'examen anapath venant en faveur d'un mélanome acro-lentigineux avec un indice de Breslow à 1 mm et un niveau de Clark à III, les limites d'exérèse latérales et profondes ont été saines.

Le bilan d'extension trouve des kystes hydatiques péritonéaux avec des micronodules pulmonaires de taille moins de 4 mm.

La patiente a présenté une bonne évolution sans récidive ni métastase sur une durée de 2 ans de surveillance.

Douzième observation :

Monsieur E.A âgée de 56 ans, opéré il y a 2 ans pour une tuméfaction parotidienne avec à l'examen l'anapath venant en faveur d'une localisation parotidienne d'un mélanome avec une métastase ganglionnaire avec effraction capsulaire, puis le patient a été perdu de vue puis un an et demi plus tard le patient a présenté une tuméfaction de la partie inférieure du dos de 5 cm de diamètre,

douloureuse. L'évolution a été marquée par l'apparition d'autres nodules satellites et des nodules sous cutané, le tout évoluant dans un contexte d'amaigrissement et d'altération de l'état général.

L'examen trouve un patient de phototype IV qui présente une masse sous cutanée, de consistance dure au niveau de la région dorsale basse gauche, fixe par rapport au plan profond, non douloureuse, entourée de nodules satellites dont deux sont douloureuses et dont la peau en regard est violacée.

Présence aussi de multiples nodules et masses sous cutanées de consistance dure, mobile par rapport aux 2 plans, non douloureuse, dont la taille varie entre 1 et 3 cm de grand axe, disséminées sur tout le corps.

Le patient a bénéficié d'une biopsie exérèse le 04/06/09 venant en faveur d'une métastase cutanée d'un mélanome.

Le bilan d'extension a montré de multiples localisations secondaires pulmonaires, hépatiques, intra et retro péritonéales, surrénaliennes, rénales, spléniques et ganglionnaires.

Le patient a été adressé au service d'oncologie pour complément de prise en charge où il a bénéficié d'une chimiothérapie, mais sans amélioration.

Après un an, le patient a été décédé.

Treizième observation :

Madame R.B, âgée de 70 ans, ayant comme antécédent notion d'exposition solaire moyenne et qui a présenté 2 ans avant son admission une lésion nodulaire peu douloureuse, qui saigne au moindre contact au niveau de la plante du pied gauche.

L'examen a trouvé une patiente de phototype IV qui présente une tumeur bourgeonnante de la plante du pied droit, de couleur chair, mesurant 8 cm de grand

axe, arrondie, bien limitée et à grande base d'implantation avec infiltration de la peau per tumorale.

La patiente a bénéficié d'une biopsie exérèse le 06/05/09 avec une marge de 1.5 cm. L'examen anapath venant en faveur d'un mélanome acrolentigineux avec un indice de Breslow à 2 cm et un niveau de Clark à V avec des limites latérales et profondes tumorales.

Le bilan d'extension a montré une image cavitaire pulmonaire probablement en rapport avec une caverne surinfectée avec diffusion de l'infection vers le lobe avec à l'examen anapath, elle correspond à des remaniements inflammatoires chroniques non spécifiques.

Une amputation a été indiquée, mais la patiente a refusé et a été perdu de vu.

6 mois plus tard, la patiente a présenté un nodule plantaire droit, à coté du bord interne de la cicatrice de l'ancien exérèse, douloureux et augmentant progressivement de volume avec l'apparition à la suite d'un autre nodule au niveau de la face dorsale du pied droit.

L'examen a montré un nodule plantaire droit faisant 4cm de grand axe, de consistance molle, bien limitée, arrondie, fixe par rapport au plan profond, violacé et à surface télangiectasique.

Une TDM thoraco-abdomino-pelvienne de contrôle a été faite, montrant 3 nodules pulmonaires infracentimétriques.

La patiente a refusé toujours l'amputation. La chimiothérapie n'etait plus indiquée vu son âge.

Quatorzième observation

Monsieur E.M, âgé de 78 ans, opéré le 15/02/07 pour une régularisation de la deuxième phalange du pouce droit, à El Ghassani, non documenté avec la notion

d'exposition solaire intense et qui a présenté 2 ans de son admission l'apparition d'une tuméfaction noirâtre, douloureuse, augmentant progressivement de volume au niveau du même site de la première intervention (pouce droit).

L'examen a trouvé un patient de phototype IV et qui présente un nodule noirâtre de 1 cm de grand axe, ulcéré en surface et à bordure irrégulier.

Le patient a bénéficié le 01/03/09 d'une exérèse de l'excroissance tumorale avec une marge de 1 cm avec à l'examen anapath venant en faveur d'un mélanome nodulaire avec un indice de Breslow à 18 mm et le niveau de Clark est à V avec des limites de résection latérales et profondes et osseuses saines.

Le bilan d'extension a été sans particularité.

Le patient n'a pas présenté de récidive ni de métastase au cours de 2 années de surveillance.

Quinzième observation

Madame M.F âgée de 37 ans, sans antécédent pathologique notable, qui a présenté 6 mois avant son admission des sciatalgies et 3 mois plus tard des douleurs basithoraciques droite de type pleurale associée à une dyspnée d'aggravation progressive devenant de stade VI selon la classification de Sadoul.

L'examen trouve une patiente de phototype III, qui présente un syndrome d'épanchement liquidien de l'hémichamps thoracique inféro-droit avec une adénopathie sus claviculaire droite de 1.5 cm, dure, non douloureuse et mobile par rapport aux deux plans avec une adénopathie jugulo-carotidienne gauche de 0.5cm, mobile par rapport aux deux plans avec la présence d'une douleur à la palpation du rachis.

La patiente a bénéficié le 30/10/10 d'une thoracoscopie à visée diagnostique et thérapeutique qui a montré une atteinte nodulaire diffuse de la plèvre pariétale et

viscérale avec à l'examen anapath venant en faveur d'une métastase pleurale et rachidienne d'un mélanome exprimant le Melan A et l'HMB45.

Une TDM cervico-thoraco-abdomino-pelvienne et lombaire a été réalisée montrant un épanchement pleural droit de grande abondance, très discret à gauche avec de multiples adénopathies très hypodenses en majorité médiastinales antérieures, loges de Barety, hilaires gauches et sous carinaires dont la plus grande mesure 29mm, masse tissulaire prévertébrale à droite de l'aorte descendante mesurant 5 cm de grand axe.

Présence aussi d'un nodule pulmonaire gauche de 1cm, adénopathies cœliaques mesurant 28mm, associé à une tuméfaction de la région cervicale de l'utérus au niveau osseux avec la présence de lyses osseuses cervicales, thoraciques et iliaques bilatérales.

Présence aussi d'un processus lésionnel lytique des arcs postérieurs de L3 et L4 avec envahissement intra-canalaire.

Quelques mois plus tard, la patiente a présenté un état de choc, une embolie pulmonaire a été suspectée vu que l'echodoppler des membres inférieurs a montré une thrombose de l'ensemble du réseau veineux profond du membre inférieure gauche.

La patiente a été hospitalisée dans un service de réanimation puis elle a été décédée.

Seizième observation

Monsieur A.D, âgé de 75 ans, opéré pour un carcinome épidermoïde de la jambe gauche le 11/09 à Taza et qui a présenté un an de son admission (07/10), une lésion pigmentée de la plante du pied droit, augmentant progressivement de volume et devenant de plus en plus douloureuse et d'aspect ulcéro-végétant. Le

patient a essayé un traitement par les points de feu, mais sans amélioration, ce qui a motivé sa consultation dans notre formation.

