BU Lyon 1

http://portaildoc.univ-lyon1.fr

FRASSETO

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
Liberté
Égalité
Fraternité

VetAgro Sup

CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2025 - Thèse n° 001

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LE FONCTIONNEMENT ET L'EFFICACITE DES THERAPIES LOCALES NON CHIRURGICALES DES PRINCIPALES TUMEURS CUTANEES DES EQUIDES

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 6 janvier 2025
Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par

FRASSETO Chloé

UNIVERSITÉ DE LYON

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
Liberté
Égalité
Fraternité

VetAgro Sup

CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2025 - Thèse n° 001

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LE FONCTIONNEMENT ET L'EFFICACITE DES THERAPIES LOCALES NON CHIRURGICALES DES PRINCIPALES TUMEURS CUTANEES DES EQUIDES

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 6 janvier 2025
Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par

FRASSETO Chloé

UNIVERSITÉ DE LYON

Liste des enseignants du Campus vétérinaire de Lyon

29/08/2024

Mme	ABITBOL	Marie	Professeur
M.	ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	Maître de conférences
Mme	ARCANGIOLI	Marie-Anne	Professeur
Mme	AYRAL	Florence	Maître de conférences
Mme	BECKER	Claire	Professeur
Mme	BELLUCO	Sara	Maître de conférences
Mme	BENAMOU-SMITH	Agnès	Maître de conférences
M.	BENOIT	Etienne	Professeur
M.	BERNY	Philippe	Professeur
Mme	BLONDEL	Margaux	Maitre de conférences
M.	BOURGOIN	Gilles	Maître de conférences
Mme	BRASSARD	Colline	Maitre de conférences (stagiaire)
M.	BRUTO	Maxime	Maître de conférences
M.	BRUYERE	Pierre	Maître de conférences
M.	BUFF	Samuel	Professeur
M.	BURONFOSSE	Thierry	Professeur
M.	CACHON	Thibaut	Maître de conférences
M.	CADORÉ	Jean-Luc	Professeur
Mme	CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Professeur
Mme	CANNON	Leah	Maître de conférences (stagiaire)
M.	CHABANNE	Luc	Professeur
Mme	CHALVET-MONFRAY	Karine	Professeur
M.	CHANOIT	Guillaume	Professeur
M.	CHETOT	Thomas	Maître de conférences
Mme	DE BOYER DES ROCHES	Alice	Professeur
Mme	DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	Professeur
Mme	DJELOUADJI	Zorée	Professeur
Mme	ESCRIOU	Catherine	Maître de conférences
M.	FRIKHA	Mohamed-Ridha	Maître de conférences
M.	GALIA	Wessam	Maître de conférences
M.	GILLET	Benoit	Maître de conférences
Mme	GILOT-FROMONT	Emmanuelle	Professeur
M.	GONTHIER	Alain	Maître de conférences
Mme	GREZEL	Delphine	Maître de conférences
Mme	HUGONNARD	Marine	Maître de conférences
Mme	JEANNIN	Anne	Inspecteur en santé publique vétérinaire
Mme	JOSSON-SCHRAMME	Anne	Chargée d'enseignement contractuelle
M.	JUNOT	Stéphane	Professeur
M.	KODJO	Angeli	Professeur
Mme	KRAFFT	Emilie	Maître de conférences
Mme	LAABERKI	Maria-Halima	Professeur
Mme	LAMBERT	Véronique	Maître de conférences
Mme	LE GRAND	Dominique	Professeur
Mme	LEBLOND	Agnès	Professeur
Mme	LEDOUX	Dorothée	Maître de conférences
M.	LEFEBVRE	Sébastien	Maître de conférences
Mme	LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	Maître de conférences
M.	LEGROS	Vincent	Maître de conférences
M.	LEPAGE	Olivier	Professeur
Mme	LOUZIER	Vanessa	Professeur

M.	LURIER	Thibaut	Maître de conférences
M.	MAGNIN	Mathieu	Maître de conférences
M.	MARCHAL	Thierry	Professeur
Mme	MOSCA	Marion	Maître de conférences
M.	MOUNIER	Luc	Professeur
Mme	PEROZ	Carole	Maître de conférences
M.	PIN	Didier	Professeur
Mme	PONCE	Frédérique	Professeur
Mme	PORTIER	Karine	Professeur
Mme	POUZOT-NEVORET	Céline	Professeur
Mme	PROUILLAC	Caroline	Professeur
M.	RACHED	Antoine	Maitre de conférences
Mme	REMY	Denise	Professeur
Mme	RENE MARTELLET	Magalie	Maître de conférences
M.	ROGER	Thierry	Professeur
M.	SAWAYA	Serge	Maître de conférences
M.	SCHRAMME	Michael	Professeur
Mme	SERGENTET	Delphine	Professeur
Mme	STORCK	Fanny	Professeur
M.	TORTEREAU	Antonin	Maître de conférences
Mme	VICTONI	Tatiana	Maître de conférences
M.	ZENNER	Lionel	Professeur

Remerciements au jury

A Monsieur le Professeur Philippe BERNY,

De VetAgro-Sup, Campus vétérinaire de Lyon,

De m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury,

Mes sincères remerciements

A Madame la Professeure Frédérique PONCE,

De VetAgro-Sup, Campus vétérinaire de Lyon,

Pour avoir accepté d'encadrer ce travail,

Pour vos conseils et le temps que vous m'avez accordé malgré les difficultés,

Mes sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur Jean Luc Cadoré,

De VetAgro-Sup, Campus vétérinaire de Lyon,

Pour avoir accepté de relire et d'évaluer ce travail,

Pour sa sagesse et sa bienveillance tout au long de ma scolarité

Mes sincères remerciements et hommages les plus respectueux.

A Madame la Docteure Laura BARRETT

De VetAgro-Sup, Campus vétérinaire de Lyon,

De m'avoir fait l'honneur de m'accompagner au cours de ce travail,

Pour sa disponibilité, son empathie et ses précieux conseils,

Mes sincères remerciements.

Table des matières

LISTE DES ANNEXES 9
LISTE DES FIGURES 11
LISTE DES TABLEAUX 13
LISTE DES ABREVIATIONS 15
INTRODUCTION 19
PARTIE 1 21
PREREQUIS : CONNAISSANCES GENERALES SUR LE CYCLE CELLULAIRE 21
1. RAPPELS DE GENOMIQUE 22
a. Le nucléotide 22
b. Structure des acides nucléiques 23
2. LE CYCLE CELLULAIRE 24
a. Phases du cycle cellulaire 24
b. La réplication de l'ADN 25
c. La transcription du brin codant en ARNm 26
d. La mitose 27
3. POINTS DE CONTROLE DU CYCLE CELLULAIRE 28
4. LA MORT CELLULAIRE ET SES MODALITES 30
a. Bases moléculaires de l'apoptose 30
i. Voie cellulaire intrinsèque mitochondriale 30
ii. Voie cellulaire extrinsèque 30
b. La nécrose 32
c. L'autophagie 32
5. PARTICULARITES DE LA CELLULE CANCEREUSE 33
6. CONCLUSION 35

PARTIE 2 37
CHIMIOTHERAPIE LOCALE 37
1. INTERETS DE LA CHIMIOTHERAPIE LOCALE 38
a. Diminution des effets secondaires 38
b. Diminution de la dose utilisée 38
c. Contournement des mécanismes de résistance 38
d. Faible cout 38
2. PRINCIPALES MOLECULES UTILISEES CHEZ LES EQUIDES 39
a. Agents alkylants : Sels de platine 39
i. Action génotoxique (prépondérante) : 40
ii. Stress oxydatif et modulation des voies de signalement du calcium 40
b. Agents antimétabolites : 5-Fluorouracile (5-FU) 41
i. Inhibition de la transcription 41
ii. Fragmentation de l'ADN 41
iii. Perturbation du pool de nucléotides 42
c. Bléomycine 43

3. CADRE REGLEMENTAIRE DE LA CHIMIOTHERAPIE 44
4. MODALITES D'ADMINISTRATION 45
a. Application topique 45
b. Injection directe intra-lésionnelle 45
c. Formes solides à dégradation lente 49
d. Méthodes annexes 51
5. APPORT DE L'ELECTROCHIMIOTHERAPIE 52
a. Action directe 52
i. Induction d'un potentiel transmembranaire 52
ii. Transport à travers la membrane perméabilisée 52
b. Action indirecte 53
i. Réduction temporaire du flux sanguin 53
ii. Cytotoxicité sur les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins 53
iii. Déclenchement de la réponse immunitaire systémique 53
6. CONCLUSION 56

PARTIE 3 57

RADIOTHERAPIE LOCALE 57

1. RADIATIONS IONISANTES 59
a. Rayonnements particulaires 59
i. Rayons alpha 59
ii. Rayons béta 59
b. Ondes électromagnétiques 59
i. Rayons X 60
ii. Rayons gamma 60
2. EFFETS DES RADIATIONS IONISANTES SUR LE VIVANT. 61
a. Echelle atomique 61
b. Echelle moléculaire 61
c. Echelle cellulaire 62
d. Echelle tissulaire 63
i. Effets aigus ou immédiats 63
ii. Effets chroniques ou retardés 63
3. RADIOSENSIBILITE DES TISSUS 64
4. CADRE REGLEMENTAIRE DE LA RADIOTHERAPIE 65
5. ETABLISSEMENT D'UN PROTOCOLE DE RADIOTHERAPIE 66
a. Principes du fractionnement 66
b. Modélisations et choix d'un plan thérapeutique 66
6. TECHNIQUES DE RADIOTHERAPIE 68
a. Radiothérapie externe : Téléthérapie 68
b. Radiothérapie interne : Curiethérapie 68
i. Plésiothérapie 68
ii. Brachythérapie interstitielle 71
ii.1 Brachythérapie LDR 71
ii.2 Brachythérapie HDR 73
7. CONCLUSION 75

PARTIE 4 77
PHOTOTHERAPIE DYNAMIQUE 77
1. MECANISMES D'ACTION 78
a. Accumulation sélective dans les tissus tumoraux 78
b. Formation de radicaux libres 78
c. Collapsus vasculaire 79
d. Reprise du cycle immunitaire tumoral 79
2. AGENTS PHOTOSENSIBILISANTS 80
a. Première génération 80
b. Seconde génération 80
3. SOURCES LUMINEUSES 82
a. Lumière blanche filtrée 82
b. LASER 82
i. Lasers à colorant 82
ii. Lasers à diode 82
c. Lampes à LED (diodes électroluminescentes) 83
4. DEROULEMENT D'UNE SEANCE DE PHOTOTHERAPIE DYNAMIQUE LOCALE 84
5. CONCLUSION 88

PARTIE 5 89
CRYOTHERAPIE 89
1. MECANISMES DE DESTRUCTION PAR LE FROID 90
a. Phase cryolésionnelle 90
i. Refroidissement et congélation 90
ii. Décongélation 91
b. Stase vasculaire différée 91
c. Enclenchement des mécanismes immunitaires 91
2. AGENTS CRYOGENIQUES 93
a. Azote liquide 93
b. Protoxyde d'azote 93
c. Dioxyde de carbone 93
3. METHODES D'APPLICATION 94
a. Vaporisation directe 94
b. Utilisation de cryoprobes ou sondes cryogéniques 94
4. DEROULEMENT D'UNE SEANCE DE CRYOTHERAPIE 95
5. CONCLUSION 97
CONCLUSION 99
BIBLIOGRAPHIE 103
ANNEXES 109

LISTE DES ANNEXES

Annexe n°1 : Analyse d'article « Long-term outcome associated with intratumoral chemotherapy with cisplatin for cutaneous tumors in equidae: 573 cases (1995–2004) » (Théon et al. 2007)

Annexe n°2 : Analyse d'article « The efficacy of intratumoural 5-fluorouracil for the treatment of equine sarcoids » (Stewart, Rush, Davis 2006)

Annexe n°3 : Analyse d'article « Use of cisplatin-containing biodegradable beads for treatment of cutaneous neoplasia in equidae: 59 cases (2000–2004) » (Hewes, Sullins 2006)

Annexe n°4 : Analyse d'article « Successful treatment of equine sarcoids with cisplatin electrochemotherapy: A retrospective study of 48 cases » (Tamzali et al. 2012) et « Electrochemotherapy as a single treatment or adjuvant treatment to surgery of cutaneous sarcoid tumours in horses: a 31-case retrospective study » (Tozon et al. 2016)

Annexe n°5 : Analyse d'article « Iridium-192 interstitial brachytherapy for equine periocular tumours: treatment results and prognostic factors in 115 horses » (Théon, Pascoe 1995)

Annexe n°6 : Analyse d'article « Treatment of periocular and non-ocular sarcoids in 18 horses by interstitial brachytherapy with iridium-192 » (Byam-Cook, Henson, Slater 2006)

Annexe n°7 : Analyse d'article « Strontium plesiotherapy for the treatment of sarcoids in the horse » (Hollis 2020)

Annexe n°8 : Analyse d'article « Combined keratectomy, strontium-90 irradiation and permanent bulbar conjunctival grafts for corneolimbal squamous cell carcinomas in horses (1990-2002): 38 horses » (Plummer et al. 2007)

Annexe n°9 : Analyse d'article « Effects of treatment with and without adjuvant radiation therapy on recurrence of ocular and adnexal squamous cell carcinoma in horses: 157 cases » (Mosunic et al. 2004)

Annexe n°10 : Analyse d'article « Photodynamic therapy for the treatment of periocular squamous cell carcinoma in horses: a pilot study » (Giuliano et al. 2008)

Annexe n°11 : Analyse d'article « Local photodynamic therapy delays recurrence of equine periocular squamous cell carcinoma compared to cryotherapy » (Giuliano et al. 2014)

Annexe n°12 : Analyse d'article « Clinical results of photodynamic therapy for the treatment of sarcoid tumors in equids » (Gustafson et al. 2004)

Annexe n°13 : Analyse d'article « Glycolysis inhibition improves photodynamic therapy response rates for equine sarcoids » (Golding, Kemp-Symonds, Dobson 2017)

Annexe n°14 : Analyse d'article « Carbon dioxide laser surgery with adjunctive photodynamic therapy as a treatment for equine peri-ocular sarcoid : Outcome and complications in 21 patients »

Annexe n°15 : Analyse d'article « Evaluation of excision, cryosurgery and local BCG vaccination for the treatment of equine sarcoids » (Martens et al. 2001)

Annexe n°16: Analyse d'article « Management of equine sarcoids: 1975–93 » (McConaghy et al. 1994)

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Classification des différentes méthodes de thérapie anti-cancéreuse

Figure 2 : Composition de base du nucléotide

Figure 3 : Structure comparée de l'acide désoxyribonucléique (ADN) et de l'acide ribonucléique (ARN)

Figure 4 : Etapes du cycle cellulaire chez la cellule eucaryote

Figure 5 : La réplication de l'ADN

Figure 6 : Les étapes de la division cellulaire eucaryote

Figure 7 : Les points de contrôle du cycle cellulaire

Figure 8 : L'apoptose ou mort cellulaire programmée

Figure 9 : Principaux mécanismes de mort cellulaire

Figure 10 : Caractéristiques du cancer

Figure 11 : Structure chimique bidimensionnelle du cisplatine et du carboplatine

Figure 12 : Structure chimique bidimensionnelle du 5-Fluorouracile

Figure 13 : Mécanismes d'action du 5-Fluorouracile

Figure 14 : Structure chimique bidimensionnelle de la bléomycine

Figure 15 : Méthode d'injection intra-tumorale d'une émulsion de cisplatine selon un motif en hachures croisées

Figure 16 : Résolution d'un carcinome épidermoïde de la paupière inférieure et d'une sarcoïde de la paupière supérieure suite à une chimiothérapie à base de cisplatine intra-lésionnel

Figure 17 : Photographie d'une bille biodégradable contenant du cisplatine

Figure 18 : Modalités d'administration des médicaments anti-cancéreux et caractéristiques associés aux différentes formulations

Figure 19 : Principe de l'électroporation dans le cadre de la chimiothérapie

Figure 20 : Cycle immunitaire tumoral

Figure 21 : Spectre électromagnétique

Figure 22 : Effet Compton

Figure 23 : Volumes d'intérêt en radiothérapie

Figure 24 : Séance de plésiothérapie à base de Strontium 90 sur un carcinome épidermoïde cornéen

Figure 25 : Résolution d'un carcinome épidermoïde de la paupière supérieure suite à une brachythérapie faible dose à base d'Iridium 192

Figure 26 : Séance de brachythérapie forte intensité sur un carcinome épidermoïde pénien

Figure 27 : Séance de brachythérapie forte intensité sur un carcinome épidermoïde palpébral et évolution 18 mois après traitement

Figure 28 : Diagramme de Jablonski

Figure 29 : Structure chimique bidimensionelle du porfimère sodique

Figure 30 : Structure chimique bidimensionnelle de l'acide δ-aminolévulinique

Figure 31 : Structure chimique bidimensionnelle de l'aminolévulinate de méthyl

Figure 32 : Structure chimique bidimensionnelle de l'hexa-aminolévulinate

Figure 33 : Utilisation d'une unité LED pour irradier le lit tumoral après une exerèse chirurgicale

Figure 34 : Technique de photothérapie dynamique locale

Figure 35 : Photographies extra-oculaires réalisées à l'examen ophtalmologique initial (a) et après traitement (exérèse chirurgicale et photothérapie dynamique locale à base de HPPH), lors de l'examen clinique le plus récent (b) sur trois patients

Figure 36 : Photographies extra-oculaires réalisées à l'examen ophtalmologique initial (a) et après traitement (exérèse chirurgicale et photothérapie dynamique locale à base de verteporfine), lors de l'examen clinique le plus récent (b) sur trois patients

Figure 37 : Mécanismes d'action de la cryothérapie locale

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Principaux isotopes utilisés en curiethérapie équine

Tableau 2 : Bilan

LISTE DES ABREVIATIONS

5-FU : 5-fluorouridine

A (base) : Adénine

ADN : Acide désoxyribonucléique

AIF : Facteur inducteur de l'apoptose (apoptosis inducing factor)

ALA : acide δ-aminolévulinique

AP : Agent photosensibilisant

APAF-1 : Apoptotic peptidase activating factor 1

ARN : Acide ribonucléique

ARNm : Acide ribonucléique messager

ATP : Adénine triphosphate

BEVA : Association des vétérinaires équins britanniques

C (base) : Cytosine

CCDP : Cis-diamminedichloroplatine(II)

CdK : Kinases cycline-dépendantes

DISC : Death-inducing signaling complex

DMSO : Diméthylsulfoxyde

dTMP : Désoxythymidine monophosphate

dTDP : Désoxythymidine diphosphate

dTTP : Désoxythymidine triphosphate

dUMP : Désoxyuridine monophosphate

dUDP : Désoxyuridinediphosphate

dUTP : Désoxyuridine triphosphate

EPI : Equipements de protection individuelle

FDA : Food and Drug Administration

FdUMP : 5-fluorodésoxyuracile monophosphate

FdUDP : 5 fluorodésoxyuracile diphosphate

FdUTP : 5 fluorodésoxyuracile triphosphate

FUMP: 5-fluorouracile monophosphate

FUDP: 5-fluorouracile diphosphate

FUTP: 5-fluorouracile triphosphate

G (base) : Guanine

GMPc : Guanosine monophosphate cyclique

GSH : Glutathion mitochondrial

Gy = Gray

HDR = « High dose rate » Brachythérapie haute dose

HPPH : 2-[1-hexyloxyethyl]-2-devinylpyropheophorbide-a

IMRT = Radiothérapie par modulation d'intensité

LDR = « Low dose rate » Brachythérapie faible dose

LT = Lymphocytes T

MAL : Aminolévulinate de méthyle

ONV = Ordre national des vétérinaires

PFS = taux de survie sans progression tumorale

PDT : photothérapie dynamique

Rb : protéine du rétinoblastome

ROS : Espèces réactives de l'oxygène (reactive oxygen species)

RNR : Ribonucleotide reductase

SMAC : Second mitochondria-derived activator of caspases

T (base) : Thymidine

TK : Thymidine kinase

TNF : Tumor necrosis factor

TP : Thymidine phosphorylase

TYMS : Thymidylate synthase

U (base) : Uracile

UK : Uridine kinase

UP : Uridine phosphorylase

INTRODUCTION

On rencontre très fréquemment des tumeurs cutanées en pratique vétérinaire équine, que ce soit en médecine de terrain ou en centre de référés (Scott, Miller 2011; Meuten 2017). En effet, la peau est l'organe à l'origine du développement de près de 50% des affections tumorales du cheval adulte (Knottenbelt, Patterson-Kane, Snalune 2015). Parmi les néoplasies les plus diagnostiquées représentant près de 90% des tumeurs cutanées du cheval, on retrouve :

- Les sarcoïdes avec une prévalence globale d'un à 12% : on estime ainsi qu'un cheval sur 10 présente au moins une sarcoïde au cours de sa vie. Ce sont des tumeurs mésenchymateuses d'origine fibroblastique qui apparaissent à des localisations variées, avec une prédilection pour la tête, l'encolure et les régions ventrales du corps notamment le passage de sangle. Leur développement est multifactoriel, avec une forte implication des papillomes bovins de type I et II ainsi que l'expression de certains gènes. Bien que bégnines, elles peuvent se montrer localement agressives et entrainer une impotence fonctionnelle et/ou une douleur. Elles sont classées en six formes cliniques : occulte, verruqueux, nodulaire, fibroblastique, malin et mixte (Knottenbelt 2005).
- Les carcinomes épidermoïdes, autrefois appelés épithéliomas spinocellulaires. Ils représentent la seconde cause de tumeur cutanée derrière les sarcoïdes. Ce sont des tumeurs malignes issues des kératinocytes, cellules épithéliales de l'épiderme et des muqueuses, elles sont agressives localement et possèdent un potentiel métastatique. Ils touchent principalement les chevaux âgés et sont plus fréquents chez les hongres. Leur pathogénèse est étroitement liée à l'exposition aux rayons ultraviolets. Ils évoluent soit en une forme ulcérée soit vers un aspect prolifératif. Ils sont majoritairement retrouvés au niveau du pénis et de ses annexes ainsi qu'en position périoculaire.

Ces tumeurs peuvent entrainer par leur potentiel métastatique et leur envahissement loco-régional des conséquences fonctionnelles graves, impactant les performances sportives et la qualité de vie du cheval atteint. C'est pourquoi il est primordial de les détecter et de les prendre en charge précocement. Ce n'est pas suffisamment réalisé aujourd'hui car les propriétaires ne considèrent pas toujours une masse cutanée comme un motif de consultation, cela entraine des détections et des prises en charge tardives et par conséquent un pronostic vital et sportif plus sombre au moment du diagnostic.

L'exérèse chirurgicale (scalpel ou laser) représente le traitement conventionnel de toute tumeur cutanée, cependant elle présente différentes limites (Sprayberry, Robinson 2015) :

- Le traitement chirurgical seul entraine un risque de récidive locale élevé, notamment pour les sarcoïdes équines.
- Selon la taille, l'envahissement et la localisation de la tumeur (par exemple pour les masses situées en partie distale des membres ou en périoculaire), la résection peut parfois se révéler impossible ou les marges d'exérèse seront insuffisantes pour retirer la totalité des cellules tumorales.

Afin de pallier ces problématiques, il a été développé ces dernières décennies différentes techniques médicales annexes dans le traitement des tumeurs cutanées. Elles peuvent être utilisées seules, couplées ou en complément d'une technique chirurgicale. Elles entrent alors dans 4 catégories que l'on définira ainsi :

- Traitement adjuvant : Traitement permettant de prévenir un risque de récidive locale ou de métastases, qui est utilisé en péri ou post opératoire.
- Traitement néoadjuvant. Traitement permettant de réduire la taille de la tumeur, souvent en vue d'une exérèse chirurgicale par la suite.
- Traitement curatif : Traitement parfois suffisant pour éliminer les tumeurs de petite taille peu invasives.
- Traitement palliatif : Traitement visant à obtenir une rémission clinique et un confort satisfaisant de l'animal atteint.

Si chaque technique d'oncologie moderne a déjà été utilisée avec succès en médecine humaine et vétérinaire, il existe parfois peu de preuves scientifiques étayées de leur efficacité dans le domaine équin. L'objectif de cette étude bibliographique sera donc de passer en revue les modalités de fonctionnement des différents traitements non chirurgicaux des principales tumeurs cutanées du cheval, et de parcourir les publications scientifiques récentes pour y trouver ou non des preuves d'efficacité et soutenir leur utilisation actuelle par la médecine factuelle.

Dans le cadre de cette thèse, nous nous intéresserons essentiellement aux méthodes cytotoxiques en parallèle ou non de la chirurgie (Figure 1). L'utilisation de traitements à visée biologique comme l'immunothérapie ne seront pas abordées.

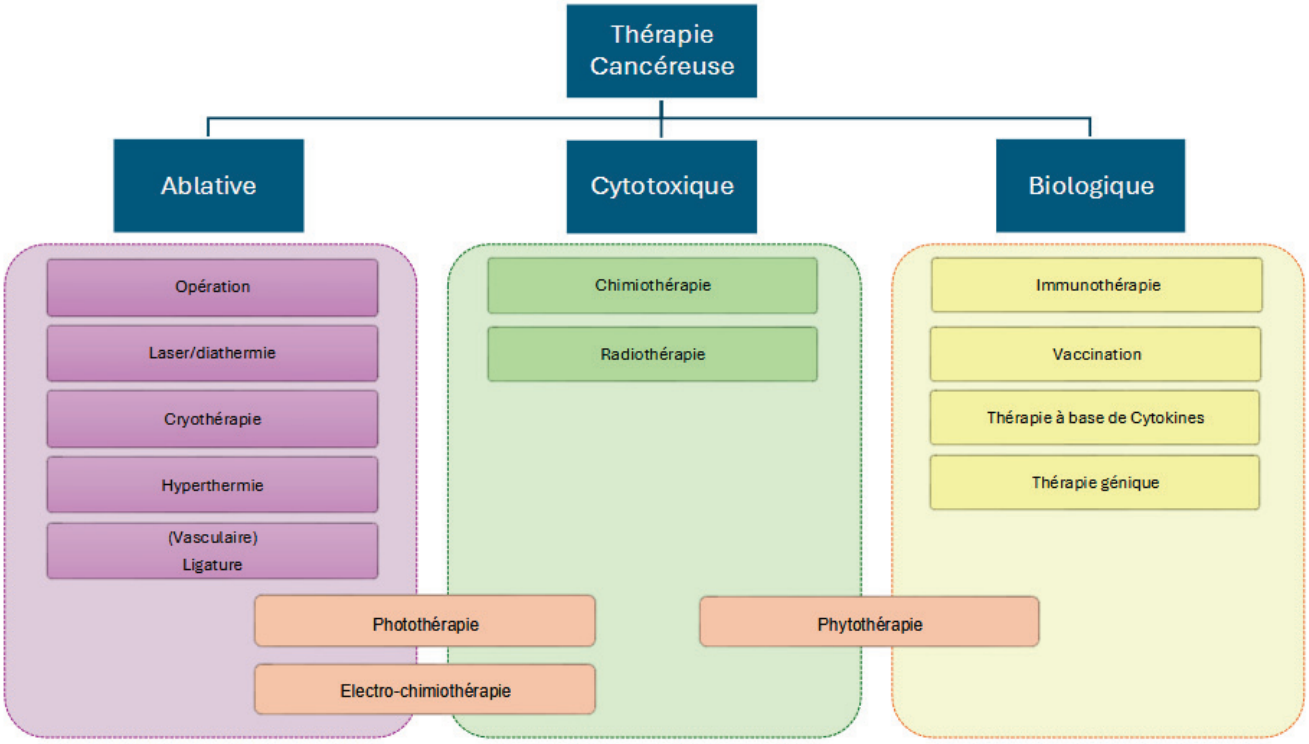

Figure 1 : Classification des différentes méthodes de thérapie anti-cancéreuse (Traduit de Knottenbelt, Patterson-Kane, Snalune 2015)

PARTIE 1

PREREQUIS : CONNAISSANCES GENERALES SUR LE CYCLE CELLULAIRE

1. RAPPELS DE GENOMIQUE ..... **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**
   a. *Le nucléotide* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
   b. *Structure des acides nucléiques* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
2. LE CYCLE CELLULAIRE ..... **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**
   a. *Phases du cycle cellulaire* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
   b. *La réplication de l'ADN* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
   c. *La transcription du brin codant en ARNm* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
   d. *La mitose* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
3. POINTS DE CONTROLE DU CYCLE CELLULAIRE ..... **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**
4. LA MORT CELLULAIRE ET SES MODALITES ..... **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**
   a. *Bases moléculaires de l'apoptose* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
      i. Voie cellulaire intrinsèque mitochondriale ..... **Erreur ! Signet non défini.**
      ii. Voie cellulaire extrinsèque ..... **Erreur ! Signet non défini.**
   b. *La nécrose* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
   c. *L'autophagie* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
5. PARTICULARITES DE LA CELLULE CANCEREUSE ..... **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**
6. CONCLUSION ..... **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**

Les différentes méthodes de traitement en oncologie moderne reposent sur leur capacité à provoquer la mort des cellules cancéreuses, tout en épargnant autant que possible les tissus sains environnants. Pour comprendre les cascades d'évènement menant à l'arrêt du cycle cellulaire et à la mort des cellules visées, il est nécessaire de comprendre comment est structuré le génome eucaryote, quelles sont les étapes du cycle cellulaire et les processus qui déclenchent la mort de la cellule. Cela fera donc l'objet de la partie suivante, qui, dans l'optique d'être rapide et simple de compréhension, ne sera pas exhaustive. (Krebs, Goldstein, Kilpatrick 2018; Dautel 2017)

1. Rappels de génomique

a. Le nucléotide

L'information génétique de tout être vivant est portée par des acides nucléiques : l'ADN (acide désoxyribonucléique) sous forme de chromatine contenue dans le noyau de chaque cellule, et l'ARN (acide ribonucléique).

Le nucléotide (monomère) constitue l'unité élémentaire des acides nucléiques (polymère). Il est formé de trois éléments, associés entre eux par des liaisons covalentes (Figure 2) :

- Une base nucléique purique (adénine ou guanine) ou pyrimidique (cytosine, thymine pour l'ADN ou uracile pour l'ARN).
- Un sucre pentose : ribofuranose possédant le groupement OH en 2' pour l'ARN ou désoxyribofuranose avec un atome d'hydrogène en 2' pour l'ADN

Nota : ces deux éléments associés forment un nucléoside, précurseur du nucléotide

- Un ou plusieurs groupements phosphates de formule $-H_3PO_4$. Les nucléotides utilisés dans la synthèse d'acides nucléiques sont des nucléotides triphosphates.

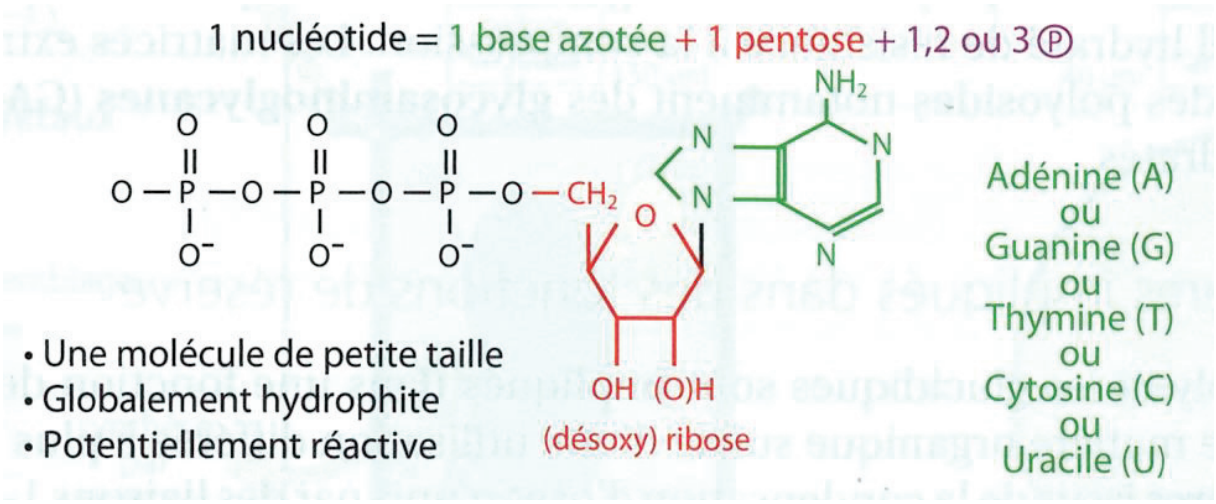

Figure 2 : Composition de base du nucléotide (Dautel 2017)

b. Structure des acides nucléiques

Dans les acides nucléiques, macromolécules polyanioniques polymères de nucléotides, les nucléotides sont liés entre eux par des ponts phosphodiesters, reliant la position 3' d'un pentose à la position 5' du pentose du nucléotide suivant (Figure 3).

L'ADN est un acide nucléique à deux brins. Elle s'agence dans l'espace comme une hélice double brin par soucis de stabilité en milieu cellulaire aqueux. Ainsi, les bases des nucléotides d'un simple brin sont appariées aux bases des nucléotides de l'autre brin par paire canonique (une base pyrimidique de petite taille en face d'une base purique de grande taille) via des liaisons hydrogène. Il y en a respectivement trois entre les bases G et C et 2 entre A et T.

Dans l'ARN, conventionnellement simple brin, la base thymine est remplacée par l'uracile.

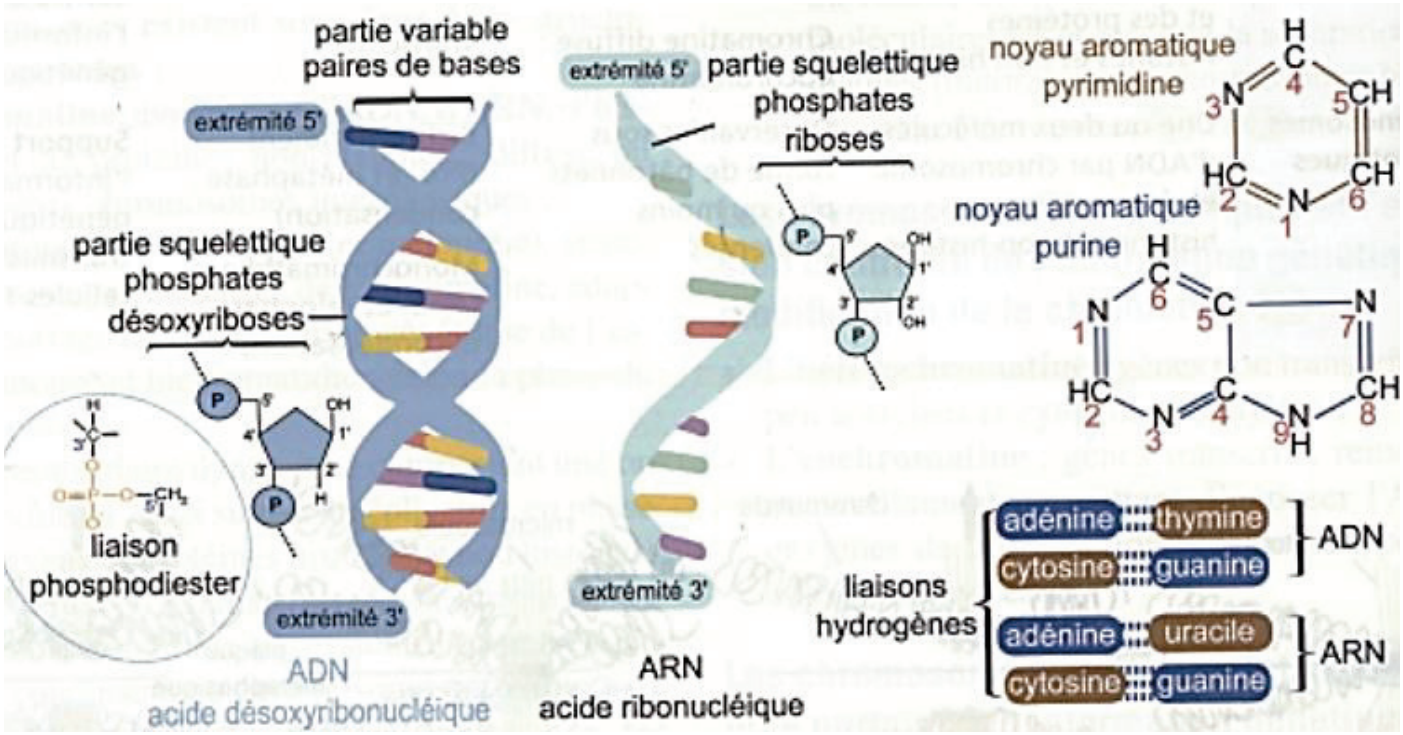

Figure 3 : Structure comparée de l'acide désoxyribonucléique (ADN) et de l'acide ribonucléique (ARN) (Dautel 2017)

2. Le cycle cellulaire

a. Phases du cycle cellulaire

Le cycle cellulaire désigne l'ensemble des modifications subies par une cellule, depuis sa formation après la division d'une cellule mère jusqu'au moment où elle-même se divise en deux cellules filles possédant les mêmes caractères morphologiques et physiologiques.

Il comprend quatre phases dont l'ordre d'enchainement est immuable (Figure 4) :

- L'interphase composé des phases G1, S et G2. Les phases G1 et G2 désignent des périodes de croissance cellulaire, pendant lesquelles se déroule la transcription de l'ADN en ARN et la traduction de l'ARN en protéines. Tandis que la phase S est celle de synthèse. Il se déroule un processus appelé réplication de l'ADN afin d'obtenir deux copies identiques de l'information génétique de la cellule en vue de sa division.
- La phase mitotique appelée phase M durant laquelle se déroule la division de la cellule en deux cellules filles identiques.

La durée du cycle cellulaire est extrêmement variable selon le type cellulaire.