L'examen trouve un patient de phototype IV, qui présente une lésion noirâtre ulcéro-bourgeonnante, à contours irréguliers, mesurant 5cm au niveau du tiers antérieure de la plante du pied droite.

Le patient a bénéficié d'une biopsie exérèse le 04/12/10 une marge de 2cm.

L'examen anapath venant en faveur d'un mélanome malin de type acro-lentigineux avec un indice de Breslow à 3.46mm et un niveau de Clark à IV avec des limites de résection latérales et profondes tumorales, donc une amputation a été indiquée mais le patient a refusé. Le bilan d'extension a été sans particularité.

1 an après, le patient a présenté une récidive locale mais il a refusé l'amputation.

Dix-septième observation

Monsieur EO.M âgé de 46 ans, ayant comme antécédent notion d'exposition solaire intense et qui a présenté un an et demi de son admission une macule noire lenticulaire pris à tort par le patient pour une épine ou une piqûre d'insecte de la plante droit, manipulé à 2 reprises par le patient avec une épine avec issue du sang et vu la non régression de la lésion, le patient a essayé un traitement par les points de feu, mais la lésion a continué à augmenter de volume, est devenue de plus en plus douloureuse et saignante au contact avec une gène fonctionnelle à la marche.

L'examen a trouvé une tumeur ulcéro-bourgeonnante, de couleur chaire, saignante au contact, ferme, de 8cm de grand axe, à large base d'implantation au niveau de l'avant pied droit.

Le patient a bénéficié d'une biopsie exérèse de la lésion le 21/08/10, avec à l'examen anapath un aspect en faveur d'un mélanome acro-lentigineux exprimant la PS100 et le Melan A avec un indice de Breslow à 20mm et un niveau de Clark à V,

Le bilan d'extension a montré la présence de multiples nodules et micronodules pulmonaires suspects vu leur taille et nombre (10 à 15mm de diamètre), la présence aussi d'une masse surrénalienne droit d'allure secondaire de 3.5cm de diamètre avec la présence de quelques adénopathies inguinales bilatérales de 7 à 9mm.

Le patient a bénéficié d'une amputation médio-tarsienne avec des marges d'exérèse saines avec une surrenalectomie et une chimiothérapie adjuvante.

6 mois plus tard, la TDM de contrôle a montré l'apparition de lésions nodulaires gastriques, biliaires, péritonéales et cérébrales avec stabilisation des lésions pulmonaires.

La décision a été de compléter par une radiothérapie cérébrale avec une chimiothérapie adjuvante.

Après un an le patient a été décédé.

Dix-huitième observation

Madame F.BM âgée de 60 ans qui a comme antécédent la notion d'exposition solaire moyenne et qui a présenté 3 ans de son admission après l'appui sur du feu par la plante du pied droit, l'apparition d'une cicatrice hyperpigmentée, de la taille d'une lentille avec issue de liquide clair et du sang, augmentant progressivement de volume et devenant douloureuse, le tout évoluant dans un contexte d'altération de l'état général.

L'examen a trouvé une patiente de phototype IV et qui présente une lésion ulcéro-bourgeonnante mesurant 7cm, siégeant au niveau de la plante du pied droit,

noirâtre, inhomogène, asymétrique, de contours irréguliers avec issue de pus et du sang.

La patiente a bénéficié d'une biopsie exérèse de la lésion le 07/04/10, des marges d'exérèse de 2.5 cm avec la couverture par un lambeau pédiculé de type plantaire interne.

A l'examen anapath, on a noté un aspect d'un mélanome acrolentigineux avec un indice de Breslow à 7mm et un niveau de Clark à V

Le bilan d'extension a montré des micronodules pulmonaires avec des adénopathies médiastinales qu'ils ont été biopsies par une médiastinoscopie avec l'examen anapath venant en faveur d'une tuberculose caséo-folliculaire.

La patiente a été mis sous un traitement antibacillaire pendent 6 mois.

Au cours de son évolution, la patiente n'a pas présenté de récidive ni de métastase.

Dix-neuvième observation

Madame M.H âgée de 40 ans, ayant comme antécédent la notion d'exérèse d'une lésion noire, augmentant progressivement de volume, indolore, non prurigineuse du lobule de l'oreille droit il ya 2 ans, sans document. La patiente a présenté trois mois avant son admission, l'apparition d'une nouvelle lésion papuleuse pigmentée et saignante au contact, à proximité de l'ancienne cicatrice.

L'examen a trouvé une patiente de phototype IV, qui présente une lésion papuleuse noirâtre, à contours irréguliers, saignante au contact.

La patiente a bénéficié d'une biopsie exérèse avec une marge de sécurité de 2 cm.

L'examen anapath a été fait le 21/12/10, montrant un mélanome nodulaire et ulcéré avec un indice de Breslow à 4 mm et un niveau de Clark à III.

Un bilan d'extension a été réalisé, montrant un nodule surrénalien droit en faveur d'un adénome.

La patiente a présenté une bonne évolution pendant 2 ans de surveillance, sans récidive ni métastase.

20 ème observation

Madame M.S âgée de 50 ans, sans antécédent pathologique notable, qui a présenté un an avant son admission, l'apparition sur un naevus congénital de la région lombaire droit d'un nodule du versant supéro-externe, saignant au contact.

L'examen a trouvé une lésion ulcéro-bourgeonnante, de contours irréguliers, hyperpigmentée, mesurant 7 de grand axe.

La patiente a bénéficié d'une biopsie exérèse le 14/05/10 avec une marge de 3 cm.

L'examen anapath a montré un mélanome nodulaire avec un indice de Breslow à 7 mm et un niveau de Clark à Iv avec des limites de résection saines. Le bilan d'extension a été sans particularité.

La patiente a présenté 2 ans après, une récidive locale.

21 ème observation

Mme B.F âgée de 50 ans, ayant comme antécédent la notion d'exposition solaire intense, qui a présenté 6 mois avant son admission, notion de diminution progressive de l'acuité visuelle de l'œil droite avec des douleurs oculaires paroxystiques et une pigmentation progressive de l'iris.

L'examen a trouvé une patiente de phototype II, une pigmentation noire des 2/3 de l'iris et une acuité visuelle effondrée (2/10).

La patiente a bénéficie d'une exentération de l'œil droite avec à l'examen anapath venant en faveur d'un mélanome intra-orbitaire, prenant naissance au niveau de la

choroïde et infiltre la naissance du nerf optique, la sclère et arrive jusqu'à la graisse péri-orbitaire.

Un bilan d'extension a été réalisé révélant la présence de métastases pulmonaires et ganglionnaires.

L a patiente a bénéficie de plusieurs cures de chimiothérapie.

La patiente a été décédée 8 mois après.

22 ème observation

Madame B.Z âgée de 32 ans, qui a comme antécédent notion d'exposition solaire moyenne, qui a présenté 3 ans avant son admission une lésion hyperpigmentée, à la taille d'une lentille au niveau de la pulpe du pouce, augmentant progressivement de volume, saignante au contact.

L'examen a trouvé une patiente de phototype IV, qui présente un nodule de 1.5 cm, noirâtre, hétérogène et ovalaire et hyperpigmenté,

siégeant au niveau de la pulpe de pouce gauche.

La patiente a bénéficie d'une biopsie exérèse le 09/10/10 avec un examen anapath venant en faveur d'un mélanome acro-lentigineux avec un indice de Breslow à 4 mm et un niveau de Clark à IV.

Le bilan d'extension a montré une infiltration tissulaire des 2 diaphyses humorales érodant et lysant la corticale.

La patiente a bénéficié d'une amputation de la pouce gauche avec une bonne évolution sans récidive ni métastase.