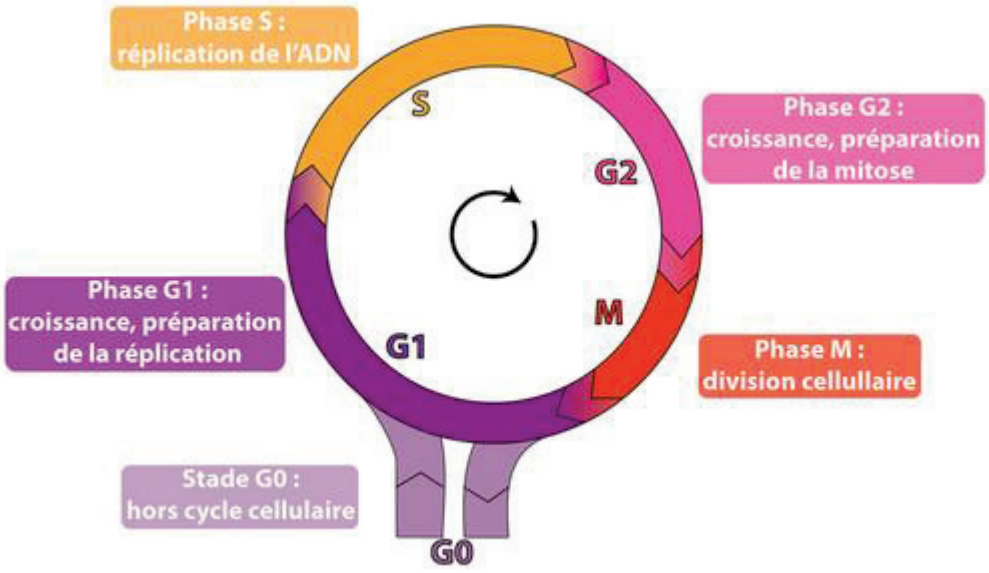

Figure 4 : Etapes du cycle cellulaire chez la cellule eucaryote (RNbio https://rnbio.sorbonne-universite.fr/ Droits réservés)

b. La réplication de l'ADN

La réplication se déroule en phase S du cycle cellulaire, elle permet de générer une copie identique de l'ADN, elle est pour cela contrôlée par de nombreuses enzymes (Figure 5) :

- L'ADN hélicase permet de rompre les liaisons hydrogènes liant les bases et ainsi d'isoler et dérouler les brins, créant ainsi une fourche de réplication.
- L'ADN polymérase génère un nouveau brin d'ADN le long de chaque brin original qui lui sert de matrice. Elle utilise un pool de nucléotides libres disponibles dans la cellule et les ajoute en regard du nouveau brin en respectant les règles d'appariement complémentaire des bases.
    - Elle ne peut synthétiser que dans le sens 5' – 3'. Elle synthétise donc le brin 3'-5'en continu, ce brin est dit précoce, et le brin 5'-3' dit retardé en plusieurs fragments, qui se dirigent donc vers l'extrémité ouverte de la fourche de réplication. Ils sont appelés fragments d'Okasaki.
    - L'ADN polymérase possède également une activité exonucléasique, elle est capable de réaliser une lecture de la chaine, de détecter puis de corriger si besoin une erreur d'appariement.
- L'ADN ligase permet de relier les fragments d'Okasaki entre eux par des liaisons phosphodiesters pour achever la synthèse du brin retardé. Elle possède également une fonction de réparation des cassures.

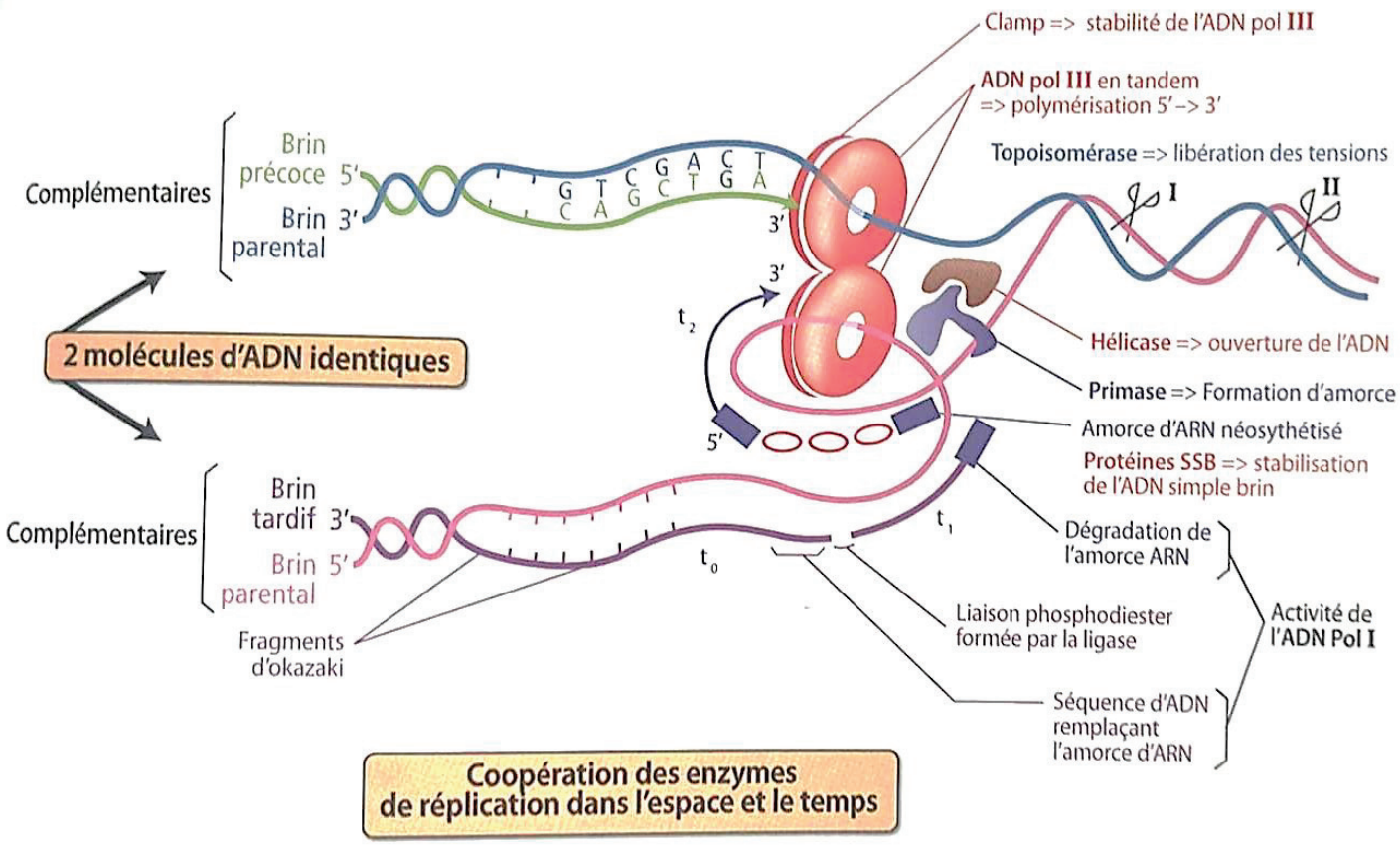

Figure 5 : La réplication de l'ADN (Dautel 2017)

Cette réplication est appelée semi-conservative, avec pour chaque copie une hélice d'ADN composé d'un brin original et d'un brin nouvellement synthétisé. Elle est extrêmement précise avec un taux d'erreur très faible. En effet, elle possède différents systèmes de réparation pour une conservation optimale du séquençage génétique. Cependant elle n'est pas infaillible et il peut persister des mésappariements rendant les cellules filles non viables, ce qui provoque leur destruction.

c. La transcription du brin codant en ARNm

La synthèse des protéines intervient pendant les phases de croissance cellulaires G1 et G2. Elle nécessite deux étapes préalables : la transcription de l'ADN en ARN messager (ARNm) dans le noyau des cellules, puis l'exportation de cet ARNm dans le cytoplasme ou pourra se dérouler la traduction.

Comme pour la réplication, la transcription nécessite l'action simultanée de plusieurs enzymes. L'ADN hélicase permet la séparation et le déroulement des brins, puis c'est l'enzyme ARN polymérase qui assure la synthèse de l'ARNm.

Elle débute en se fixant à l'ADN sur une séquence spécifique appelé promoteur : on appelle cela l'initiation. Le brin sens (5'-3') est codant, c'est donc le brin antisens (3'-5') qui est lu et utilisé par l'ARN polymérase pour créer un brin d'ARN complémentaire. Celui-ci est donc identique au brin codant, excepté le remplacement de la thymine par de l'uracile. On parle de processus d'élongation. L'ARN polymérase poursuit la synthèse dans le sens 5'-3' jusqu'à atteindre une séquence dite terminateur : c'est la terminaison de la transcription.

Chez les eucaryotes, l'ARNm subit ensuite une maturation et un épissage en vue de son exportation dans le cytoplasme, ou il sera traduit en protéines par une correspondance codon (trois bases successives) – acide aminé.

d. La mitose

La mitose ou division cellulaire d'une cellule mère en deux cellules filles identiques se déroule en quatre étapes distinctes (Figure 6) :

- La prophase : Les chromosomes se condensent par phosphorylation des condensines et des histones, le fuseau mitotique se forme et l'enveloppe nucléaire se désorganise par phosphorylation des lamines.
- La métaphase : Les chromosomes s'alignent le long de la plaque équatoriale
- L'anaphase : Les microtubules du fuseau mitotique tractent les chromatides sœurs par leur kinétochore aux deux pôles opposés de la cellule.
- La télophase : Le fuseau mitotique disparait, le nucléole et la membrane nucléaire se reforment progressivement et les chromosomes se décondensent. C'est pendant cette étape que se passe la cytodiérèse avec le clivage de la masse cellulaire par l'anneau d'actine.

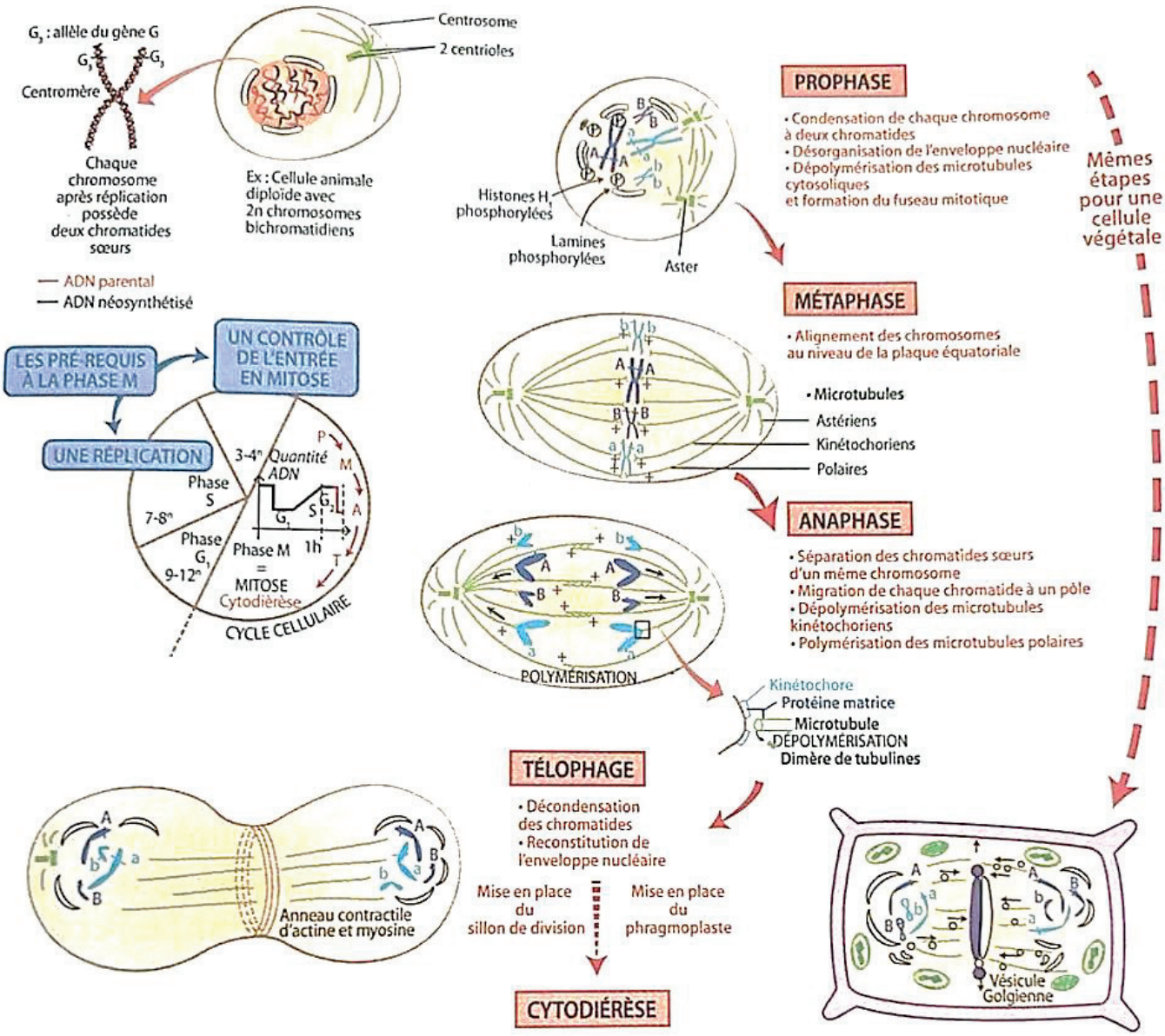

Figure 6 : Les étapes de la division cellulaire eucaryote (Dautel 2017)

3. Points de contrôle du cycle cellulaire

Le cycle cellulaire est étroitement régulé par des mécanismes externes (signalement dans l'environnement cellulaire) et internes. En effet, des points de contrôle existent afin de s'assurer du bon fonctionnement des phases, et permettent d'autoriser ou non la poursuite du cycle cellulaire (Figure 7) :

- Point de contrôle G1 /S : Il permet de vérifier l'intégrité de l'ADN, mais aussi de s'assurer que les réserves et la taille cellulaires sont suffisantes à l'issue de cette première phase de croissance pour permettre la réplication.
- Point de contrôle G2 /M : Il permet de s'assurer que la réplication se soit correctement déroulée sans altérations de l'ADN.
- Point de contrôle M ou point de contrôle du fuseau : Il détermine si les microtubules se sont correctement accrochés aux kinétochores des chromatides sœurs.

Si un problème est détecté aux points de contrôle, le cycle est momentanément stoppé. Soit une réparation est possible, soit les erreurs mènent à l'arrêt définitif du cycle et à la mort cellulaire.

Les cyclines et les kinases cycline dépendantes (CdK) sont des régulateurs positifs du cycle cellulaire. Elles forment des complexes liés et permettent l'enchainement des phases en activant par phosphorylation des protéines nécessaires à leur réalisation.

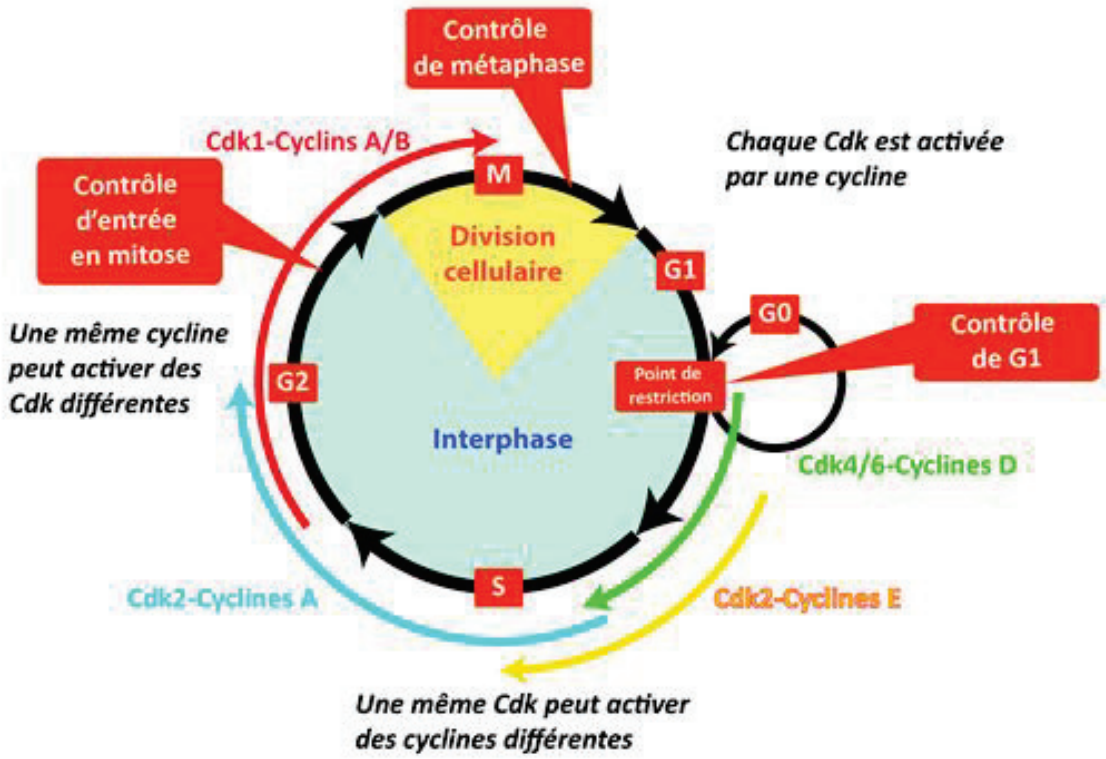

Figure 7 : Les points de contrôle du cycle cellulaire (RNbio https://rnbio.sorbonne-universite.fr/ Droits réservés)

Il existe également des régulateurs négatifs, avec notamment la protéine du rétinoblastome (Rb). A l'état activé et déphosphorylé, il se lie à des facteurs de transcription et empêche la croissance cellulaire et la transition à la phase de synthèse.

La protéine p53 est quant à elle un facteur de transcription chef d'orchestre, d'où son surnom de « gardienne du génome ». En effet un de ses rôles principaux est de contrôler la réponse cellulaire aux dommages causés à l'ADN. En présence de lésions, sa concentration augmente jusqu'à 15 à 20 fois. Elle intègre différents signaux régulateurs et permet de stopper au besoin le cycle cellulaire afin de permettre une éventuelle réparation : Nous citerons par exemple son action sur la protéine p21 qui inhibe l'activité des complexes cyclines/CdK. Dans d'autres cas elle induit l'apoptose ou mort cellulaire programmée.

4. La mort cellulaire et ses modalités

Il existe 3 types de mort cellulaire principaux : l'apoptose, la nécrose et l'autophagie (Figure 9).

a. Bases moléculaires de l'apoptose

La plupart des traitements en oncologie moderne entrainent la mort des cellules tumorales par un processus appelé apoptose ; voyons quelles en sont les bases moléculaires et physiologiques : (Pistritto et al. 2016; Elmore 2007)

L'apoptose désigne la mort cellulaire programmée, elle peut intervenir dans des conditions physiologiques ou pathologiques. La cellule subit de nombreux changements morphologiques : diminution du volume cellulaire, désorganisation de la membrane plasmique, condensation puis dégradation de la chromatine en fragments. Elle finit enfin par se scinder en corps apoptotiques éliminés par les cellules environnantes.