23 ème observation

Madame EB.H âgée de 51 ans, ayant comme antécédent la notion d'exposition solaire depuis l'enfance sans bronzage, qui a présenté 9 mois avant son admission,

l'installation de plusieurs épisodes d'épistaxis avec l'apparition d'une lésion intranasale gauche augmentant progressivement de volume avec une extension rapide débordant le nez sur une durée de 2 mois.

L'examen a trouvé une ulcération naso-malaire gauche de 5 cm de grand axe, à base indurée et au fond bourgeonnant, surmonté de la fibrine avec infiltration de la joue gauche.

La patiente a bénéficie d'une biopsie exérèse le 07/04/10 avec l'examen anapath venant en faveur d'un mélanome exprimant le Melan A et la PS100 avec un indice de Breslow à 10 mm .Le bilan d'extension a montré une extension naso-génienne gauche et dans la cavité buccale avec une localisation secondaire pulmonaire et ganglionnaire.

La patiente a bénéficié d'une chimiothérapie à base de carboplatine et paclitoxel.

La patiente a été décédée 6 mois plus tard par aplasie médullaire.

RESUME

Le mélanome est une tumeur maligne développée aux dépens des mélanocytes. Son incidence est en augmentation constante dans le monde.

L'objectif de notre travail est d'étudier les aspects cliniques, anatomopathologiques, moléculaires, thérapeutiques et pronostiques du mélanome à travers une étude rétrospective portant sur 23 cas dont les prélèvements avaient été adressés au laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques du CHU Hasan II à Fès de 2009 à 2010.

L'âge moyen de nos patients est de 54.56 ans, avec une prédominance féminine.

La localisation acrale est de loin la plus fréquente (43.47%).
Sur le plan anatomo-pathologique, le mélanome acro-lentigineux est retrouvé dans 35% (1/3) des cas.

L'indice de Breslow est de 8.42 mm en moyenne et le niveau de Clark était à V chez 7 patients (41%), IV chez 5 patients (30%),
Le diagnostic à un stade tardif intéresse 47% des cas.

Le suivi des patients est d'une durée moyenne de 21 mois.
Cette étude, montre une fréquence élevée de facteurs de mauvais pronostic cliniques et histologiques.

SUMMARY

Melanoma is a malignant tumor; Developed from mélanocytes, his incidence is in a constant increase in the world.

The aim of our work is to study clinicopathological features, molecular and prognosis of malignant melanoma in the region of Fez in Morocco. This is a retrospective study of 23 cases of melanoma diagnosed in anatomocytology's laboratory, at Hassan II University hospital of Fez, during the period of 2 years (2009-2010).

The mean age of the patients was 54, 56 years, with a predominance of women.

The most commonly involved location was acral.

The most common histological type was Acrolentiginous melanoma.

The men Breslow thickness of tumor was 8, 42mm, Clrak's level was V in 7 cases, and IV in 5 cases.

Diagnosis of melanoma was raised at a late stage in 47% of our patients.

The mean of following –up was 21 months.

Our study has proved that malignant melanoma is characterized by its poorer prognosis.

خلاصة

الورم الميلاني هوورم خبيث يتكون انطلاقا من الخلايا الميلانية،و انتشاره في تزايد مستمر في كل العالم

الهدف من هذا العمل هو القيام بدراسة سريري، تشريحية دقيقة،علاجية و تكهنية للورم الميلاني،وذلك من خلال ٢٣ حالة تم ارسال عيناتها الى مختبر التشريح و علم الخلايا المرضية في المستشفى الجامعي بفاس على مدى سنتين(٢٠٠٩ء٢٠١٠.(

متوسط عمر المرضى هو ٥٤ء٥٦ سنة،أغلبيتهم نساء.

تعد الأطراف أكثر المواقع عرضة للورم الطرفي و يتواجد في ٣٥% من الحالات(الثلث

مؤشر برسلو يعادل ٨٠٤٢ملم في المتوسط.كما أن مستوى كلارك ٥ يوجد عند ٧ مرضى،و المستوى٤ يوجد عند ٥ مرضى.تم التشخيص في دراستنا ل ٤٧% من الحالات أثناء مرحلة متأخرة.

المدة المتوسطة للمراقبة هي ٢١شهر٠

هذه الدراسة توضح ارتفاع نسبة العوامل التكهنية النسبية سواء السريرية النسيجية

BIBLIOGRAPHIE

[1] Protocol du laboratoire de l'oncogénétique du CHU de Fès

[2] Lipsker D, CribierB. Tumeurs cutanées épithéliales et mélaniques. Ann Dermatol Venereol 2003;130: 140-145

[3] CHRANG-SHI LIN, WEN-JEN WANG, CHU-KWAN WONG. Acral Melanoma. International Journal of dermatology. 1990, 29: 107-12.

[4] Structure de la peau. Ann Dermatol Venereol 2005; 132:8S5-48

[5] www.chups.jussieu.fr/polys/histo/histoP2/POLY.Chp.5.4.html#IMG59

[6] http:// belorient.42stores.com/pub/.schema_peau_m.jpg

[7] 1. Smalley K and Sondak V, Melanoma —An Unlikely Poster Child for Personalized Cancer Therapy, N Engl J Med, 2010

2. Davies MA and Samuels Y, Analysis of the genome to personalize therapy for melanoma, Oncogene, 2010

[8] gène atlas. http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/BRAFID828.html

[9] : Gaëlle COMBEAUX et al.,2006. thérapie anticancereuse ciblée. Thèse de doctorat.

[10] : Hmitou et al., MOL. CELL. BIOL., 2007. Differential Regulation of B-Raf Isoforms by Phosphorylation and Autoinhibitory Mechanisms. Molecular and cellular biology., 34,75-79.

[11]: Valluet A., Hmitou I., Davis S., Druillennec S., Larcher M., et al., 2010. B-RAF Alternative Splicing Is Dispensable for Development but Required for Learning and Memory Associated with the Hippocampus in the Adult Mouse. PLoS ONE, journal. PLoS ONE 5(12): e15272. doi:10.1371/journal.pone.0015272

[12]: Helen Davies.,Graham R. Bignell., Charles Cox., Philip Stephens., Sarah Edkins., Sheila Clegg., Jon Teague., Hayley Woffendin., Mathew J. Garnett.,et al. 27 JUNE 2002. Mutations of the BRAF gene in human cancer. NATURE ., 417, 949-954.

[13]: Namba H., Nakashima M., Hayashi T., Hayashida N., Maeda S., Rogounovitch TI., Ohtsuru A., Saenko VA., Kanematsu T., Yamashita S., (September 2004). "Clinical implication of hot spot BRAF mutation, V599E, in papillary thyroid cancers. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism., 89, 94264-4266.

[14]: Tan YH., Liu Y., Eu KW., Ang PW., Li WQ., Salto-Tellez M., Iacopetta B., Soong R., April 2008. Detection of BRAF V600E mutation by pyrosequencing. Pathology., 40,295–298.

[15]: Deng G., Bell I., Crawley S., Gum J., Terdiman JP., Allen BA., Truta B., Sleisenger MH., Kim YS., January 2004. BRAF mutation is frequently present in sporadic colorectal cancer with methylated hMLH1, but not in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. Clin. Cancer Res., 10,191–195.

[16]:: Maldonado JL., Fridlyand J., Patel H., Jain AN., Busam K., Kageshita T., Ono T., Albertson DG., Pinkel D., Bastian BC., December 2003. Determinants of BRAF mutations in primary melanoma. J. Natl. Cancer Inst., 95,1878–1890.

[17]:: Elisei R., Ugolini C., Viola D., Lupi C., Biagini A., Giannini R., Romei C., Miccoli P., Pinchera A., Basolo F., October 2008. BRAF(V600E) mutation and outcome of patients with papillary thyroid carcinoma: a 15-year median follow-up study. J. Clin. Endocrinol. Metab., 93,3943–3949.

[18]: Joshua D., Schiffman J.,Graeme Hodgson., Scott R., VandenBerg., et al. January 12, 2010. Oncogenic BRAF Mutation with CDKN2A Inactivation Is Characteristic of a Subset of Pediatric Malignant Astrocytomas. Cancer.Res .,70, 512-519.

[19]:Stéphane Dalle., Tanguy Martin-Denavit., Luc Thomas.,2006. Hypervariabilité Génotypique des mélanomes Un défi thérapeutique. MEDECINE/SCIENCES., 22 , 178-82.

[20]:Melissa Ann Wilson., and Katherine., L. Nathanson.,2012. Molecular Testing in Melanoma. The Cancer Journal.,18, 2.

[21]:Scott E., Woodman.,2012. Metastatic Uveal Melanoma. Biology and Emerging Treatments. The Cancer Journal.,18, 234-238

[22]: Yarden Y, Kuang WJ, Yang-Feng T, et al. Human proto-oncogene c-kit: a new cell surface receptor tyrosine kinase for an unidentified ligand. EMBO J. 1987;6:3341Y3351.

[23]: Woodman SE, Davies MA. Targeting KIT in melanoma: a paradigm of molecular medicine and targeted therapeutics. Biochem Pharmacol. 2010;80:568Y574.

[24]: Ronnstrand L. Signal transduction via the stem cell factor receptor/c-Kit. Cell Mol Life Sci. 2004;61:2535Y2548.

[25]: Carvajal RD, Antonescu CR, Wolchok JD, et al. KIT as a therapeutic target in metastatic melanoma. JAMA. 2011;305:2327Y2334.

[26]: Nischikawa S., Kusakabe M. , Yoshinaga K. , Ogawa M. , Hayashi S., Kunisada T., EraT. , (1991): Two distinct waves of C-Kit dependency during melanocyte development. EMBOJ.10, 2111-2118

[27]: Scott G. Ewing., Ryan D., And Abboud. C. (1994). Stem Cell factor regulates. Human melanocytes- matrix interaction. Pigment cell Res. 7, 44-51

[28]: chabot B.,Stephenson D.A,chapmanVM.,BesmerP.andBernsteinA(1988).The proto-oncogenec-kit encoding a transmembrane tyrosine kinase receptor maps to the mouse Wlocus.Nature 335,88-89

[29]: WitteO.N(19990).Steel locus definesnew multipotent growth factor.Cell.63,5-6.Spritz R.A.,GiebelL.B. and Holmes S. A. (1992). Dominant negative and loss of function mutations of the c-kit (mast/stem cell growth factor receptor) proto-oncogene in human piebaldism. Am. J . Hum. Genet. 50, 261-269 .

[30]. Mamot C, Rochlitz C. Targeting the epidermal growth factor receptor (EGFR)-a new therapeutic option in oncology ? swiss Med Wkly 2006 ; 136:4-12.

[31] . Kitamura Y. and Hirotab S. (2004). Kit as human oncogenic tyrosine kinase. Cell. Mol. Life Sci. 61, 2924-2931.

[32] . Went P.T. Dirnhofer S. Bundi M. Mirlacher M. Schraml P. Mangialaio S. Dimitrijevic S. Kononen J. Clin. Oncol. 22,4514-4522.

[33]. Lassam N . and Bickford S. (1992). Loss of c-kit expression in cultured melanoma cells. Oncogene 7, 51-56.

[34]. Chabot B, Stephenson DA, Chapman VM, et al. The proto-oncogene c-kit encoding a transmembrane tyrosine kinase receptor maps to the mouse W locus. Nature. 1988;335:88Y89.

[35]. Cable J, Jackson IJ, Steel KP. Mutations at the W locus affect survival of neural crestYderived melanocytes in the mouse. Mech Dev. 1995; 50:139Y150.

[36]. Huang S, Luca M, Gutman M, et al. Enforced c-KIT expression renders highly metastatic human melanoma cells susceptible to stem cell factorYinduced apoptosis and inhibits their tumorigenic and metastatic potential.

Oncogene. 1996;13:2339Y2347.

[37]. Natali PG, Nicotra MR, Winkler AB, et al. Progression of human cutaneous melanoma is associated with loss of expression of c-kit protooncogene receptor. Int J Cancer. 1992;52:197Y201.

[38]. Montone KT, van Belle P, Elenitsas R, et al. Proto-oncogene c-kit expression in malignant melanoma: protein loss with tumor progression. Mod Pathol. 1997;10:939Y944.

[39]. Lassam N, Bickford S. Loss of c-kit expression in cultured melanoma cells. Oncogene. 1992;7:51Y56.

[40]. Shen SS, Zhang PS, Eton O, et al. Analysis of protein tyrosine kinase expression in melanocytic lesions by tissue array. J Cutan Pathol. 2003; 30:539Y547.

[41]. Rubin BP, Singer S, Tsao C, et al. KIT activation is a ubiquitous feature of gastrointestinal stromal tumors. Cancer Res. 2001;61:8118Y8121.

[42]. Lux ML, Rubin BP, Biase TL, et al. KIT extracellular and kinase domain mutations in gastrointestinal stromal tumors. Am J Pathol. 2000; 156:791Y795.

[43]. Heinrich MC, Griffith DJ, Druker BJ, et al. Inhibition of c-kit receptor tyrosine kinase activity by STI 571, a selective tyrosine kinase inhibitor. Blood. 2000;96:925Y932.

[44]. Demetri GD, von Mehren M, Blanke CD, et al. Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors. N Engl J Med. 2002;347:472Y480.

[45]. Bastian BC, LeBoit PE, Hamm H, et al. Chromosomal gains and losses in primary cutaneous melanomas detected by comparative genomic hybridization. Cancer Res. 1998;58:2170Y2175.

[46]. Curtin JA, Busam K, Pinkel D, et al. Somatic activation of KIT in distinct subtypes of melanoma. J Clin Oncol. 2006;24:4340Y4346.

[47]. Lassam N . and Bickford S. (1992). Loss of c-kit expression in cultured melanoma cells. Oncogene 7, 51-56.

[48]. Davies H., Bignell G.R. Cox C. ,Stephens P., Edkins S., Clegg S. (2002). Mutations of the BRAF gene in human cancer. Nature 417, 949-954.

[49]. Keiran S. M. Smalley, Vernon K. Sondak and Jeffrey S. Weber. C-KIT signaling as the driving oncogenic event in sub-groups of melanomas; Histol Histopathol (2009) 24: 643-650

[50] Routier E., Benard J., Lacroix L., Tomasic G., Mateus C., Robert C. Mutations de KIT et de PDGFR dans les mélanomes acrolentigineux, muqueux, Dubreuilh et sans primitif retrouvé : série de 100 patients *Ann Dermatol Venereol* 2010 ; 137 : A70-A71

[51]. Mémoire de fin de spécialité à propos de mélanome des fosses nasales : A propos de 14 cas, aspects histologiques, immunohistochimiques et moléculaires. 09/2011.