Les principaux effecteurs de l'apoptose sont des cystéines protéases appelées caspases : elles sont impliquées dans le clivage de substrats protéiques jouant un rôle clé dans les fonctions cellulaires (protéines nucléaires, protéines kinases, protéines du cytosquelette, ou encore enzymes de réparation de l'ADN, etc.).

Il existe des caspases initiatrices (1,2,4,8,9,10) et des caspases effectrices (3,6,7,14).

Les caspases sont initialement présentes dans la cellule sous forme de zymogènes inactifs, elles subissent une cascade d'activation au début de l'apoptose, initiée par la transduction de signaux apoptotiques : Cette activation est étroitement régulée par les protéines de la famille B-cell lymphome 2 (Bcl-2), pro ou anti-apoptotiques (Figure 8).

i. Voie cellulaire intrinsèque mitochondriale

Elle s'ensuit d'une baisse de potentiel membranaire de la mitochondrie. La perméabilisation de la membrane mitochondriale externe entraine la libération de plusieurs facteurs apoptogènes dont le cytochrome c, la protéine AIF « apoptosis inducing factor » et la protéine SMAC (second mitochondria-derived activator of caspases).

Le cytochrome c s'associe à la protéine cytosolique Apaf-1 (apoptotic protease activating factor) et à la procaspase-9 avec consommation d'énergie sous forme d'ATP pour former un complexe multiprotéique appelé apoptosome. Celui-ci entraine l'activation de la caspase 9 puis de la caspase 3 effectrice de l'apoptose.

ii. Voie cellulaire extrinsèque

Cette voie est déclenchée au niveau de la membrane plasmique par l'activation de récepteurs membranaires de la superfamille des TNF (Tumor necrosis factor). Ce sont des récepteurs de type TNF-R1 ou FAS. Lorsqu'ils se lient à leur ligand, cela déclenche l'assemblage du complexe DISC (death-inducing signaling complex) qui active la caspase 8 puis la caspase 3 effectrice de l'apoptose.

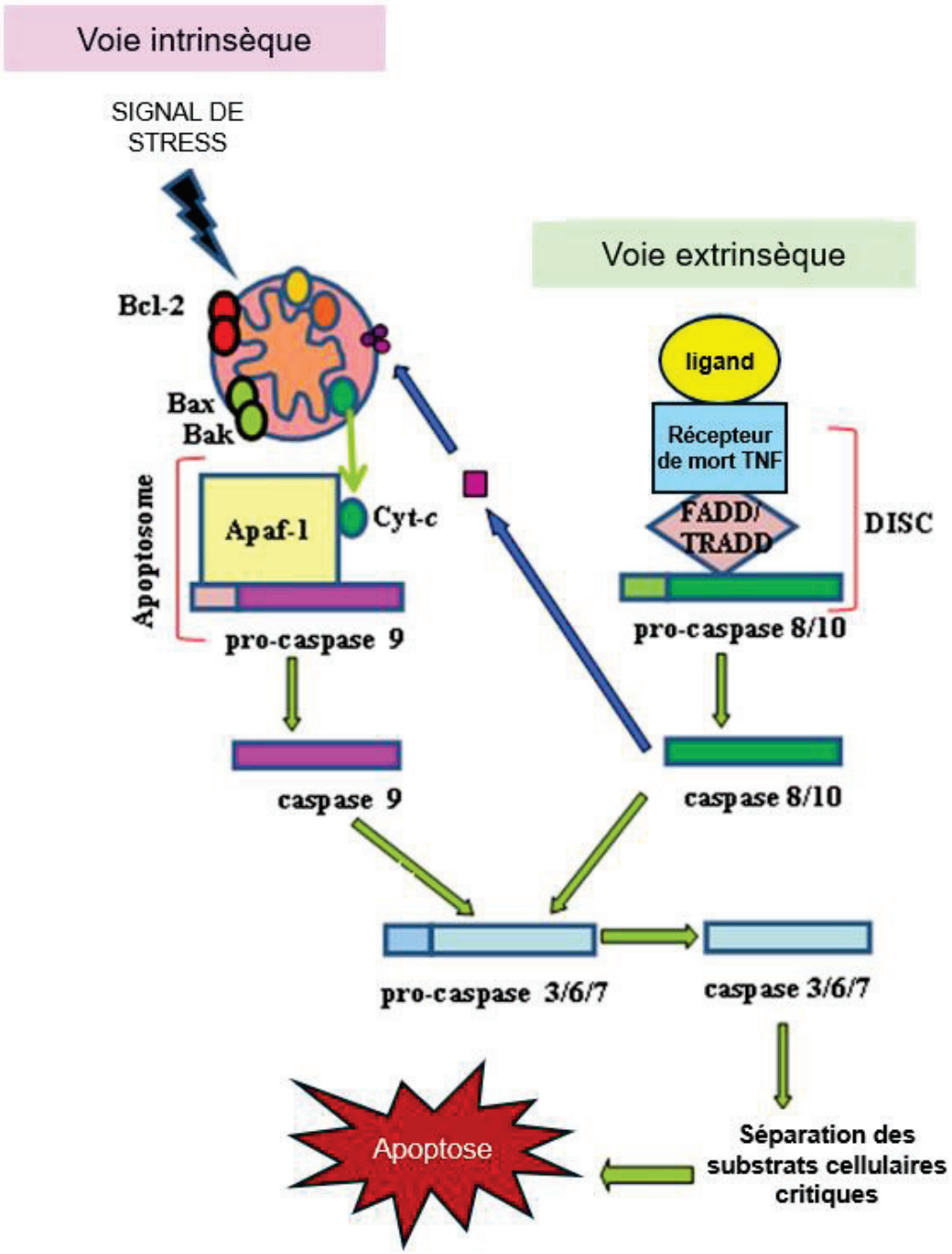

Figure 8 : L'apoptose ou mort cellulaire programmée (Pistritto et al. 2016)

b. La nécrose

La nécrose est une réponse non physiologique. Elle intervient lorsque la cellule est exposée à des paramètres physiques et chimiques extrêmes, rendant son milieu non viable. La nécrose cellulaire se caractérise par le gonflement de la cellule et de ses organites jusqu'à rupture de la membrane plasmique et déversement du contenu cellulaire dans le milieu environnant. Longtemps considéré mort non programmée à l'inverse de l'apoptose, il a récemment été décrit des voies régulées d'induction de la nécrose : la nécroptose.

c. L'autophagie

L'autophagie est un mécanisme de survie de la cellule à une carence en nutriments. La cellule produit des autophagosomes qui fusionnent avec des lysosomes, permettant l'autodigestion de ses organites en vue de palier ses besoins en substrats. Lorsque la carence persiste, la cellule finit par enclencher un processus de mort cellulaire régulée.

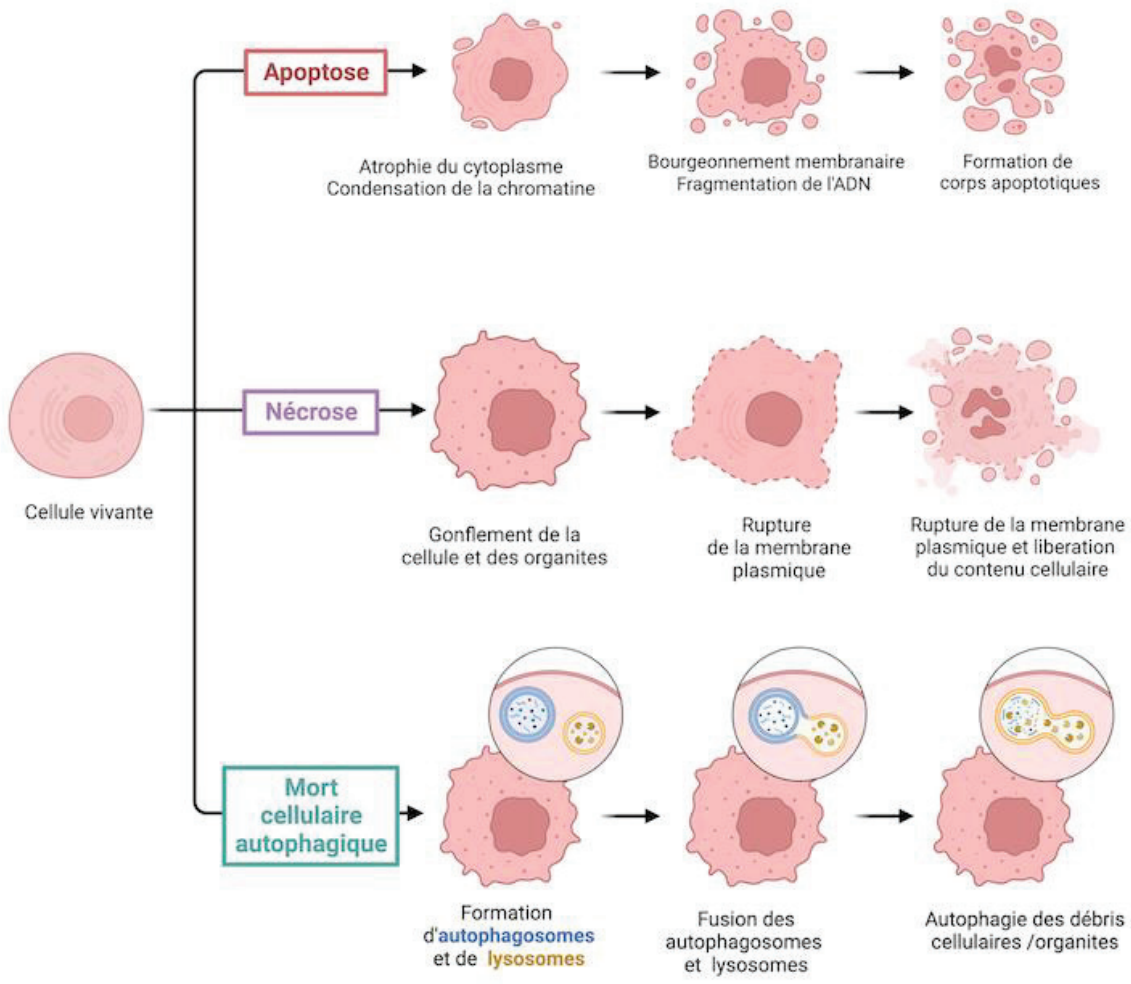

Figure 9 : Principaux mécanismes de mort cellulaire (RNbio https://rnbio.sorbonne-universite.fr/ Droits réservés)

5. Particularités de la cellule cancéreuse

Une cellule cancéreuse est une cellule anormale présentant une croissance et une prolifération incontrôlée. Au cours de sa vie, elle a accumulé progressivement des mutations et altérations de son matériel génétique qui lui ont conféré certaines propriétés. Voyons ensemble quelles sont les caractéristiques fondamentales du cancer (Hanahan, Weinberg 2011)(Figure 10) :

- Maintien des signaux de prolifération

Dans les cellules cancéreuses, la mutation ou la surexpression de gènes dits « oncogènes » tels que c-myc, RAS, ou HER2 entraîne une activation continue des mécanismes de prolifération cellulaire, même en l'absence de signaux de croissance externes.

- Echappement aux signaux inhibiteurs de croissance

Les cellules cancéreuses peuvent devenir insensibles aux signaux inhibiteurs de croissance par inactivation des gènes suppresseurs de tumeurs, parmi lesquels le gardien du génome p53 et la protéine Rb dont les rôles clés ont été évoqués précédemment. Les points de contrôle sont alors inactivés ce qui permet au cycle cellulaire de continuer même en présence de dommages à l'ADN.

- Favorisation de l'immortalité réplicative

Le vieillissement classique d'une cellule repose sur la dégradation et le raccourcissement des télomères (extrémités des chromosomes). En dessous d'un seuil critique l'apoptose est déclenchée.

Dans les cellules tumorales l'activation d'une enzyme télomérase empêche les télomères de se déconstruire, leur conférant une durée de vie anormalement longue.

- Résistance à la mort cellulaire

La surexpression de protéines anti-apoptotiques, telles que Bcl-2, ou l'inactivation de protéines pro-apoptotiques, comme p53 permet aux cellules cancéreuses de survivre, même en cas de mutations ou de dommages génétiques graves qui engendreraient dans des conditions habituelles l'induction de la mort cellulaire par apoptose.

- Activation de l'invasion et des métastases

Les cellules cancéreuses acquièrent la capaciter de fonctionner dans un microenvironnement complexe, ce qui rend possible l'envahissement d'autres tissus. Elles sont ainsi capables d'agressivité locale mais aussi se développer à distance de la tumeur initiale lors d'un processus métastatique. Cela est facilité par des changements dans l'adhésion cellulaire, la dégradation de la matrice extracellulaire et des altérations du cytosquelette.

- Induction de l'angiogenèse

Les cellules cancéreuses ont également la capacité de stimuler la formation de nouveaux vaisseaux sanguins grâce à des mutations dans des gènes comme VEGF (vascular endothelial growth factor). Cela permet à la tumeur de recevoir les nutriments et l'oxygène dont elle a besoin pour sa croissance.

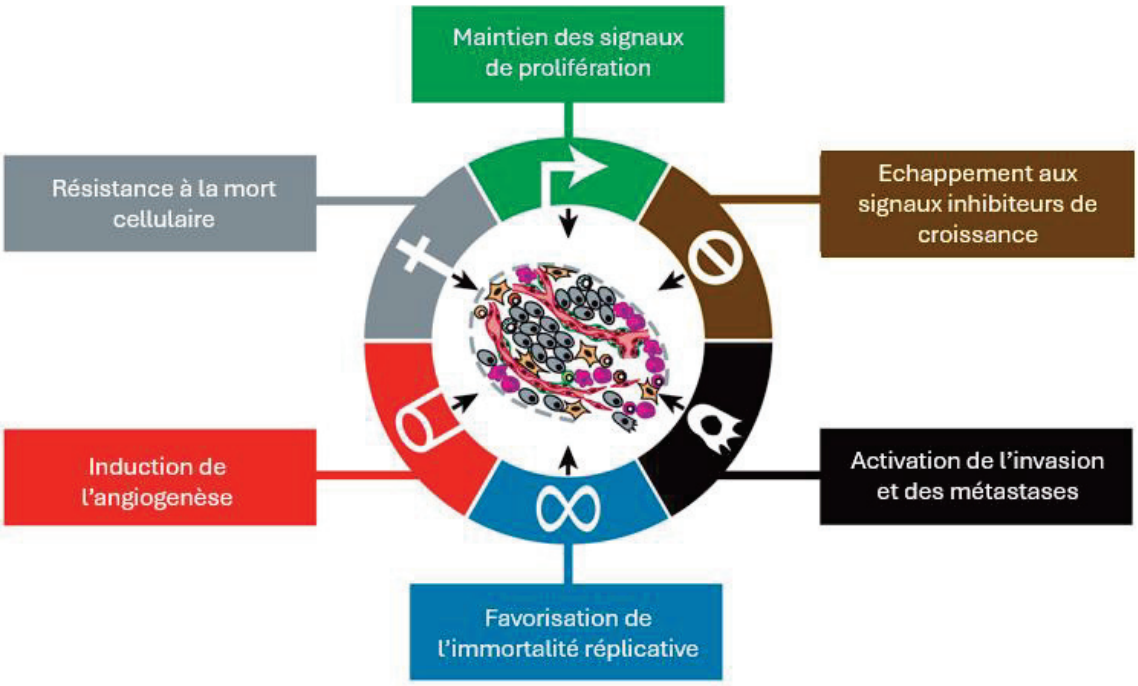

Figure 10 : Caractéristiques du cancer (Hanahan, Weinberg 2011)

Par ailleurs, on décrit plus récemment la capacité des cellules cancéreuses à modifier leur métabolisme du glucose en utilisant principalement la glycolyse même en présence d'oxygène. On parle d'effet Warburg, cela leur permet de soutenir leur croissance rapide et leur prolifération, même dans un environnement défavorable.

Enfin, l'altération du micro-environnement qui entoure la tumeur favorise son développement :

- Inflammation chronique : Les cellules inflammatoires (macrophages, neutrophiles) sécrètent des cytokines, des facteurs de croissance et des protéases dont se servent les cellules cancéreuses.
- Acidité : Les cellules cancéreuses produisent de l'acide lactique en grande quantité ce qui contribue à acidifier les tissus environnants. Cela facilite la dissémination tumorale et contribue à l'échappement des cellules néoplasiques aux mécanismes immunitaires.

6. Conclusion

Il est essentiel de saisir la structure du génome eucaryote, les différentes étapes et points de contrôle du cycle cellulaire, ainsi que les cascades d'évènement qui déclenchent la mort cellulaire pour la compréhension des mécanismes d'action des différentes stratégies anti-cancéreuses développées dans cette thèse.

En effet, la plupart des méthodes cytotoxiques, dont font partie la chimiothérapie, la radiothérapie, la photothérapie dynamique ainsi que la cryothérapie inhibent la capacité des cellules tumorales à se diviser et provoquent un stress important à l'origine de la mort cellulaire.

Les cellules tumorales présentent des caractéristiques particulières, qui leur confèrent une capacité de prolifération accrue ainsi que de nombreux mécanismes de défenses. Cela les rend particulièrement difficiles à traiter. Néanmoins, ces particularités peuvent également être exploitées pour améliorer les performances des traitements, en offrant de nouvelles cibles thérapeutiques.

PARTIE 2

CHIMIOTHERAPIE LOCALE

1. INTERETS DE LA CHIMIOTHERAPIE LOCALE ..... **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**
   a. *Diminution des effets secondaires* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
   b. *Diminution de la dose utilisée* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
   c. *Contournement des mécanismes de résistance* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
   d. *Faible cout* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
2. PRINCIPALES MOLECULES UTILISEES CHEZ LES EQUIDES ..... **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**
   a. *Agents alkylants : Sels de platine* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
      i. Action génotoxique (prépondérante) : ..... **Erreur ! Signet non défini.**
      ii. Stress oxydatif et modulation des voies de signalement du calcium..... **Erreur ! Signet non défini.**
   b. *Agents antimétabolites : 5-Fluorouracile (5-FU)* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
      i. Inhibition de la transcription ..... **Erreur ! Signet non défini.**
      ii. Fragmentation de l'ADN ..... **Erreur ! Signet non défini.**
      iii. Perturbation du pool de nucléotides ..... **Erreur ! Signet non défini.**
   c. *Bléomycine* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
3. CADRE REGLEMENTAIRE DE LA CHIMIOTHERAPIE ..... **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**
4. MODALITES D'ADMINISTRATION..... **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**
   a. *Application topique* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
   b. *Injection directe intra-lésionnelle* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
   c. *Formes solides à dégradation lente* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
   d. *Méthodes annexes* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
5. APPORT DE L'ELECTROCHIMIOTHERAPIE ..... **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**
   a. *Action directe* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
      i. Induction d'un potentiel transmembranaire ..... **Erreur ! Signet non défini.**
      ii. Transport à travers la membrane perméabilisée ..... **Erreur ! Signet non défini.**
   b. *Action indirecte* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
      i. Réduction temporaire du flux sanguin ..... **Erreur ! Signet non défini.**
      ii. Cytotoxicité sur les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins **Erreur ! Signet non défini.**
      iii. Déclenchement de la réponse immunitaire systémique ..... **Erreur ! Signet non défini.**
6. CONCLUSION ..... **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**

La chimiothérapie est un traitement à base de médicaments cytotoxiques visant à détruire ou à freiner la prolifération des cellules cancéreuses, qui se multiplient de manière anarchique. Ces médicaments agissent principalement en perturbant des processus cellulaires essentiels tels que la réplication de l'ADN ou la division cellulaire.