[51]. Viros A., Fridlyand J., Bauer J., Lasithiotakis K., Garbe C., Pinkel D. , et al. Improving melanoma classification by integrating genetic and morphologic features PLoS Med 2008 ; 5 : e120

[52]. Curtin J.A., Busam K., Pinkel D., Bastian BC Somatic activation of KIT in in distinct subtypes of melanoma *J Clin Oncol* 2006 ; 24 : 4340-4346 [cross-ref]

[53]. Bauer J., Bastian B.C. Distinguishing melanocytic nevi from melanoma by DNA copy number changes: comparative genomic hybridization as a research and diagnostic tool *Dermatol Ther* 2006 ; 19 : 40-49 [cross-ref]

[54]. Carlson J.A., Ross J.S., Slominski A.J., Linette G., Mysliborski J., Hill J et al. Molecular diagnostics in melanoma *J Am Acad Dermatol* 2005 ; 52 : 743-775 [inter-ref

[55]. Kuan CT. Wikstrand CJ. Bigner DD.EGF mutant receptor vIII as a molecular target in cancer therapy. Endoctor relat cancer 2001. 8;83-96.

[56] Arnold D, Peinert S. Voigt W, Schmol1 HJ. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors : present and future role in gastrointestinal cancer treatment: A review oncologist 2006: 11: 602-11.

[57] Thompson LDR, Wieneke JA, Miettinen M. Sinosal tract and nasopharyngeal melanoma: A clinicopathologic study of 115 cases with a proposed staging system. Am J Surg Pathol 2003; 27: 594-611.

[58]. Mamot C, Rochlitz C. Targeting the epidermal growth factor receptor (EGFR)-a new therapeutic option in oncology ? swiss Med Wkly 2006 ; 136:4-12.

[59]. Schinozaki M, Fujimoto A, Morton DL, Hoon DS. Incidence of BRAF oncogene mutation and clinical relevance for primary cutaneous melanoma. Clin Cancer Res 2004;10:1753-7

[60]. Z.Rakosy, L.Vizkeleti, S.Ecsedi, Z.Voko et al. EGFR gene copy number alterations in primary cutaneous malignant melanomas are associatet with poor prognosis. Int. J. cancer : 121,1729-1737(2007)

[61] Van Elsas A, Zerp SF, van der Flier S, et al. Relevance of ultra-violet induced NRas Oncogene point mutations in development of primary cutaneous malignant melanoma. Am J Pathol 1996; 149:883-93.

[62] Chaudru V., Chompret A., Bressac-de Paillerets B., Spatz A., Avril M.F., Demenais F. Influence of genes, nevi, and sun sensitivity on melanoma risk in a family sample unselected by family history and in melanoma-prone families *J. Natl. Cancer Inst.* 2004 ; 96 : 785-795 [cross-ref]

[63] Auroy S., Avril M.F., Chompret A., Pham D., Goldstein A.M., Bianchi-Scarra G., et al. French Hereditary Melanoma Study Group. Sporadic multiple primary melanoma cases: CDKN2A germline mutations with a founder effect *Genes Chromosomes Cancer* 2001 ; 32 : 195-202 [cross-ref]

[64] Kennedy C, ter Hurne, J, Berkhout M et al. Melanocortin 1 Receptor MC1R gene variants are associated with an increased risk for cutaneous melanoma wich is largely independent of skin type and hair color. J Invest Dermatol 2001; 117: 294-300.

[64] Tomescu D., Kavanagh G., Ha T., Campbell H., Melton D.W. Nucleotide excision repair gene XPD polymorphisms and genetic predisposition to melanoma Carcinogenesis 2001 ; 22 : 403-408 [cross-ref]

[65] Delmas V., Beermann F., Martinozzi S., Carreira S., Ackermann J., Kumasaka M. , et al. Beta-catenin induces immortalization of melanocytes by suppressing p16INK4a expression and cooperates with N-Ras in melanoma development *Genes Dev* 2007 ; 21 : 2923-2935 [cross-ref]

[66] Shah KV, Chien AJ, Yee C, Moon RT. CTLA-4 is a direct target of Wnt/beta-Catenin signaling and is expressed in human melanoma tumors. J Invest Dermatol 2008 (in press).

[67] Stretch JR, Gatter KC, Ralfkiaer E, Lane DP, Harris AL. Expression of mutant p53 in melanoma. Cancer Res 1991; 51: 5976-9.

[68] Soengas MS, Capodieci P, Polsky D, et al. Inactivation of the apoptosis effectorAPAF 1 in malignant melanoma. Nature 2001; 409: 207-11

[69] Guldberg P, Thor Straten P, Birck A, Ahrenkiel V, Kirkin AF, Zeuthen J. Disruption of the MMAC1/PTEN gene by deletion or mutation is a frequent event in malignant melanoma. Cancer Res 1997; 57: 3660-3.

[70] Schneider S, Krämer H. Who uses sunbeds? A systematic literature review of risk groups in developed countries. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2010;24(6):639-48.

[71] Serraino D, Fratino L, Walter G, Campisi P, Pietroparlo M, Trimarco G et al. Epidemiological aspect cutaneous malignant melanoma. Oncol Rev 1998 ; 5 : 905-9.

[72] Balch CM, soong SJ, Atkins MB, Buzaid AC, Cascinelli N, Coit DG et al. An evidence based staging system for cutaneous melanoma. CA Cancer J Clin 2004; 54:131-149.

[73] Bennouna Biaz F, Ait-Ourhrouil M, habib-Dine, Lakhdar H, El Guedari B, Souadka A et al. Le mélanome au Maroc. Nouv Dermatol 1998; 17:56-59

[74] A. Romli. Le mélanome: etude à propos de dix cas et revue de la literature [Thèse]. Rabat : Université Mohammed V, 2005

A Case Series and Review of the Literature. Dermatol Surg 2007;33:1–10

[75] Registre de cancer de CHU de Fès.

[76] C. Gaudy-Marqueste, S. Monestier, J.-J. Grob. Mélanome. Encyclopédie médicochirurgicale 2007. 98-595-A-10

[77] Fervers B, Négrier S, Bailly C, Beckendorf V, Cupissol D, Doré JF et al. Edition John Libbey Eurotext ;FNCLCC, Mélanome cutané. 6SOR 1998.

[78] Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Abeni D, Boyle P, et al. Metaanalysis of risk factors for cutaneous melanoma: I. Common and atypical naevi. Eur J Cancer 2005;41(1):28-44.

[79] Watt AJ, Kotsis SV, Chung KC. Risk of melanoma arising in large congenital melanocytic nevi: a systematic review. Plast Reconstr Surg 2004;113(7):1968-74.

[80] Becher OJ, Souweidane M, Lavi E, Kramer K, Lis E, Marghoob AA, Khakoo Y. Large congenital melanotic nevi in an extremity with neurocutaneous melanocytosis. Pediatr Dermatol. 2009 Jan-Feb;26(1):79-82

[81] Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Zanetti R, Masini C, et al. Metaanalysis of risk factors for cutaneous melanoma: III. Family history, actinic damage and phenotypic factors. Eur J Cancer 2005;41(14):2040-59.

[82]Newton Bishop JA, Bishop DT. The genetics of susceptibility to cutaneous melanoma. Drugs Today 2005;41(3):193-203.

[83] Fazaa B, Zghal M, Bailly C, Zeglaoui F, Goucha S, Mokhtar I, et al. Melanoma in Xeroderma pigmentosum: 12 cases. Ann Dermatol Vénéréol 2001;128(4):503-6.