Parmi les mécanismes d'action principaux, on retrouve les agents alkylants, qui forment des liaisons covalentes avec l'ADN, les antimétabolites, qui interfèrent avec la synthèse des acides nucléiques, et les inhibiteurs de topoisomérases, qui empêchent la relaxation de l'ADN pour la réplication. Certains médicaments agissent en bloquant la mitose, comme les poisons du fuseau mitotique, qui perturbent la dynamique des microtubules nécessaires à la séparation des chromosomes pendant la mitose. (Harrington et al. 2021; Chabner, Longo 2011).

1. Intérêts de la chimiothérapie locale

Il existe un grand intérêt à utiliser les molécules de chimiothérapie directement au niveau de la lésion (intra ou péri lésionnel) par rapport à une utilisation systémique.

a. Diminution des effets secondaires

Les substances toxiques utilisées en chimiothérapie ne font pas la différence entre tissu sain et tissu tumoral. Ainsi, elles peuvent affecter de nombreuses cellules environnantes, notamment celles à renouvellement rapide. On citera par exemple les cellules souches du tractus digestif et les cellules sanguines précurseurs dans la moelle osseuse impliquées dans l'hématopoïèse. C'est pourquoi les médicaments anti-cancéreux sont susceptibles d'entrainer de nombreux effets secondaires chez l'homme et les animaux de compagnie : notamment des signes digestifs (perte de poids, anorexie, diarrhées, coliques) et hématologiques (neutropénie, lymphopénie).

La chimiothérapie par voie générale est peu utilisée chez le cheval, des protocoles systémiques dans le traitement de lymphomes sont parfois décrits. Sur une étude rétrospective réalisée sur 15 équidés entre 1991 et 2007 (Luethy et al. 2019), neuf chevaux sur 15 ont présentés des effets secondaires notables après traitement : ce sont des signes cutanés : alopécie (2/15), gastro-intestinaux : coliques (1/15), hématologiques : neutropénie (2/15), lymphopénie (3/15), neurologiques (1/15) ou enfin des réactions d'hypersensibilité de gravité variable (4/15 chevaux, tous traités à la doxorubicine). Cela illustre le fait que la chimiothérapie systémique est susceptible d'entrainer des effets secondaires parfois graves, étant donné l'utilisation de grands volumes mais aussi la large diffusion des agents anti-cancéreux dans les tissus.

b. Diminution de la dose utilisée

L'administration d'une molécule cytotoxique directement au contact de la tumeur nous permet avec une moindre dose d'obtenir une meilleure distribution et une concentration du produit toxique augmentée au niveau des cellules tumorales.

On estime que l'on utilise seulement 2% de la dose que l'on aurait utilisée par voie systémique pour obtenir le même effet sur la tumeur (Knottenbelt, Patterson-Kane, Snalune 2015). Ce phénomène est particulièrement intéressant pour les agents à cytotoxicité dose-dépendante.

c. Contournement des mécanismes de résistance

La chimiothérapie locale permet de contourner certains mécanismes de résistance aux traitements anticancéreux.

On peut prendre l'exemple de tumeurs peu vascularisées comme les sarcoïdes. Les molécules circulant dans le système sanguin diffusent peu jusqu'aux cellules tumorales. Ainsi la concentration finale est insuffisante pour obtenir un effet toxique. Cela explique certains échecs thérapeutiques que l'on peut contourner avec la chimiothérapie locale.

d. Faible cout

Le prix est nettement moindre pour le propriétaire, ce qui peut encourager la prise en charge de la tumeur.

2. Principales molécules utilisées chez les équidés

Les sources utilisées afin de construire ce développement sur les agents de chimiothérapie locale sont les suivantes : (Chabner, Longo 2011; Harrington et al. 2021; Sprayberry, Robinson 2015; Chabner, Longo 2019).

a. Agents alkylants : Sels de platine

Les agents alkylants sont des molécules possédant toutes au moins un groupement alkyle de formule -CH_2Cl. Les principaux agents alkylants utilisés en chimiothérapie sont les sels de platine, dont l'un des premiers précurseurs est le cisplatine ou cis-diamminedichloroplatine(II) (CCDP). Les moutardes azotées dérivées du mechlorethamine sont également des agents alkylants mais ces dernières ne sont pas utilisées en médecine vétérinaire pour la chimiothérapie locale, elles ne seront donc pas traitées ici.

Le cisplatine est un composé de coordination du platine. A température ambiante, on le retrouve sous la forme d'une poudre solide jaune à orangée peu soluble dans l'eau.

Ce composé a été synthétisé pour la première fois en 1844 par Michel Peyrone. Sa structure est par la suite élucidée en 1893 par Alfred Werner. Ce n'est que dans les années 1960 aux Etats Unis que l'on s'aperçoit des propriétés cytotoxiques des dérivés de l'électrolyse du platine, capables d'inhiber la croissance d'E.coli. Le cisplatine devient alors une grande source d'intérêt pour le traitement des cancers. Il est mis sur le marché en 1978 comme le premier médicament anti-cancéreux reconnu par le FDA (Food and Drug Administration).

De nombreux analogues ont été étudiés ou synthétisés afin de contrer les mécanismes de résistance au cisplatine ainsi que ses effets secondaires. Parmi eux, on retrouve notamment des sels de platine de seconde génération comme le carboplatine ou Cis diammine 1,1-cyclobutanecarboxylatoplatine.

La structure des sels de platine est plane, ils sont composés d'un ion platine doublement chargé entouré de quatre ligands. D'un côté, on retrouve des ligands amine. De l'autre, des groupements alkylants : par exemple des ligands chlorure (cisplatine) ou carboxylate (carboplatine), qui en réagissant avec l'eau (réaction d'aquation) permettent à l'ion platine d'effectuer des liaisons avec les différentes bases de l'ADN (Figure 11).

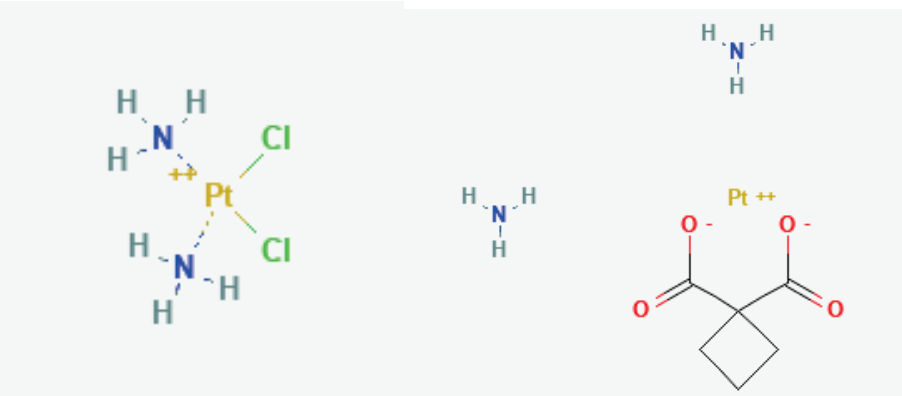

Figure 11 : Structure chimique bidimensionnelle du cisplatine et du carboplatine (Pubchem)

Penchons-nous sur les mécanismes moléculaires à l'origine de la cytotoxicité du cisplatine (Dasari, Tchounwou 2014), qui est susceptible d'agir à toutes les phases du cycle cellulaire. Cela s'applique également à ses analogues.

Il entre dans les cellules à l'aide de transporteurs analogues des P-glycoprotéines de type MDR1, composés de pompes d'efflux ATPases (MRPs, ATP7A/B), de transporteurs de cuivre CTR1, et de SLCs, AQP2, et AQP9. Une fois dans la cellule, le cisplatine s'hydrolyse avec le départ des deux atomes de chlore. Ce produit est un électrophile (chargé positivement) très réactif : il possède une grande affinité pour les neutrophiles (composés chargés négativement), Cela correspond à de nombreux composés de la cellule, dont les groupements phosphates de l'ADN.

i. Action génotoxique (prépondérante) :

Le cisplatine forme des liaisons covalentes avec l'ADN, cela entraine la formation de ponts intra et intercaténaires anormaux entre les deux brins d'une hélice. On appelle ces complexes ADN-platine des adduits. La réplication ne peut alors pas se réaliser correctement par défaut de séparation des brins par l'ADN hélicase, il n'y a pas de division cellulaire possible.

Le cisplatine a une affinité particulière avec les bases purines. La liaison la plus fréquente se fait sur l'azote en position 7 du cycle purine de la base guanine.

ii. Stress oxydatif et modulation des voies de signalement du calcium

Le cisplatine induit la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) en grande quantité, entrainant un stress oxydatif dans la cellule. On verra par la suite que cela impacte principalement le fonctionnement de la mitochondrie avec la perte du groupe sulfhydrile de la protéine mitochondriale, l'inhibition de l'absorption du calcium et la réduction du potentiel membranaire. Ce phénomène est d'autant plus exacerbé dans les cellules tumorales qui subissent déjà un stress oxydatif basal lié à la stimulation oncogénique, au dysfonctionnement mitochondrial et à une activité métabolique augmentée.

Regardons en détail comment sont formés les ROS : Le glutathion mitochondrial (GSH) est essentiel à la conservation des groupes sulfhydrile sous forme réduite : ce qui permet de réguler le potentiel rédox de la cellule. Par ailleurs, toute enzyme déshydrogénase contenant un groupe sulfhydrile est inactivée si ce groupe n'est pas maintenu en forme réduite. En présence de cisplatine, la concentration de GSH diminue, entrainant globalement l'inhibition des déshydrogénases, ce qui a pour conséquence le découplage de la phosphorylation oxydative au niveau de la membrane mitochondriale. Cela provoque d'une part : la formation de nombreux radicaux libres pouvant causer des dommages aux protéines et aux lipides insaturés cellulaires par peroxydation, allant jusqu'à endommager la perméabilité membranaire, et d'autre part : un efflux de calcium hors de la mitochondrie, avec une concentration intracellulaire de calcium augmentée.

En résumé, les effets majoritaires du cisplatine dans la cellule sont un endommagement de l'ADN, une perturbation de l'homéostasie calcique avec une perte de potentiel mitochondrial, ainsi qu'un stress oxydatif entrainant une peroxydation des lipides. Il s'ensuit de ces différentes perturbations une mort cellulaire par apoptose. En effet, les dommages de l'ADN et le stress oxydatif entrainent la libération de cytochrome c de la mitochondrie, déclenchant la cascade de la voie intrinsèque. Les ROS entrainent également l'activation des récepteurs FAS par phosphorylation et la cascade de la voie extrinsèque de l'apoptose.

b. Agents antimétabolites : 5-Fluorouracile (5-FU)

Il s'agit d'un nucléotide uracile pour lequel un atome d'hydrogène en position C5 est remplacé par un atome de fluor. A température ambiante on le retrouve sous forme de cristaux blancs inodores (Figure 12).

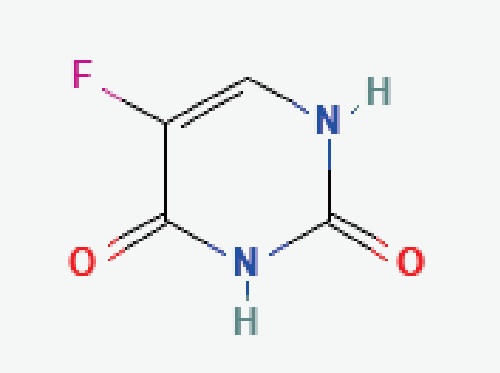

Figure 12 : Structure chimique bidimensionnelle du 5-Fluorouracile (Pubchem)

Il a été synthétisé pour la première fois en 1957 par C.Heidelberger.

Le 5-FU entre dans la cellule par les mêmes voies que l'uracile ou par transport passif transcellulaire. Etant un dérivé de l'uracile, il possède par ailleurs une grande affinité pour les cellules tumorales où il est plus facilement incorporé que les autres nucléotides. Une fois dans la cellule il subit de nombreuses réactions enzymatiques. Il produit alors différents métabolites actifs possédant trois modes d'actions interdépendants (Vodenkova et al. 2020)(Figure 13) :

i. Inhibition de la transcription

Dans la cellule, le 5-FU peut être transformé en 5-fluorouridine monophosphate (FUMP) par voie indirecte via l'action de l'uridine phosphorylase (UP) puis l'uridine kinase (UK). Il existe également une voie directe.

Le FUMP subit par la suite une cascade de phosphorylation menant au fluorouridine diphosphate (FUDP) puis au fluorouridine triphosphate (FUTP). Celui-ci est alors intégré à l'ARNm lors de la transcription où il remplace près de 50% de l'uracile. Il y a finalement une interruption subséquente de la synthèse d'ARN car la transcription est erronée.

ii. Fragmentation de l'ADN

Une autre voie du 5-FU après entrée dans la cellule est celle du 5 fluorodésoxyuracile monophosphate (FdUMP), obtenu après réactions successives catalysées par la thymidine phosphorylase (TP) puis la thymidine kinase (TK). Le FdUMP est alors phosphorylé en 5 fluorodésoxyuracile diphosphate (FdUDP) par l'uridine monophosphate kinase (UMPK). Il peut également être obtenu par réduction d'un FUDP par la ribonucleotide reductase (RNR). Le FdUDP subit ensuite une nouvelle phosphorylation en 5 fluorodésoxyuracile triphosphate (FdUTP) qui pourra être utilisé dans la synthèse d'ADN, provoquant des dommages puis des fragmentations des brins nouvellement synthétisés.

iii. Perturbation du pool de nucléotides

Le 5-FU exerce enfin son effet antitumoral par l'inhibition de l'enzyme thymidylate synthase (TYMS), nécessaire à la synthèse de thymidine monophosphate (dTMP), précurseur de la base pyrimidique thymine. Cela perturbe grandement le pool de nucléotides intracellulaires disponibles pour la réplication et la réparation de l'ADN, menant in fine à la mort cellulaire par apoptose.

Le FdUMP forme un complexe ternaire avec le 5,10-methylenetetrahydrofolate (CH2THF), empêchant l'uridine monophosphate (dUMP) de se fixer au site de liaison de la TYMS par compétition.

Par ailleurs, l'inhibition de la TYMS mène à l'accumulation de dUMP non utilisé dans la cellule qui est phosphorylé en uridine triphosphate (dUTP)

L'augmentation du ratio dUTP / dTTP (thymidine triphosphate) a pour conséquence l'utilisation par l'ADN polymérase d'uracile à la place de thymine dans l'ADN, ce qui entraine de nombreux mésappariements.

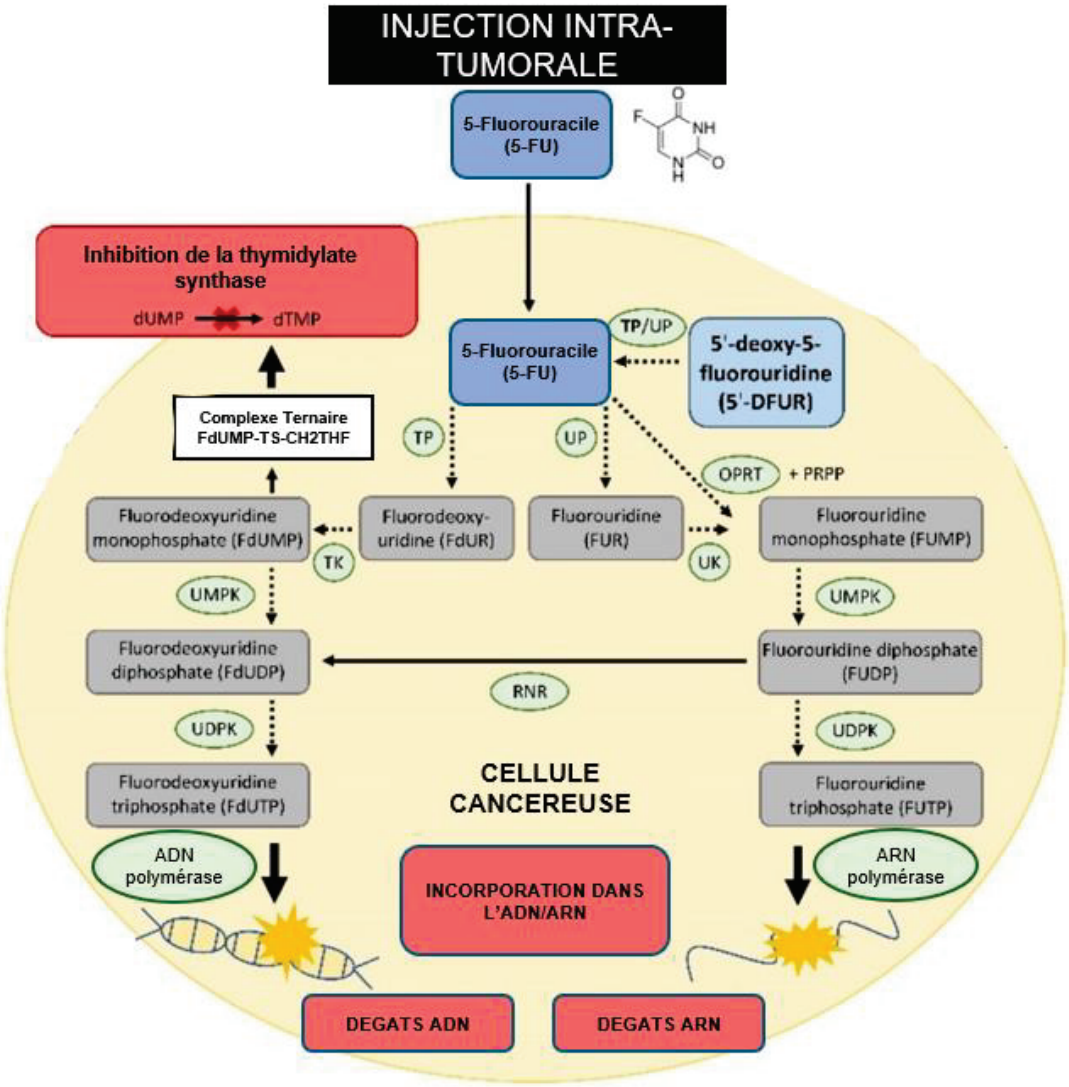

Figure 13 : Mécanismes d'action du 5-Fluorouracile (inspiré de Vodenkova et al. 2020)

c. Bléomycine

Les bléomycines sont à la fois des agents antibiotiques et anticancéreux. Cette famille de molécules est composée de glycopeptides de structure complexe et de haut poids moléculaire, qui agissent par un mécanisme d'action unique contre les cellules tumorales. Elles ont été isolées à partir du champignon *Streptomyces verticillus* en 1965 par un scientifique japonais : Umezawa. On utilise majoritairement aujourd'hui la bléomycine A2, composé synthétique (Figure 14). Macroscopiquement, elle existe sous forme de sels de sulfate. Le médicament final est finalement reconstitué avec de l'eau PPI.

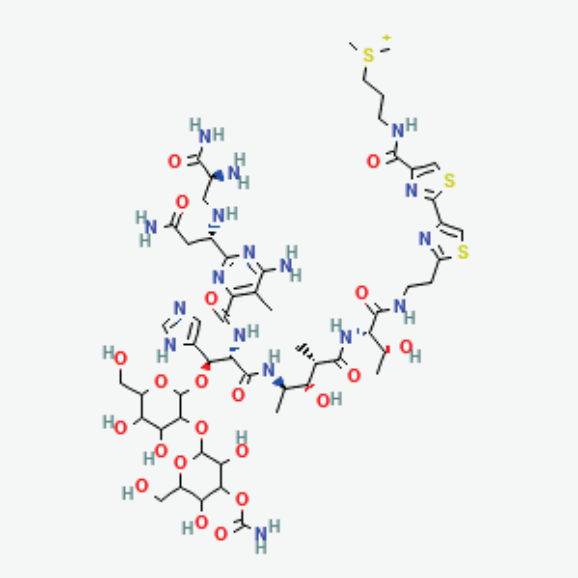

Figure 14 : Structure chimique bidimensionnelle de la bléomycine (Pubchem)

L'action cytotoxique de la bléomycine est spécifique de la phase G2. Elle nécessite la présence de deux cofacteurs : un ion métal de transition (principalement Fe2+ et Cu+), et de l'oxygène moléculaire (Hecht 2000).

Le mécanisme d'action de la bléomycine n'est pas complètement élucidé, voici ce qu'on suppose à ce jour : Elle est administrée sous forme de prodrogue : l'apobléomycine qui une fois dans l'organisme forme rapidement un complexe bléomycine-Cu(II). Ce dernier pénètre les cellules via un phénomène d'endocytose puis il se désolidarise lorsque l'ion Cu2+ est réduit en Cu1+ via des protéines intracellulaires riche en cystéine. C'est ensuite un complexe Bléomycine-Fe(II) qui se forme, et c'est cet état final qui est responsable de la mort cellulaire via de multiples mécanismes (Goodwin et al. 2023) :

- L'induction d'un stress oxydatif
- Des cassures simple ou double brin de l'ADN par intercalation au niveau d'une queue C-terminale/ fragment bithiazole.
- Un clivage direct de l'ADN via l'activité enzymatique d'un complexe Bléomycine-Fe(II)-O2 activé par réduction.

A de hautes concentrations, il est également suspecté que la bléomycine est impliquée dans le clivage des molécules d'ARNt et l'arrêt de la synthèse protéique.

Ce sont des molécules hydrophiles passant péniblement la membrane cellulaire : elles nécessitent l'action d'un transporteur dont la nature n'est pas bien définie.

3. Cadre réglementaire de la chimiothérapie

L'utilisation de molécules cytotoxiques peut s'avérer dangereux pour le manipulateur. En effet, les médicaments anti-cancéreux peuvent avoir des effets mutagènes, tératogènes et cancérigènes lors d'une exposition peu maitrisée. C'est pourquoi la chimiothérapie s'inscrit dans un cadre légal strict, défini par l'arrêté du 18 juin 2009 relatif aux bonnes pratiques d'emploi des médicaments anticancéreux en médecine vétérinaire. L'Ordre National des Vétérinaires (ONV) a d'ailleurs publié la même année un guide réglementaire constitué de fiches techniques permettant le respect de cette législation.

Voici les points clés à retenir de la réglementation pour la chimiothérapie locale des équidés ;

- La chimiothérapie se déroule dans une clinique ou un centre hospitalier où le vétérinaire prescripteur de médicaments anti-cancéreux est déclaré auprès de l'ONV.
- Une hospitalisation de minimum 24h est obligatoire lors de l'administration de médicaments anti-cancéreux à dose maximale tolérée, ce qui nécessite des locaux adaptés à la gestion des excreta (litière, urines). Les boxes sont immédiatement nettoyés et décontaminés à l'aide de Javel à la sortie du patient. Les déchets sont stockés dans des conteneurs « déchets chimiques à risque toxique » puis sont confiés à un prestataire de collecte habilité afin de procéder à une incinération.
- Le port d'équipements individuels de protection (EPI) est obligatoire pour toute personne en contact direct ou indirect avec les produits, ce à toutes les étapes de la chimiothérapie.
- Le stockage des agents de chimiothérapie se fait dans des armoires et réfrigérateurs dédiés, en respectant les modalités de conservation et dates de péremption.
- Tout local et matériel utilisé est correctement signalé et leur accessibilité est limitée uniquement au personnel autorisé.
- Pour un animal donné, une feuille de préparation est éditée à chaque séance et regroupe toutes les informations relatives au patient, la dose calculée pour son poids du jour ainsi que les modalités de reconstitution du médicament.
- La reconstitution se fait dans un local dédié, sous hotte à flux laminaire, en utilisant des systèmes clos. La préparation est ensuite directement étiquetée.
- L'injection intra-tumorale du traitement se réalise sur animal tranquillisé voire anesthésié. Les modalités d'administration sont décrites dans la partie suivante.
- Une fiche d'information est donnée au détenteur de l'animal afin qu'il puisse assurer une période de surveillance accrue de durée propre au principe actif utilisé.

4. Modalités d'administration

a. Application topique

Certaines molécules anti-cancéreuses sont formulées sous forme topique sur le marché mondial. Ces spécialités sont fréquemment utilisées outre-Atlantique mais ne sont pas toutes autorisées en France. C'est le cas du 5-FU qui existe en crème pure concentrée à hauteur de 5%, (EFUDIX) ou en conjonction avec d'autres ingrédients (AW4-LUDES), et en collyre 1% à appliquer toutes les 8 heures dans le cul de sac conjonctival. Cela permet notamment de traiter des carcinomes superficiels conjonctivaux ou cornéens, ou en complément d'une exérèse locale d'une tumeur péri-oculaire.

b. Injection directe intra-lésionnelle

Dans les tissus, les molécules de chimiothérapie diffusent peu (0.5cm) et sont rapidement dispersées dans le flux sanguin. On estime que le cisplatine reste moins de 15 minutes au niveau du site lésionnel. C'est pourquoi les formes aqueuses sont peu utilisées et remplacées la plupart du temps par des émulsions huileuses stables, permettant le relargage plus lent dans la tumeur. Cela a aussi comme avantage un risque de fuite plus faible.(Knottenbelt, Patterson-Kane, Snalune 2015; Théon et al. 1993)

Ces émulsions sont préparées en amont de la chimiothérapie, elles consistent à mélanger la molécule sous forme aqueuse avec de l'huile de sésame stérile. On stabilise fréquemment l'émulsion avec un émulsifiant composé de polysorbates : on citera par exemple le SPAN-80 contenant de l'oléate de sorbitan. La stabilité est testée en laissant quelques minutes l'émulsion sans signe de séparation de phases.

On obtient des émulsions de l'ordre de 3.3mg/mL pour le cisplatine et l'on cherche à obtenir une concentration finale au site tumoral de 1mg/cm3. Les émulsions de carboplatine sont quant à elles plus concentrées (15.6mg/mL) pour une concentration finale recherchée de 10mg/cm3. Elles sont ensuite chargées dans une seringue à embout verrouillable de capacité adaptée, avec des aiguilles sécurisées de 21 à 24G.

Le site d'injection est tondu et aseptisé. On fait pénétrer profondément l'aiguille dans la tumeur en différents axes parallèles espacés de 0.75 à 1cm. L'injection se fait en retirant progressivement l'aiguille et en protégeant le site d'entrée avec une compresse. On réalise ensuite des injections orthogonales à notre première orientation puis on change de plan afin de ne pas recoupée une ligne déjà injectée et ainsi limiter le risque de fuite. Cette mesure est réitérée autant de fois que nécessaire afin de couvrir tout le volume tumoral, on parle de « crosshatch pattern » ou motif à hachures croisées (Figure 15).

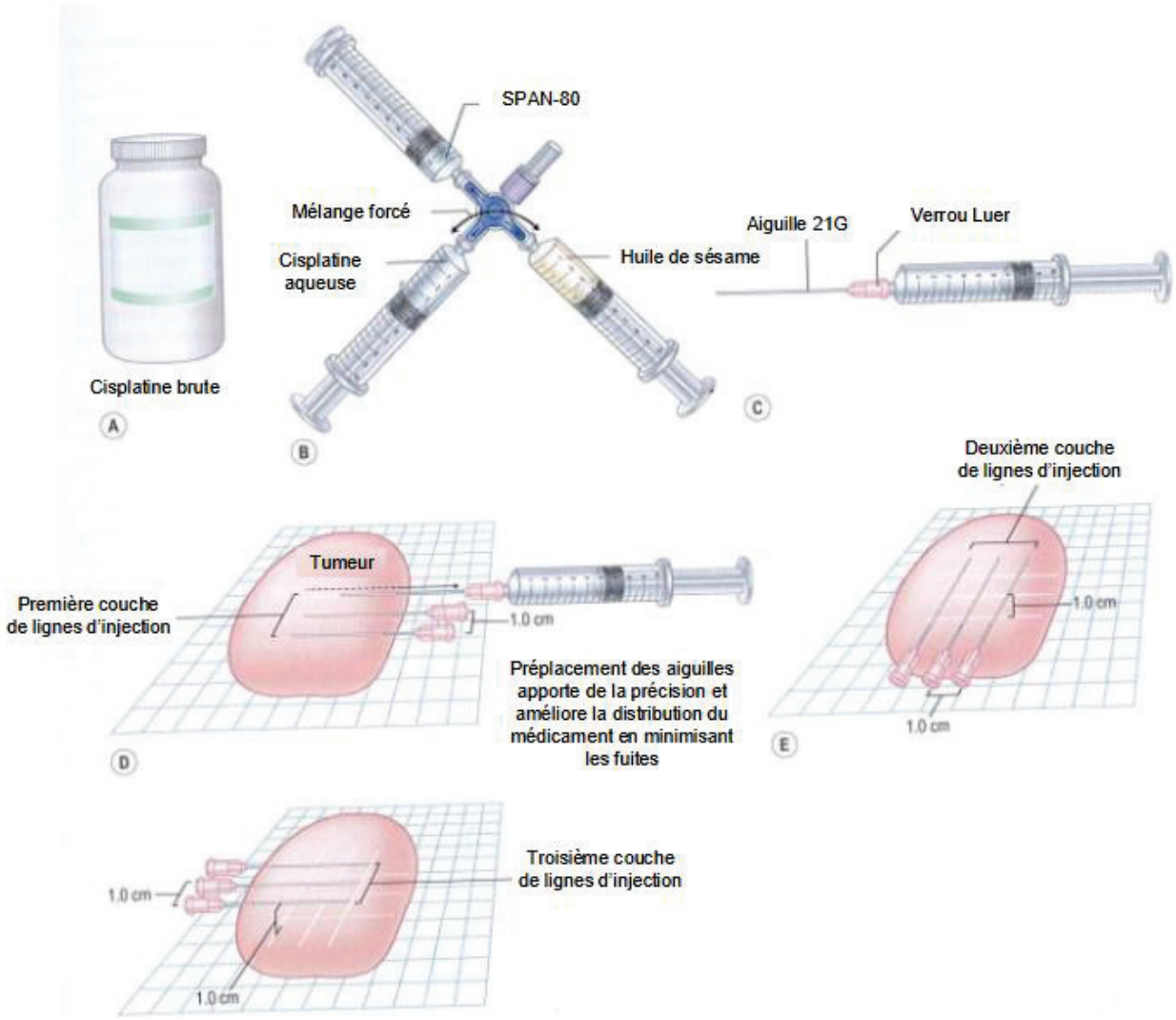

Figure 15 : Méthode d'injection intra-tumorale d'une émulsion de cisplatine selon un motif en hachures croisées (Knottenbelt, Patterson-Kane, Snalune 2015)

Cette technique nécessite souvent plusieurs traitements, espacés de deux à quatre semaines d'intervalle. Elle a pour avantage d'avoir peu d'effets secondaires locaux, avec de l'œdème modéré voire de la nécrose dans les cas les plus graves. Comme vu précédemment, l'injection intra-tumorale présente certaines limites comme la difficulté d'injection au niveau des tumeurs péri-oculaires, le risque de fuite de la solution après injection ou bien encore la problématique de conserver une émulsion stable. Enfin, rappelons que la chimiothérapie locale par injection intra-lésionnelle présente un risque d'exposition pour le manipulateur : il peut se piquer voire s'injecter de l'émulsion lors de défaut de contention ou d'analgésie de l'animal traité.

- Données d'efficacité

La plupart des publications récentes (années 1990-2000), portées par l'oncologue professeur émérite de l'Université de Californie Alain P.Théon, se concentrent particulièrement sur la chimiothérapie locale à base de cisplatine. Une étude préliminaire sur le traitement de sarcoïdes et carcinomes épidermoïdes (Théon et al. 1993; Théon, Pascoe, Meagher 1994) montre un taux de non-récidive tumorale un an après traitement respectivement de 87% et 65%. Dans un second papier (Théon, Pascoe, Meagher 1994) utilisant des émulsions de cisplatine en quatre séances d'injection espacées de deux semaines d'intervalle, le taux de non-récidive toute tumeur confondue est de 92 +/- 5% un an post-chimiothérapie et de 77 +/- 11% quatre ans après le traitement.

Enfin, un article comparant l'efficacité du cisplatine en péri et post-opératoire (Théon et al. 1999) ne démontre pas de différence significative entre les deux cohortes, excepté pour des tumeurs de fort index mitotique, où la repopulation cellulaire est importante entre la chirurgie et la chimiothérapie.

Une étude rétrospective globale de grande échelle vient corroborer ces résultats sur le long terme, elle est pionnière en oncologie moderne (Théon et al. 2007)(Annexe n°1) : Elle porte sur le traitement des 630 tumeurs cutanées chez 573 équidés (chevaux, ânes et mulets) traités au centre hospitalier vétérinaire de Californie entre 1995 et 2004. Le cisplatine est injecté en intra- et péri-tumoral à raison de 1 mg/cm³, en plusieurs séances espacées de deux semaines. Il est associé ou non à une exérèse chirurgicale réductive ou totale. Les résultats montrent que le taux de contrôle local (deux ans après traitement) toute tumeur confondue après un protocole complet était de 95,9 %. Le taux de guérison (quatre ans après traitement) s'élevait à 93,3 %. (96,3 % pour les sarcoïdes, 88 % pour les carcinomes épidermoïdes). Parmi les 39 récidives observées, 25 ont été traitées avec succès lors d'une seconde chimiothérapie. L'analyse statistique a révélé plusieurs facteurs pronostics importants :

- Protocole de traitement : L'association de chimiothérapie et exérèse complète (résidu microscopique) produisait des taux de guérison nettement plus élevés que la chimiothérapie seule ou avec exérèse incomplète.
- Stade tumoral : Le contrôle local diminuait avec l'augmentation du stade tumoral. Par exemple, les sarcoïdes de stade T1 avaient un taux de récidive de 0 %, tandis qu'il chutait à 13 % pour les stades plus avancés.
- Traitements antérieurs : Les animaux ayant subi des traitements antérieurs, en particulier la cryothérapie, avaient des taux de récidive plus élevés.

Dans l'ensemble de ces publications, les effets secondaires étaient modérés (œdème, prurit) et se résolvaient généralement sans impact significatif sur l'état général des animaux (Figure 16).

Une étude rétrospective a été publiée par suite de la prise en charge de 23 sarcoïdes par chimiothérapie intra-tumorale à base de 5-FU chez 14 équidés entre août 1999 et août 2000 à l'université du Kansas (Stewart, Rush, Davis 2006)(Annexe n°2). Les sarcoïdes ont été traitées par injections intra-lésionnelles réitérées au besoin toutes les deux semaines, associées initialement à une réduction chirurgicale pour les tumeurs plus volumineuses. Une évaluation a été réalisée six semaines après la fin du traitement, avec un suivi sur trois ans. Le taux de résolution à six mois était de 71,4 %, et à trois ans, 68,4 % des tumeurs n'ont pas récidivé (8/13 chevaux). Les tumeurs de petite taille et non traitées préalablement ont significativement montré un meilleur taux de succès. Les résultats montrent que le 5-FU est une option efficace et peu coûteuse, bien qu'il soit moins adapté aux tumeurs volumineuses ou traitées antérieurement.

Enfin, peu de données sont disponibles concernant la bléomycine. Il existe une étude comparant l'efficacité du cisplatine et de la bléomycine sur des carcinomes palpébraux (Théon et al. 1997). Avec des doses respectives de 1mg/cm3 et 1 UI/cm3 en quatre séances espacées de deux semaines d'intervalle, le taux de contrôle local du cisplatine un an après traitement était de 93 +/- 6% comparé à 78 +/- 10% pour la bléomycine, ce qui ne représente pas une différence significative. On aura tendance à se tourner plutôt vers le cisplatine pour son faible coût et son succès thérapeutique.

Une étude pilote récente (Knottenbelt et al. 2020) s'intéresse à une forme encapsulée de bléomycine dans des liposomes pour faciliter sa pénétration dans les cellules. Cette formulation utilisée en combinaison avec du 5-FU mène à une résolution de sarcoïdes peu invasifs 77% supérieure à celle obtenue pour le 5-FU utilisé seul. Cela pourrait ouvrir de nouvelles solutions thérapeutiques à base d'agents anti-cancéreux peu liposolubles à l'avenir.