[84] Gandini S., Sera F., Cattaruzza M.S., Pasquini P., Picconi O., Boyle P., et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: II. Sun exposure *Eur. J. Cancer* 2005 ; 41 : 45-60 [cross-ref]

[85] Gandini S., Sera F., Cattaruzza M.S., Pasquini P., Zanetti R., Masini C., et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: III. Family history, actinic damage and phenotypic factors *Eur. J. Cancer* 2005 ; 41 : 2040-2059 [cross-ref]

[86] Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Picconi O, Boyle P, et al. Metaanalysis of risk factors for cutaneous melanoma: II. Sun exposure. Eur J

[87] A. Phan, S. Touzet,* S. Dalle, S. Ronger-Savle´, B. Balme and L. Thomas. Acrallentiginous melanoma: histopathological prognostic features of 121 cases. British Journal of Dermatology 2007 157, pp311–318

[88] P.KASKEL, P.KIND, S.SANDER, R.U.PETER AND G.KRAÈ HN Trauma and melanoma formation: a true association? British Journal of Dermatology 2000; 143: 749±753

[89] C.KUCHELMEISTER, G.SCHAUMBURG-LEVER AND C.GARBE. Acral cutaneous melanoma in caucasians: clinical features, histopathology and prognosis in 112 patients. British Journal of Dermatology 2000; 143: 275±280.

[90] Haute Autorité de santé - Service évaluation médico-économique et santé publique Rapport stratégie de prise en charge précoce du mélanome. – Octobre 2006

[91] Abbasi NR, Shaw HM, Rigel DS, Friedman RJ, McCarthy WH, Osman I, Kopf AW, Polsky D. Early diagnosis of cutaneous melanoma: revisiting the ABCD criteria. JAMA. 2004 Dec 8;292(22):2771-6.

[92] L. MAROT, B. WEYNAND. FORMES ANATOMOCLINIQUES : CRITÈRES POUR LE DIAGNOSTIC ET LA CLASSIFICATION DES MÉLANOMES. Louvain médical. 2007 ; 126, 6 : 201-209

[93] British Journal of Dermatology 1999; 141: 628–632. Nail melanoma: a review of the literature with recommendations to improve patient management C.C.BANFIELD AND R.P.R.DAWBER

[94] Ross M.I., Stern J. Mucosal melanoma Cutaneous melanoma St Louis: Quality Medical Publishing (1998). 195-206

[95] Ruiz-Maldonado R., Orozco-Covarrubias M.L. Malignant melanoma in children. A review *Arch. Dermatol.* 1997 ; 133 : 363-371

[96] Service de dermatologie, Hôpital Sainte-Marguerite, 270, boulevard de Sainte-Marguerite, 13009 Marseille, France. 2011

[97] C. Gaudy-Marqueste, S. Monestier, J.-J. Grob. Mélanome. EMC - Dermatologie 2007:1-14 [Article 98-595-A-10].

[98] R.-P. BRAUN, H. RABINOVITZ, M. OLIVIERO, A.-W. KOPF, J.-H. SAURAT , L.THOMA S.Dermatoscopie des lesions pigmentées. Ann Dermatol Venereol .2002;129:187–202

[99] Lipsker D, CribierB. Tumeurs cutanées épithéliales et mélaniques. Ann Dermatol Venereol 2003;130: 140-145

[100] A. Lavie, C. Desouches, D. Casanova, J. Bardot, J.-J. Grob, R. Legré, G. Magalon. Mise au point sur la prise en charge chirurgicale du mélanome

[101] Fouchardiere A. Melanoma. Académie internationale de pathologie (division française) 2004

[102] Photos de service d'anatomopathologie de Fès

[103] Académie internationale de pathologie. Diagnostic des tumeurs mélaniques. Edition 2002. P : 8-21

[104] Négrier S, Fervers B, Bailly Christiane. A propos de recommandations sur la prise en charge de patients attaints de mélanome. Presse Med 2000 ; 29 : 1295-1298.

[105] British Association of Dermatologists, U.K. guidelines for the management of cutaneous melanoma. British Journal of Dermatology 2002, 146, 7–17

[106] Payette MJ, Katz M 3rd, Grant-Kels JM. Melanoma prognostic factors found in the dermatopathology report. Clin Dermatol. 2009 Jan-Feb;27(1):53-74.

[107] Anna Batistatou, Martin G. Cook, Daniela Massi. Histopathology report of cutaneous melanoma and sentinel lymph node in Europe: a web-based survey by the Dermatopathology Working Group of the European Society of Pathology. Virchows Arch (2009) 454:505–511

[108] Iris Zalaudek, Gerardo Ferrara, Giuseppe Argenziano, Vincenzo Ruocco, H. Peter Soyer. Diagnosis and Treatment of Cutaneous Melanoma: A Practical Guide. Dermatology for clinicians. 2003, January . 20-33

[109] Roy King, Robert N, Paul B Googe and Martin C Mihm. Lentiginous melanoma: a histologic pattern of melanoma to be distinguished from lentiginous nevus. Modern Pathology (2005) 18, 1397–1401

[110] Bruce R Smoller. Histologic criteria for diagnosing primary cutaneous malignant melanoma. Modern Pathology (2006) 19, S34–S40

[111] Ivan R Bristow and Katharine Acland. Acral lentiginous melanoma of the foot and ankle: A case series and review of the literature. Journal of Foot and Ankle Research 2008, 1:11.

[112] Iris Zalaudek, Gerardo Ferrara, Giuseppe Argenziano, Vincenzo Ruocco, H. Peter Soyer. Diagnosis and Treatment of Cutaneous Melanoma: A Practical Guide. Dermatology for clinicians. 2003, January . 20-33

[113] Documents de pathologie humaine du service d'anatomie pathologique du CFB de Caen.Performed by Arnaud Legrand 2009.

[114] Nakhleh RE, Wick MR, Rocamora A, Swanson PE, Dehner LP. Morphologic diversity in malignant melanomas. Am J Clin Pathol 1990 ; 93(6):731-740.

[115] Magro CM, Crowson AN, Mihm MC. Unusual variants of malignant melanoma. Mod Pathol 2006 ; 19 Suppl 2:S41-S70.

[116] Banerjee SS, Harris M. Morphological and immunophenotypic variations in malignant melanoma.

[117] Di-cesare MP, Anlunes A, Truchetet F. Mélanome Encycl Med chir. Dermatologie. 98-595-A-10. 200 :15p

[118] Negrier S, Saiag P, Guillot B, et al. Standards Options Recommandations; SFD; FNCLCC; Institut National du Cancer; Ligue Nationale contre le cancer; FHF; Fédération Nationale de Cancérologie des CHRU; Fédération Française de Cancérologie. Recommandations 2005 pour la Pratique Clinique. Prise en charge des patients adultes atteints d'un mélanome cutané M0. Bull Cancer.2006 ; 93(4):371- 84.

[119]http://www.oncopaca.org/fr/professionnels/referentiels/id-22-prise-encharge- des-patients-adultes-atteints-d-un-melanome-cutane

[120] Koskivuo IO, Seppänen MP, Suominem EA, Minn HR.Whole body positron emission tomography in follow-up of high risk melanoma. ActaOncol.2007;46(5):685-90

[121] Akcali C, Zincirkeser S, Erbagcy Z, Halac M, Durak G, Sager S, Sahin E. Detection of metastases in patients with cutaneous melanoma using FDG-PET/CT. J Int Med Res.2007 Jul-Aug;35(4):547-53.

[122] Lasithiotakis K, Leiter U, Meier F, et al. Age and gender are significant independent predictors of survival in primary cutaneous melanoma. Cancer. 2008;112(8):1795-1804.

[123] Phyllis A. Gimotty, David E. Elder, Douglas L. Fraker, Jeffrey Botbyl, Kimberly Sellers, Rosalie Elenitsas, et al. Identification of High-Risk Patients Among Those Diagnosed With Thin Cutaneous Melanomas. J Clin Oncol 2007 ; 25:1129-1134.

[124] Zettersten E, Shaikh L, Ramirez R et al. Pronostic factors in primary cutaneous melanoma. Surg Clin N Am 2003; 83: 61-75.