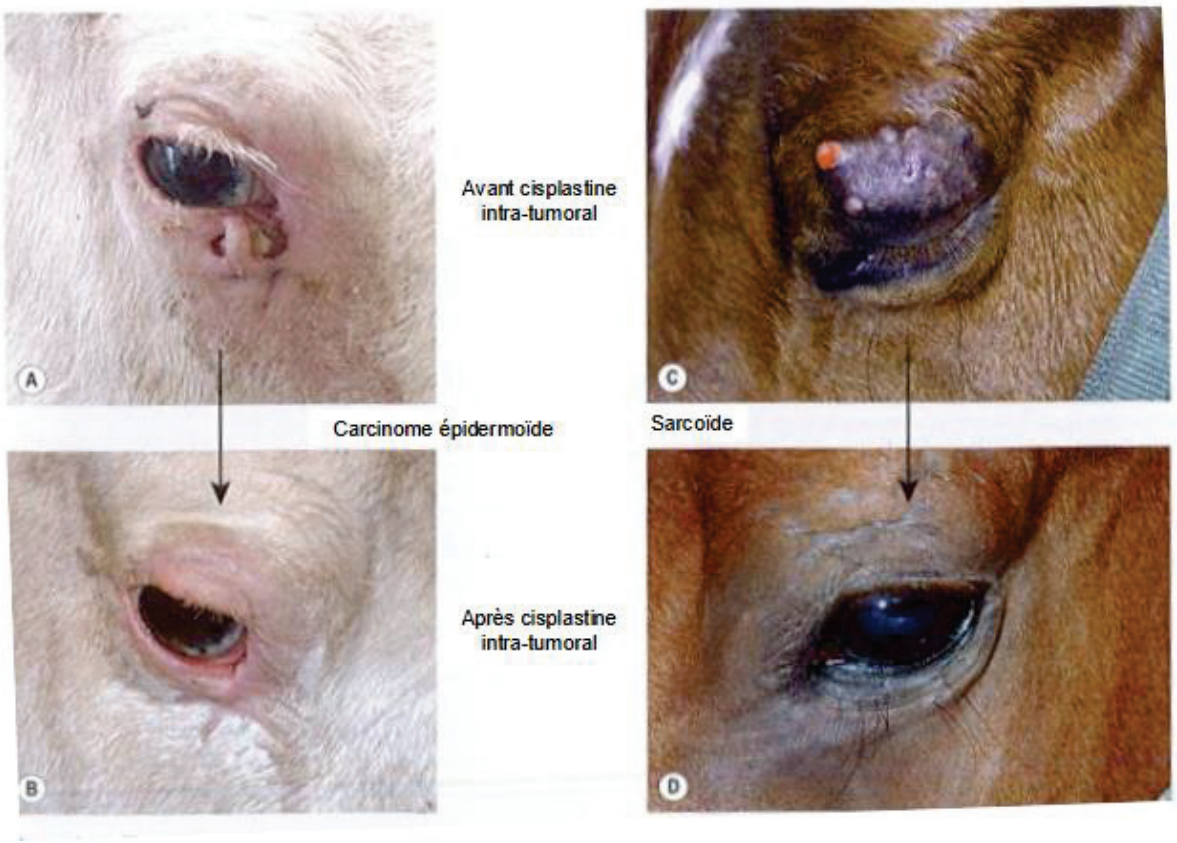

Figure 16 : Résolution d'un carcinome épidermoïde de la paupière inférieure et d'une sarcoïde de la paupière supérieure suite à une chimiothérapie à base de cisplatine intra-lésionnel (Knottenbelt, Patterson-Kane, Snalune 2015)

c. Formes solides à dégradation lente

Pour contrer l'estompement rapide des agents anticancéreux au sein de la tumeur, il a également été conçu des implants permettant d'assurer une diffusion longue et continue des molécules de chimiothérapie. C'est le cas des perles : ce sont des matrices solides chargées en produit, biodégradables, qui se désintègrent lentement au contact de la tumeur.

Les plus connues sont les billes de cisplatine Matrix III commercialisées par Royer Biomedical Inc. (USA). Elles sont composées d'une matrice à base de sulfate de calcium et de sulfate de dextrane, à laquelle on ajoute du cisplatine à une concentration de 7%. Elles font 3mm de diamètre pour un poids de 20 à 26mg (Figure 17). On estime qu'une bille contient environ 1.6mg de cisplatine. Après stérilisation, elles se stockent à température ambiante à l'abri de la lumière.

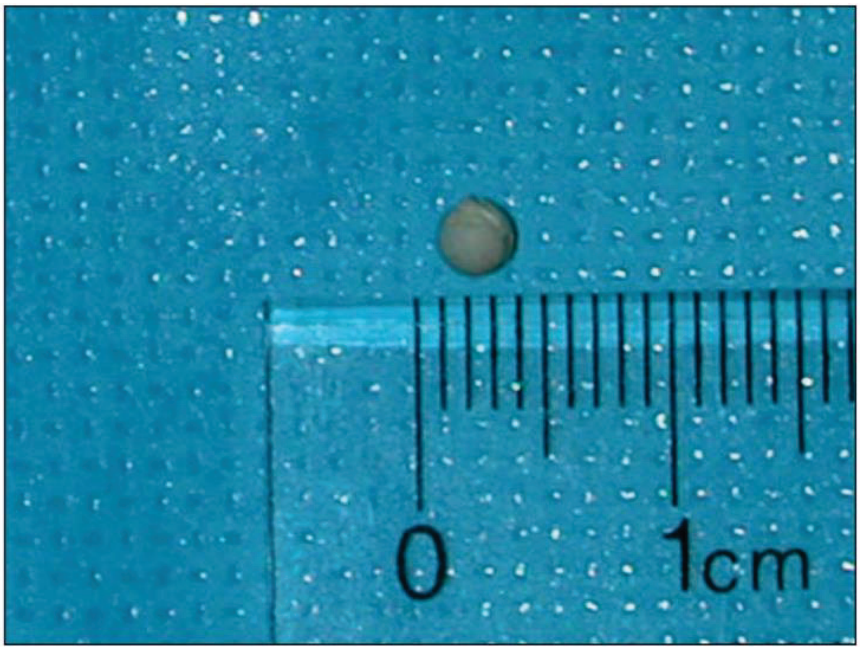

Figure 17 : Photographie d'une bille biodégradable contenant du cisplatine (Hewes, Sullins 2006)

Les perles sont utilisées seules ou en complément d'une chirurgie. Elles sont placées la plupart du temps sous anesthésie générale. On réalise des incisions au scalpel, éloigné de 9 à 10mm, on y insère les perles puis on referme à l'aide d'une suture résorbable ou d'une agrafe pour assurer le maintien de la perle. Cela se fait sur toute la périphérie de la plaie chirurgicale, et également au niveau du lit de la plaie dans le cas où la cicatrisation se fait par seconde intention. (Hewes, Sullins 2006).

- Données d’efficacité

Une des principales études sur le sujet a été publiée en 2006 (Hewes, Sullins 2006)(Annexe n°3). Elle inclue 59 chevaux traités entre 2000 et 2004 au centre médical équin Marion DuPont Scott pour des tumeurs cutanées de nature variée à l’aide de billes de cisplatine à relargage lent. Ces billes, de 3mm de diamètre et contenant 7% de cisplatine, ont été insérées manuellement dans des incisions espacées de 1cm.au sein du volume tumoral pour des tumeurs de petite taille (<1.5cm). Pour des masses de plus gros volume, elles étaient placées aux berges ou dans le lit de la plaie à la suite d’une chirurgie cytoréductive.

Les résultats montrent un taux de non-récidive global de 83 % après deux ans (résolution de 85% des sarcoïdes et 60% des carcinomes épidermoïdes), avec un nombre moyen de 2,7 traitements par cheval. La majorité des chevaux ont nécessité entre une et trois sessions de traitement, mais certains ont nécessité un plus grand nombre de réimplantations. Les effets secondaires observés étaient modérés, incluant rougeur et gonflement au site d’implantation, souvent résolus en quelques semaines.

Ainsi, l’utilisation des billes de cisplatine semble présenter plusieurs avantages : une sécurité accrue pour le manipulateur, une facilité d'implantation et une réduction du nombre de traitements et d'interventions sur l’animal.

d. Méthodes annexes

Enfin, des systèmes en gels sont en cours de développement en médecine humaine, il n'existe pas d'études concernant leur efficacité en médecine vétérinaire.

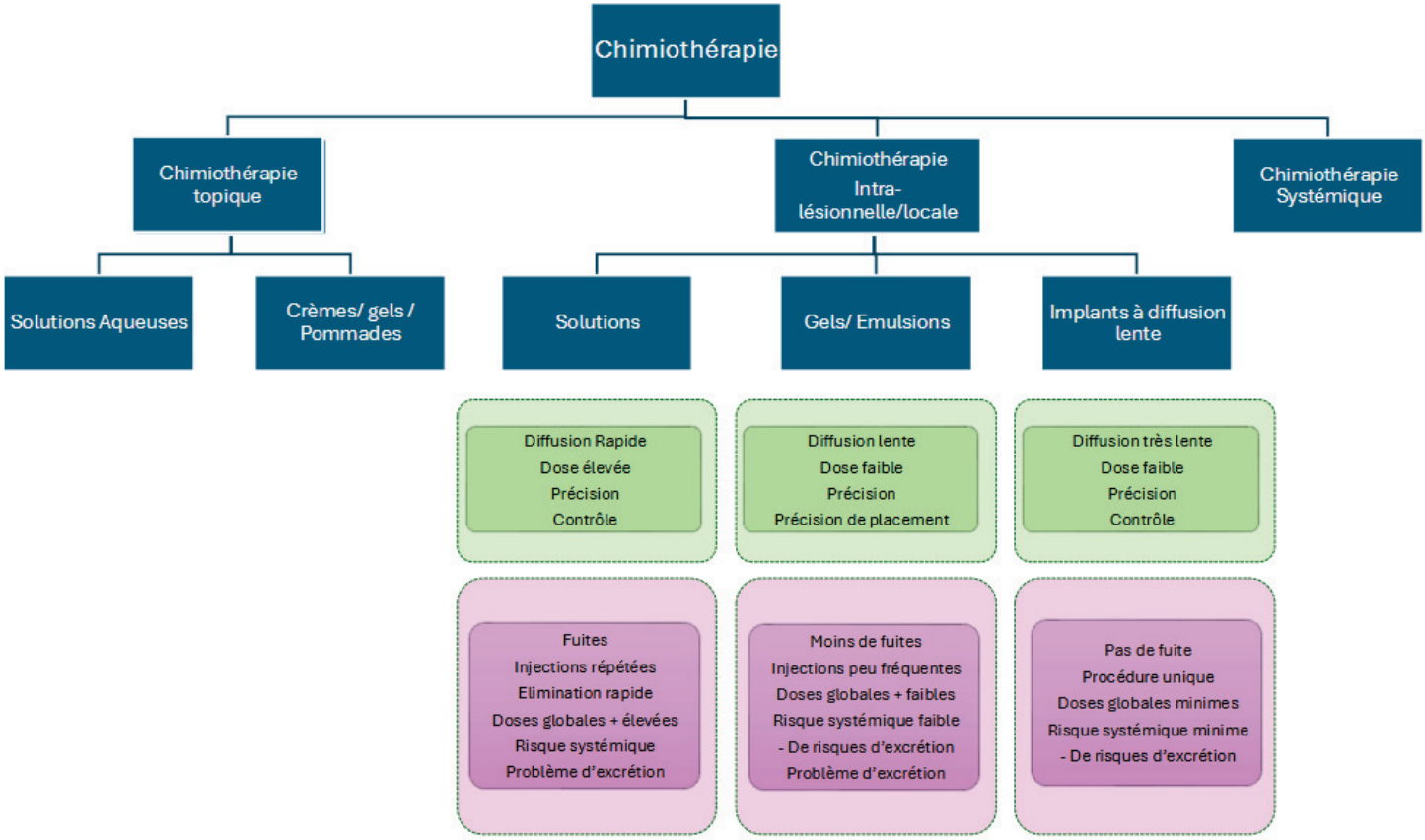

Figure 18 : Modalités d'administration des médicaments anti-cancéreux et caractéristiques associés aux différentes formulations (Knottenbelt, Patterson-Kane, Snalune 2015)

5. Apport de l'électrochimiothérapie

L'électroperméabilisation (EPB) est une méthode utilisant des champs électriques pulsatiles pour provoquer une réorganisation temporaire de la membrane plasmique cellulaire, la rendant ainsi momentanément perméable.

L'électrochimiothérapie (ECT) combine l'administration de traitements anti-cancéreux par voie locale ou systémique avec une EPB afin de faciliter leur pénétration dans les cellules tumorales. (Cemazar et al. 2008; Tozon et al. 2016; Rols, Tamzali, Teissié 2002)

Ces techniques, en plein essor depuis les années 1990, permettent d'accroitre la cytotoxicité de molécules telles que la cisplatine ou la bléomycine, qui traversent difficilement la membrane plasmique en conditions physiologiques. Cela concerne d'autres nombreux composés ne possédant pas de transporteurs transmembranaires spécifiques ou dont les paramètres physico-chimiques ne permettent pas de traversée spontanée.

a. Action directe

Les mécanismes d'actions de l'EPB ne sont pas totalement élucidés. On reconnait qu'il s'ensuit deux évènements majeurs (Figure 19) :

i. Induction d'un potentiel transmembranaire

L'application d'un champ électrique local sur la surface d'une cellule entraine la génération d'un potentiel transmembranaire. Celui-ci n'est néanmoins pas uniforme sur toute la surface cellulaire, en effet il est maximal en regard de la zone la plus proche de l'exposition aux électrodes. Lorsqu'un seuil critique de potentiel est dépassé dans un territoire donné, la membrane plasmique ne le tolère plus et se désorganise pendant environ une minute, on parle d'« électroporation » . Il s'agit d'un phénomène localisé auto-résolutif, en effet la membrane plasmique se réorganise spontanément et la cellule reste viable après son exposition.

ii. Transport à travers la membrane perméabilisée

Des molécules de faible poids moléculaire (<4kDa) peuvent alors diffuser du liquide interstitiel au cytoplasme de la cellule par simple diffusion, médiée par la différence de concentration entre ces deux milieux.

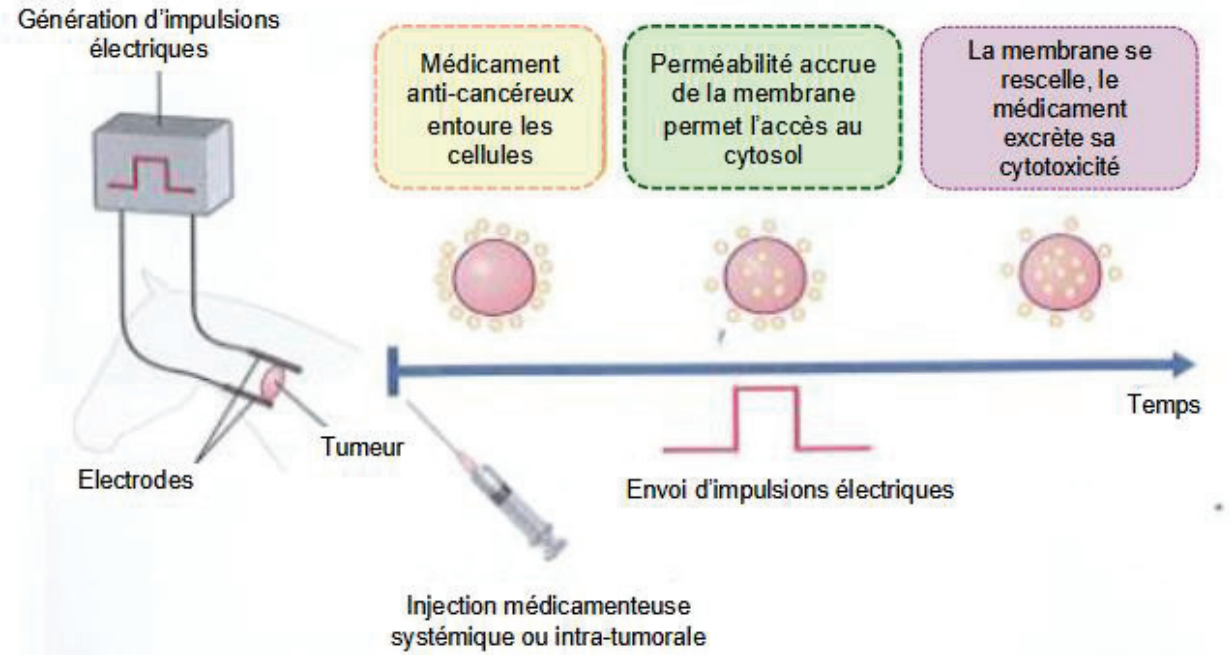

Figure 19 : Principe de l'électroporation dans le cadre de la chimiothérapie (Traduit de Knottenbelt, Patterson-Kane, Snalune 2015)

b. Action indirecte

Il existe par ailleurs des mécanismes d'action secondaire de l'ECT :

i. Réduction temporaire du flux sanguin

L'application d'un champ électrique sur un tissu entraine une réduction temporaire et réversible du débit sanguin. Cela permet le piégeage des molécules anti-cancéreuses plusieurs heures au site tumoral : la durée d'action s'en voit ainsi augmentée. Ce phénomène est également utile pour une exérèse d'une tumeur hémorragique car il réduit les pertes sanguines lors de l'acte chirurgical.

ii. Cytotoxicité sur les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins

L'ECT possède également des propriétés cytotoxiques sur les cellules stromales dont les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins. Son application peut donc détruire des vaisseaux de taille petite à moyenne et stopper la vascularisation d'un territoire tumoral, entrainant la mort par hypoxie des cellules qui y étaient irriguées.

iii. Déclenchement de la réponse immunitaire systémique

Enfin, on reconnait à l'ECT la capacité de relancer la réponse immunitaire systémique. En effet, la mort des cellules tumorales entraine le relargage d'antigènes tumoraux spécifiques (Ag), ce qui pourrait initier la reprise d'un cycle immunitaire (Chen, Mellman 2013) :

Les cellules dendritiques environnantes captent les Ag relargués, les fixent à leur complexe majeur d'histocompatibilité type I et II puis les présentent aux lymphocytes T dans les nœuds lymphatiques. La reconnaissance de l'antigène par le lymphocyte est encouragée par la présence de signaux de stress cellulaire : cytokines pro inflammatoires et facteurs de mort libérés par les cellules cancéreuses. On suppose la forte implication de l'interleukine IL2 dans le cadre de l'ECT.

Les lymphocytes T (LT) activés migrent ensuite jusqu'au site tumoral puis exercent leur activité cytotoxique après reconnaissance des antigènes sur les cellules tumorales vivantes. Le cycle est alors amplifié par le relargage d'un nouveau bouillon d'antigènes.

Souvent dans le cadre de cancer ce cycle ne fonctionne pas de manière optimale voire se retrouve à l'arrêt : En effet, le ratio de LT effecteurs et de LT régulateurs est faible et ne penche pas en faveur d'une réponse cytotoxique. De plus, les LT peuvent rencontrer des difficultés à migrer jusqu'à la tumeur et à l'infiltrer. Enfin, le microenvironnement tumoral peut contenir des facteurs inhibant l'action cytotoxique des LT sur place.

La mort cellulaire initiée par l'ECT augmenterait nettement la quantité de LT effecteurs, ce qui provoquerait une reprise du cycle (Figure 20).