[125] Schmidt CR, Panageas KS, Coit DG, Patel A, Brady MS. An increased number of sentinel lymph nodes is associated with advanced Breslow depth and lymphovascular invasion in patients with primary melanoma. Ann Surg Oncol. 2009 Apr;16(4):948-52. Epub 2009 Feb 5

[126] Willi JP, Matter M, Buchegger F, Antonescu C, Guggisberg D, Cerottini JPet al. Sentinel lymph node involvement and a high Breslow index are independent factors of risk for early relapse of melanoma.2007;46(6):244-51.

[127] Wagner JD.A role for FDG-PET in the surgical management of stage IV melanoma. 2004; 18/721-22;

[128] Eigentler TK, Buettner PG, Leiter U, Garbe Claus. Impact of ulceration in stages I to III cutaneous melanoma as staged by the American Joint Committee on Cancer staging system : an analysis of the german central malignant melanoma registry. J Clin Oncol. 2004; 22 : 4376-4383

[129] Balch CM, soong SJ, Atkins MB, Buzaid AC, Cascinelli N, Coit DG et al. An evidence based staging system for cutaneous melanoma. CA Cancer J Clin 2004; 54:131-149.

[130] Serraino D, Fratino L, Walter G, Campisi P, Pietroparlo M, Trimarco G et al. Epidemiological aspect cutaneous malignant melanoma. Oncol Rev 1998 ; 5 : 905-9.

[131] A. Phan, S. Touzet,* S. Dalle, S. Ronger-Savle´, B. Balme and L. Thomas. Acral lentiginous melanoma: histopathological prognostic features of 121 cases. British Journal of Dermatology 2007 157, pp311–318

[132] Henning JS, Dusza SW, Wang SQ, et al.: The CASH (color,architecture, symmetry,and homogeneity) algorithm for dermoscopy.J Am Acad Dermatol. 2007; 56:45-52.

[133] Balch C.M., Soong S.J., Gershenwald J.E., Thompson J.F., Reintgen D.S., Cascinelli N., et al. Prognostic factors analysis of 17, 600 melanoma patients: validation of the American Joint Committee on Cancer melanoma staging system *J. Clin. Oncol.* 2001 ; 19 : 3622-3634

[134] Balch CM, Soong S et al. Long term results of multi-institutional for intermediate thikness melanoma (1mm to 4mm). Intergroup melanoma, Surgical trial. Ann Surg Oncol 2000; 7: 87-97.

[135] Phyllis A. Gimotty, David E. Elder, Douglas L. Fraker, Jeffrey Botbyl, Kimberly Sellers, Rosalie Elenitsas, et al. Identification of High-Risk Patients Among Those Diagnosed With Thin Cutaneous Melanomas. J Clin Oncol 2007 ; 25:1129-1134.

[136] Warycha MA, Zakrzewski J, Ni Q, Shapiro RL, Berman RS, Pavlick AC, Polsky D, Mazumdar M, Osman I. Meta-analysis of sentinel lymph node positivity in thin melanoma (<or=1 mm). Cancer. 2009 Feb 15;115(4):869-79.

[137] Payette MJ, Katz M 3rd, Grant-Kels JM. Melanoma prognostic factors found in the dermatopathology report. Clin Dermatol. 2009 Jan-Feb;27(1):53-74.

[138] Académie internationale de pathologie. Diagnostic des tumeurs mélaniques. Edition 2002. P : 8-21

[139] Raymond L. Barnhill, Jason Katzen, Alain Spatz, Judith Fine and Marianne Berwick. The importance of mitotic rate as a prognostic factor for localized cutaneous melanoma. J Cutan Pathol 2005: 32: 268–273

[140] Darryl A. Oble, Robert Loewe, Ping Yu and Martin C. Mihm Jr. Focus on TILs: Prognostic significance of tumor infiltrating lymphocytes in human melanoma . Cancer Immunity 2009 Vol. 9, p. 3-23

[141] van Houdt IS, Sluijter BJ, Moesbergen LM, Vos WM, de Gruijl TD, Molenkamp BGet al. Favorable outcome in clinically stage II melanoma patients is associated with the presence of activated tumor infiltrating T lymphocytes and preserved MHC class I antigen expression. Int J Cancer. 2008 Aug 1;123(3):609-15.

[142] Troy F. Kimsey, T. Cohen, A. Patel, K. J. Busam, and M. S. Brady Microscopic Satellitosis in Patients with Primary Cutaneous Melanoma. Ann Surg Oncol (2009) 16:1176–1183

[143] G. Topar, K. Eisendle, B. Zelger and P. Fritsch . Sentinel lymph node status in melanoma: a valuable prognostic factor? British Journal of Dermatology 2006 154, pp1080–1087

[144] Kim C J, Reingten S, Balch CM. The new melanoma staging System. Cancer Control. 2002; 9 (1): Discussion 602-604.

[145] Balch CM, Soong SJ, Atkins MB, Buzaid AC, Cascinelli N, Coit DG et al. An evidence based staging system for cutaneous melanoma. CA Cancer J Clin 2004; 54: 131-149.

[146] Agarwala SS, Keilholz U, Gilles E, Bedikian AY, Wu J, Kay R, Stein CA, Itri LM, Suciu S, Eggermont AM LDH correlation with survival in advanced melanoma from two large, randomized trials (Oblimersen GM301 and EORTC 18951). Eur J Cancer. 2009

[147] Ahmad A. Tarhini, Joseph Stuckert, Sandra Lee, Cindy Sander, and John M. Kirkwood. Prognostic Significance of Serum S100B Protein in High-Risk Surgically Resected Melanoma Patients Participating in Intergroup Trial ECOG 1694. J Clin Oncol 2009 27:38-44.

[148] Serum amyloid A as a prognostic marker in melanoma identified by proteomic profiling. Findeisen P, Zapatka M, Peccerella T, Matzk H, Neumaier M, Schadendorf D, Ugurel S. J Clin Oncol. 2009 May 1;27(13):2199-208. Epub 2009 Mar 23.

[149]Allison R Larson, Eliz Konat and Rhoda M Alani. Melanoma biomarkers: current status and vision for the future.Nature clinical practice- oncologie. FEBRUARY 2009 vol 6 no 2

[150] C. Gaudy-Marqueste, S. Monestier, J.-J. Grob. Mélanome. EMC - Dermatologie 2007:1-14 [Article 98-595-A-10].

[151] Negrier S., Saiag P., Guillot B., Verola O., Avril M.F., Bailly C., et al. Clinical practice guideline: 2005 update of recommendations for the management of patients with cutaneous melanoma without distant metastases *Bull. Cancer* 2006 ; 93 : 371-384

[152] Bub J.L., Berg D., Slee A., Odland P.B. Management of lentigo maligna and lentigo maligna melanoma with staged excision: a 5-year follow-up *Arch. Dermatol.* 2004 ; 140 : 552-558 [cross-ref]

[153] Kenady D.E., Brown B.W., McBride C.M. Excision of underlying fascia with a primary malignant melanoma: effect on recurrence and survival rates *Surgery* 1982 ; 92 : 615-618

[154] Vuylsteke R.J., van Leeuwen P.A., Statius Muller M.G., Gietema H.A., Kragt D.R., Meijer S. Clinical outcome of stage I/II melanoma patients after selective sentinel lymph node dissection: long-term follow-up results *J. Clin. Oncol.* 2003 ; 21 : 1057-1065 [cross-ref]

[155] Grob J.J., Dreno B., de la Salmoniere P., Delaunay M., Cupissol D., Guillot B., et al. Randomised trial of interferon alpha-2a as adjuvant therapy in resected primary melanoma thicker than 1. 5 mm without clinically detectable node metastases. French Cooperative Group on Melanoma *Lancet* 1998 ; 351 : 1905-1910 [cross-ref]

[156] Kirkwood J.M., Strawderman M.H., Ernstoff M.S., Smith T.J., Borden E.C., Blum R.H. Interferon alfa-2b adjuvant therapy of high-risk resected cutaneous melanoma: the Eastern Cooperative Oncology Group Trial EST 1684 *J. Clin. Oncol.* 1996 ; 14 : 7-17

[157] Gaudy-Marqueste C., Regis J.M., Muracciole X., Laurans R., Richard M.A., Bonerandi J.J., et al. Gamma-Knife radiosurgery in the management of melanoma patients with brain metastases: a series of 106 patients without whole-brain radiotherapy *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2006 ; 65 : 809-816 [cross-ref]

[158] Eggermont A.M., Kirkwood J.M. Re-evaluating the role of dacarbazine in metastatic melanoma: what have we learned in 30 years? *Eur. J. Cancer* 2004 ; 40 : 1825-1836 [cross-ref]

[159] Middleton M.R., Grob J.J., Aaronson N., Fierlbeck G., Tilgen W., Seiter S., et al. Randomized phase III study of temozolomide versus dacarbazine in the treatment of patients with advanced metastatic malignant melanoma J. Clin. Oncol. 2000 ; 18 : 158-166

[160] N°42 - Tome 7 - octobre 2010 - RéfleXions en Médecine OncologiqueC h r i s t i n e Ma t e u s e t C a r o l i n e R o b e r t S e r v i c e d e D e r ma t o l o g i e . I n s t i t u t G u s t a v e R o u s s y

[161] Rosenberg SA, Yang JC, Restifo NP. Cancer immunotherapy:moving beyond current vaccines.Nat Med. 2004;10(9):909-15.

[162] Danson S., Lorigan P. Improving outcomes in advanced malignant melanoma: update on systemic therapy *Drug* 2005 ; 65 : 733-743 [cross-ref]

[163]. *Wolchok JD,Neyns B, Linette G, et coll. Ipilimumabmonotherapy in patientswith pretreated advancedmelanoma:a randomised,double-blind,multicentre,phase 2, dose-ranging study. Lancet Oncol 2010;11:155-64.*

[164] *BreunisWB,Tarazona-Santos E,Chen R, et coll. Influence of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA4) common polymorphisms on outcome in treatment of melanoma patients with CTLA-4 blockade. J Immunother 2008;31:586-90.*

[164]. *Quaglino P,Marenco F, Osella-Abate S, et coll. Vitiligo is an independent favourable prognostic factor in stage III and IV metastatic melanoma patients: results*

froma single-institution hospital-based observational cohort study. Ann Oncol 2010;21:409-14.

[165]. *BouwhuisMG, Suciu S,Testori A, et coll. Phase III trial comparing adjuvant treatmentwith pegylated interferon Alfa-2b versus observation:prognostic significance of autoantibodies--EORTC 18991. J Clin Oncol 2010;28:2460-6.*

[166]. *KeilholzU, Stoter G,Punt CJ, et coll.Recombinant interleukin-2-based treatments for advancedmelanoma: the experience of the EuropeanOrganization for Research and Treatment of CancerMelanoma Cooperative Group. Cancer J Sci Am1997;3 Suppl 1:S22-28.*

[167]..Rosenberg SA,DudleyME. Adoptive cell therapy for the treatment of patients withmetastaticmelanoma. Curr Opin Immunol 2009;21:233-40.

[168]..*Hersh EM, O'Day SJ, Ribas A, et coll. A phase 2 clinical trial of nab-paclitaxel in previously treated and chemotherapy-naive patients with metastatic melanoma.*

Cancer 2010;116:155-63.

[169]. Tap WD, Gong KW, Dering J, et al. Pharmacodynamic characterization. of the efficacy signals due to selective BRAF inhibition with PLX4032 in malignant melanoma. Neoplasia. 2010;12:637Y649.

[170]..Ragini Kudchadkar, MD,* Kim H.T. Paraiso, MS,Þþ and Keiran S.M. Smalley, PhD*ÞþThe Cancer Journal & Volume 18, Number 2, March/April 2012 Targeting BRAF in Melanoma Copyright © 2012 Lippincott Williams & Wilkins.

[171]..Xing F, Persaud Y, Pratilas CA, et al. Concurrent loss of the PTEN and RB1 tumor suppressors attenuates RAF dependence in melanomas harboring (V600E)BRAF. Oncogene. 2012;31:446Y457.

[172].*Terheyden P,Houben R,Pajouh P et coll.Response to imatinibmesylate depends on the presence of theV559A-mutated KIT oncogene. J Invest Dermatol 2010;130:314-6.*

[173].Guo J, Si L, Kong Y, et al. Phase II, open-label, single-arm trial of imatinib mesylate in patients with metastatic melanoma harboring c-Kit mutation or amplification. J Clin Oncol. 2011;29:2904Y2909.

[174]..Carvajal RD, Antonescu CR, Wolchok JD, et al. KIT as a therapeutic target in metastatic melanoma. JAMA. 2011;305:2327Y2334. Michael A. Postow, MD and Richard D. Carvajal, MDThe Cancer Journal & Volume 18, Number 2, March/April 2012 www.journalppo.com

[175].*Adjei AA, Cohen RB, FranklinWet coll. Phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of the oral, small-moleculemitogen-activated protein kinase kinase 1/2 inhibitor AZD6244 (ARRY-142886) in patients with advanced cancers. J Clin Oncol 2008;26:2139-46.*

[176].*Madhunapantula SV, Robertson GP. The PTEN-AKT3 signaling cascade as a therapeutic target inmelanoma. Pigment CellMelanoma Res 2009;22:400-19.*

[177]. *BusamKJ, BerwickM, Blessing K, et coll. Tumor vascularity is not a prognostic factor formalignant melanoma of the skin. AmJ Pathol 1995;147:1049-56.*

[178]. *Neitzel LT,Neitzel CD,Magee KL, et coll. Angiogenesis correlates with metastasis inmelanoma. Ann Surg Oncol 2008;6:70-4.*

[179].*O'Day S, Gonzalez R, Lawson D et coll. Phase II, randomized, controlled, double-blinded trial of weekly elesclomol plus paclitaxel versus paclitaxel alone for stage IV metastatic melanoma.* J *Clin Oncol 2009;27:5452-8*

[180] Wolff T, Tai E, Miller T. Ann Intern Med. Screening for skin cancer: an update of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force.. 2009 Feb 3;150(3):194-8. Review

[181] Aitken JF, Youl PH, Janda M, Lowe JB, Ring IT, Elwood M. Increase in skin cancer screening during a community-based randomized intervention trial. Int J Cancer 2006;118(4):1010-6.

[182] Bakija-Konsuo A, Mulić R. Educating people about importance of photoprotection: results of campaign on the islands in Dubrovnik area. Coll Antropol. 2008 Oct;32 Suppl 2:189-93

[183] Janda M, Lowe JB, Elwood M, Ring IT, Youl PH, Aitken JF. Do centralised skin screening clinics increase participation in melanoma screening (Australia)? Cancer Causes Control 2006;17(2):161-8.

[184] Stracci F. Cancer screenings, diagnostic technology evolution, and cancer control. Methods Mol Biol. 2009;471:107-36.

[185] Bataille V, de Vries E. Melanoma Part 1: epidemiology, risk factors, and prevention. BMJ. 2008 Nov 20;337:a2249.

[186] Photos de service de dermatologie de CHU de Fès.