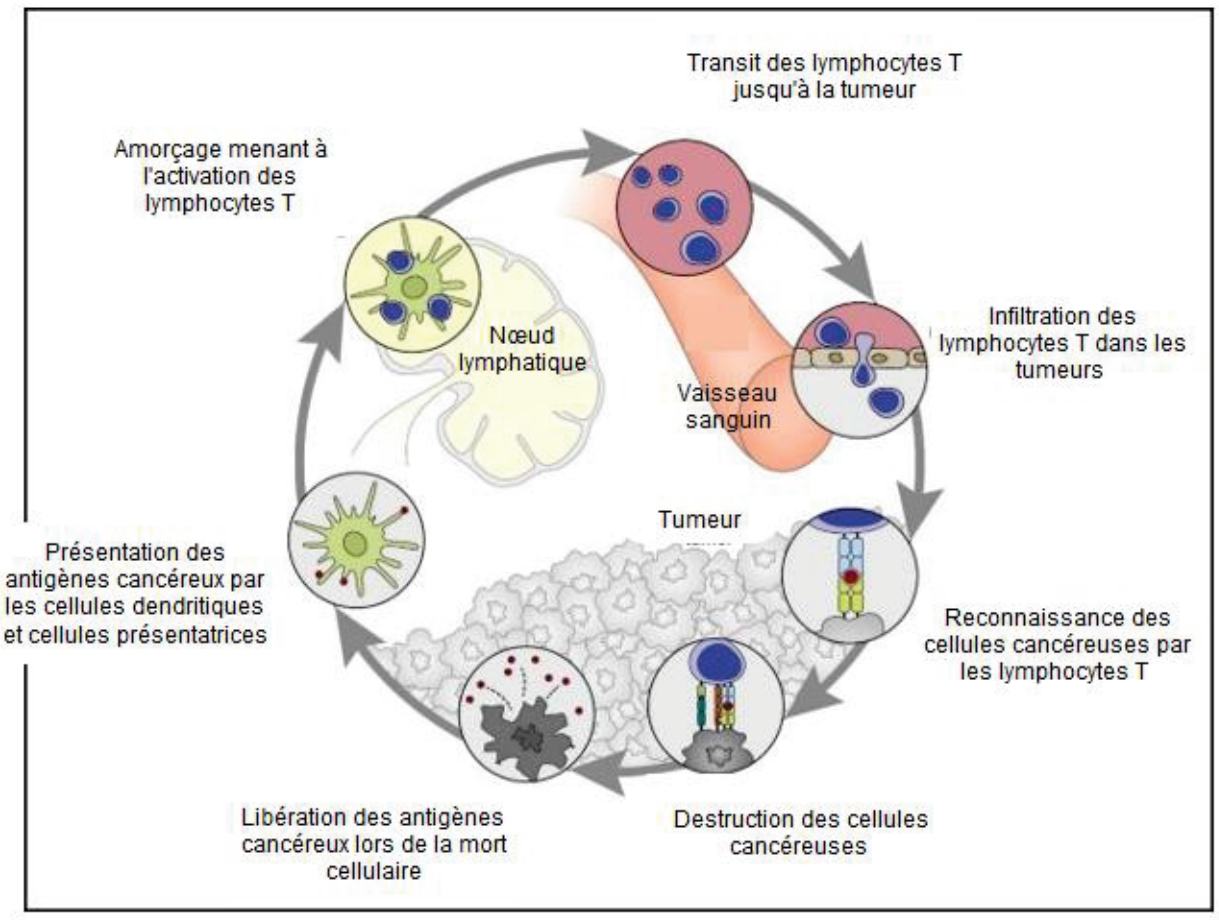

Figure 20 : Cycle immunitaire tumoral (Chen, Mellman 2013)

Ainsi l'électrochimiothérapie possède de nombreux avantages : il s'agit d'une méthode peu couteuse et relativement simple d'utilisation. Elle n'entraine que très peu de réactions locales (œdème, nécrose) et permet de préserver les tissus sains. Enfin, l'ECT permet de diminuer les doses d'agents anti-cancéreux et ainsi de limiter leurs effets indésirables. Elle nécessite néanmoins un matériel de pointe et une anesthésie générale du patient.(Knottenbelt, Patterson-Kane, Snalune 2015)

Le choix des électrodes et des paramètres se fait idéalement par une modélisation mathématique selon la taille et le volume de la tumeur. Dans les principales études réalisées chez le cheval, on utilise des électrodes de contact avec les paramètres suivants : Ondes carrées uni ou bipolaires, d'amplitude proche de 1000 V/cm et de fréquence 1 Hz (durée 100µs).

Les électrodes à aiguilles ou plates conviennent mieux à des animaux de petite taille. En effet, les aiguilles sont invasives et traversent difficilement la peau lorsqu'elle est épaisse comme chez le cheval.

- Données d'efficacité

Dans une étude préliminaire sur l'électrochimiothérapie (ECT) à base de cisplatine sur des sarcoïdes équines réalisée en 2002, il a été démontré un taux de non-récidive de 100 % 18 mois après traitement (Rols, Tamzali, Teissié 2002). Deux études indépendantes plus récentes ont été publiées pour étayer ces résultats, participant ainsi à l'établissement d'un protocole de référence pour l'ECT (Tamzali et al. 2012; Tozon et al. 2016)(Annexe n°4)

La première étude, menée à l'école vétérinaire de Toulouse (1999-2004), a impliqué 47 équidés traitant 194 sarcoïdes, tandis que la seconde étude (2003-2010) a concerné 32 chevaux et 70 sarcoïdes. Les tumeurs verruqueuses et nodulaires étaient traitées curativement tandis que les tumeurs fibroblastiques nécessitaient conjointement une exérèse chirurgicale.

L'ECT a été réalisée sous anesthésie générale, avec une préparation aseptique de la zone tumorale et une injection de cisplatine sous forme aqueuse avant électroporation. Les chevaux ont été suivis toutes les quatre semaines dans l'étude de Tamzali et toutes les deux semaines dans celle de Tozon.

Les résultats ont montré une très haute efficacité de l'ECT. Dans l'étude de Tamzali, le taux de réussite était de 99,5 %, avec 193/194 tumeurs traitées avec succès, nécessitant en moyenne 2,8 sessions. Les effets secondaires étaient minimes avec principalement des œdèmes locaux auto-résolutifs. L'étude de Tozon a quant à elle montré une réponse complète ou partielle dans 99,5 % des lésions pour les tumeurs traitées uniquement par ECT, et 94,4 % pour celles ayant bénéficié d'une exérèse chirurgicale associée à l'ECT. Les tumeurs de grand volume nécessitaient des sessions supplémentaires.

Ainsi, l'ECT présente des taux de réussite très élevés, surpassant les traitements par cisplatine en émulsion ou en perle, s'imposant véritablement comme un traitement de choix en oncologie moderne.

6. Conclusion

La chimiothérapie locale est une des stratégies cancéreuses les plus utilisées en médecine vétérinaire. En effet, la littérature rapporte de très bons résultats sur les tumeurs cutanées du cheval, notamment les sarcoïdes, avec des rémissions de l'ordre de 87 à 93% lors d'injections intra-lésionnelles de sels de platine et allant jusqu'à 100% de guérison sur le long terme en association avec électroporation. Cependant, l'utilisation d'antimétabolites comme le 5-FU semble plus limitée avec des taux de résolution de l'ordre de 70%.

La chimiothérapie permet un ciblage précis du volume tumoral, sans exposer les tissus sains à la toxicité des médicaments anti-cancéreux ce qui limite grandement les effets secondaires systémiques.

De plus en plus accessible, cela reste néanmoins une méthode couteuse, qui ne se réalise qu'en clinique spécialisée. Elle nécessite en effet des facilités adaptées au stockage des produits, à la réalisation du traitement, à l'hospitalisation des patients et à la gestion des déchets selon la réglementation en vigueur. Par ailleurs, les produits utilisés sont dangereux pour la santé humaine et animal par leurs effets mutagènes. Un des inconvénients majeurs de la chimiothérapie locale est le risque d'exposition du manipulateur, par les excrétions ou les fuites de produit.

Enfin, les différentes études s'accordent sur le constat suivant : la chimiothérapie présente de meilleurs succès thérapeutiques sur des tumeurs de faibles dimensions ou après exérèse chirurgicale subtotale.

PARTIE 3

RADIOTHERAPIE LOCALE

1. RADIATIONS IONISANTES ..... **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**
   a. *Rayonnements particulaires* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
      i. Rayons alpha ..... **Erreur ! Signet non défini.**
      ii. Rayons béta ..... **Erreur ! Signet non défini.**
   b. *Ondes électromagnétiques* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
      i. Rayons X ..... **Erreur ! Signet non défini.**
      ii. Rayons gamma ..... **Erreur ! Signet non défini.**
2. EFFETS DES RADIATIONS IONISANTES SUR LE VIVANT. ..... **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**
   a. *Echelle atomique* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
   b. *Echelle moléculaire* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
   c. *Echelle cellulaire* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
   d. *Echelle tissulaire* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
      i. Effets aigus ou immédiats ..... **Erreur ! Signet non défini.**
      ii. Effets chroniques ou retardés ..... **Erreur ! Signet non défini.**
3. RADIOSENSIBILITE DES TISSUS ..... **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**
4. CADRE REGLEMENTAIRE DE LA RADIOTHERAPIE ..... **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**
5. ETABLISSEMENT D'UN PROTOCOLE DE RADIOTHERAPIE ..... **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**
   a. *Principes du fractionnement* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
   b. *Modélisations et choix d'un plan thérapeutique* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
6. TECHNIQUES DE RADIOTHERAPIE ..... **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**
   a. *Radiothérapie externe : Téléthérapie* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
   b. *Radiothérapie interne : Curiethérapie* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***
      i. Plésiothérapie ..... **Erreur ! Signet non défini.**
      ii. Brachythérapie interstitielle ..... **Erreur ! Signet non défini.**
         ii.1 Brachythérapie LDR ..... **Erreur ! Signet non défini.**
         ii.2 Brachythérapie HDR ..... **Erreur ! Signet non défini.**
7. CONCLUSION ..... **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**

La radiothérapie est une spécialité médicale basée sur l'utilisation de radiations ionisantes pour le traitement de cancer. Son principal objectif est d'induire des dommages à l'ADN des cellules tumorales, entraînant leur incapacité à se diviser et leur élimination, tout en préservant au maximum les tissus sains adjacents.

Utilisée en médecine humaine chez plus de la moitié des patients atteints de cancer, cette discipline est reconnue internationalement. En effet, la radiothérapie possède de nombreux avantages, notamment sa capacité à cibler précisément les cellules tumorales tout en minimisant les dommages aux tissus sains environnants grâce à des techniques de planification et de fractionnement avancées. De plus, elle agit de manière localisée, réduisant considérablement les effets secondaires systémiques. Elle est également adaptée pour traiter des cancers situés dans des zones anatomiquement complexes.

Elle présente un grand intérêt pour la stratégie anti-cancéreuse des tumeurs solides. Elle a montré une bonne efficacité dans le traitement d'une large variété de tumeurs à travers différentes localisations anatomiques. Elle s'utilise notamment en monothérapie (curative ou palliative) sur des masses dont l'exérèse chirurgicale n'est pas envisagée, ou en combinaison avec une exérèse chirurgicale : par exemple lorsqu'au terme d'une opération on laisse un résidu microscopique (moins de 10^8 cellules cancéreuses), la radiothérapie permet d'éradiquer les cellules restantes et de stériliser les marges. Enfin, la radiothérapie est parfois associée d'autres modalités de traitement comme la chimiothérapie, la synergie de leurs effets permettant d'améliorer le contrôle loco-régional et réduire le risque métastatique des tumeurs traitées.

Néanmoins, cette discipline est relativement difficile d'accès en médecine vétérinaire. En effet, elle requiert la présence d'un spécialiste ainsi que des facilités et du matériel de pointe que l'on retrouve uniquement dans certains centres de référés. De plus le patient doit subir une anesthésie générale et le suivi est soutenu. On comprend alors pourquoi le coût est très élevé pour le propriétaire, ce qui a pour conséquence de freiner l'accès à ce pan de traitement. Ainsi la radiothérapie est encore peu utilisée malgré sa forte utilité. La progression technique de ces prochaines années verra certainement un essor progressif de cette discipline.

Il existe deux types de radiothérapie : la radiothérapie externe (téléthérapie) ou interne (curiethérapie) avec l'application d'une source radioactive au sein des tissus tumoraux (brachythérapie) ou en surface de la tumeur (plésiothérapie).

La construction de cette partie repose sur la synthèse de nombreux ouvrages, parmi lesquels : (Havránková 2020; Baskar et al. 2012; Yahyapour et al. 2018; Henson, Dobson 2004; Chabner, Longo 2019; Knottenbelt, Patterson-Kane, Snalune 2015; Harrington et al. 2021; Tannock 2013; Sprayberry, Robinson 2015)

1. Radiations ionisantes

Le rayonnement se définit comme l'émission et la propagation d'énergie. Il est caractérisé de « ionisant » lorsqu'il dépose suffisamment d'énergie dans les tissus qu'il traverse pour engendrer la formation d'ions (particules chargées électriquement), ce qui le rend toxique sur la matière organique.

Le terme radiation désigne l'émission de rayonnements, qui peuvent provenir de divers matériaux radioactifs, sources énergétiques ou phénomènes naturels.

La quantité d'énergie emmagasinée par le milieu à la suite d'une exposition aux radiations ionisantes s'appelle la dose absorbée. Son unité de mesure est le gray (Gy), ainsi, 1Gy correspond à l'énergie d'un joule déposée dans un kilogramme de matière. On utilise conventionnellement cette unité dans la prescription de doses de radiothérapie.

Les radiations ionisantes comportent les rayonnements de particules et les ondes électromagnétiques.

a. Rayonnements particulaires

Elles reposent sur des faisceaux de particules en mouvement. Comme elles sont dotées d'une masse, elles pénètrent peu dans les tissus et la quantité d'énergie distribuée chute rapidement en fonction de la profondeur atteinte. Cela peut constituer un avantage dans le traitement de tumeurs très superficielles.

i. Rayons alpha

Certains noyaux atomiques émettent des particules alpha correspondant à des noyaux d'hélium (particules constituées de deux protons et deux neutrons) afin de revenir à un état plus stable. On appelle ce processus désintégration radioactive. En raison de leur structure, les particules alpha sont relativement lourdes et peu pénétrantes. Elles ne sont donc pas utilisées en radiothérapie externe.

ii. Rayons béta

Une stabilisation d'un noyau en état d'excitation est également possible par transformation d'un neutron en proton ou vice versa. Appelée désintégration béta, cela entraine l'émission de particules légères, respectivement des électrons et positrons. Ces rayonnements pénètrent la peau de quelques millimètres, permettant un traitement de surface. En plésiothérapie, c'est le strontium-90 qui est la source radioactive de particules béta la plus utilisée.

b. Ondes électromagnétiques

Un rayonnement électromagnétique est une forme d'énergie qui se déplace sous forme d'ondes électriques et magnétiques oscillantes. Le photon est le quantum d'énergie lumineuse dont le flux constitue ce rayonnement. Ces corpuscules n'ont pas de masse, ce qui permet une pénétration importante dans la matière organique sans chute brutale d'énergie absorbée.

Les ondes électromagnétiques se propagent à une vitesse constante de 300 000 km/s et se caractérisent par une longueur d'onde et une fréquence, inversement proportionnelles.

D'après la loi de Planck, l'énergie du rayonnement augmente avec sa fréquence. Ainsi, parmi le spectre électromagnétique, ce sont les rayons X et gamma qui sont ionisants. Ils sont caractérisés par des photons d'énergie supérieure à 10eV et une fréquence dépassant 10^{16}Hz (Figure 21).

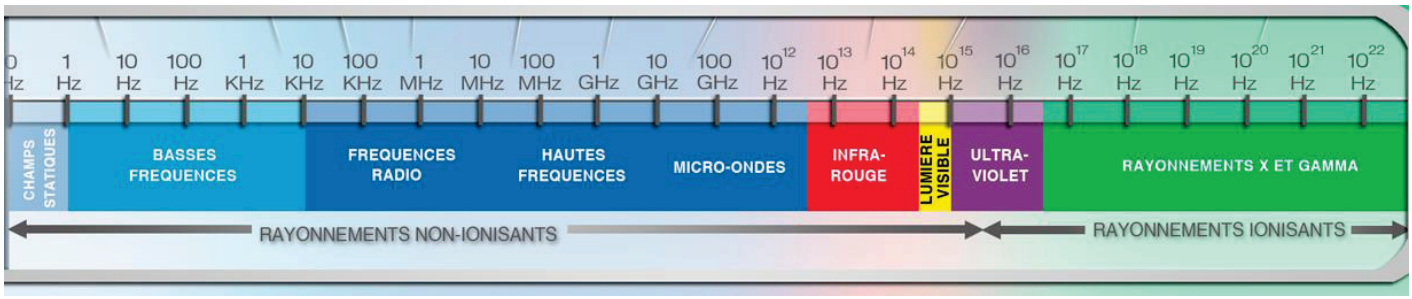

Figure 21 : Spectre électromagnétique (Institut de radioprotection et de sécurité nucléaire)

i. Rayons X

Dans le secteur médical, les rayons X sont produits par des générateurs et accélérateurs de particules. Ils sont principalement émis lorsque des électrons à haute vitesse rentrent brutalement en contact avec un noyau atomique. Cela a plusieurs conséquences : D'une part, les électrons sont déviés et décélèrent, la perte d'énergie engendrée est alors convertie en rayonnement (rayonnement de freinage). D'autre part, un électron des couches internes de l'atome rencontré peut être arraché. Un électron d'une couche plus externe va alors prendre sa place et son excédent d'énergie est transformé en rayonnement (transition électronique). Les rayonnements issus des tubes à rayons X sont filtrés et collimatés pour obtenir un faisceau utilisable : c'est le principe de la téléthérapie.

ii. Rayons gamma

Les radiations gamma sont quant à elles issues de réactions nucléaires, notamment la dégradation radioactive d'isotopes instables. Ces derniers sont caractérisés par leur demi-vie et leur spectre énergétique. En brachythérapie équine, la principale source radioactive utilisée est l'Iridium-192

Tableau 1 : Principaux isotopes utilisés en curiethérapie équine (Knottenbelt, Patterson-Kane, Snalune 2015)

Isotope	Demi-vie	Forme	Emissions	Taux constant d'exposition (R/cm2/mCi-h)
Iridium-192	74,2 Jours	Fils/ Grains	Gamma (0,38 MeV)	4,69
Iodine-125	60,2 Jours	Grains	Gamma (30 MeV) Rayons X (35 keV)	1,46
Or-198	48 heures	Grains	Gamma (0,4 MeV)	
Strontium-90	27 ans	Plaque	Beta (2,3 MeV)	

2. Effets des radiations ionisantes sur le vivant.

a. Echelle atomique

Les radiations entrainent en premier lieu des effets physiques : en l'espace d'un temps très court (ordre de grandeur 10^{-10} secondes) on observe une simple excitation ou bien une ionisation des atomes lorsque l'énergie absorbée est telle qu'elle permet un mouvement des électrons en orbite autour du noyau sur les couches les plus externes.

Lorsque les rayonnements électromagnétiques rentrent en contact avec les tissus, la déperdition d'énergie se fait principalement par effet Compton, majoritaire pour le niveau d'énergie utilisé en radiothérapie (4-18MeV) : Le transfert d'énergie implique une collision d'un photon avec un électron sur une couche externe de l'atome. Le photon transfère une partie de son énergie à l'électron puis est dispersé dans une autre direction, et ainsi de suite jusqu'à épuisement de l'énergie contenue par le photon. Les électrons perdent ensuite leur énergie en excitant et ionisant des atomes, mettant en mouvement d'autres électrons. La majorité de l'énergie absorbée par les tissus biologiques irradiés provient de cette cascade d'électrons secondaires (Figure 22).

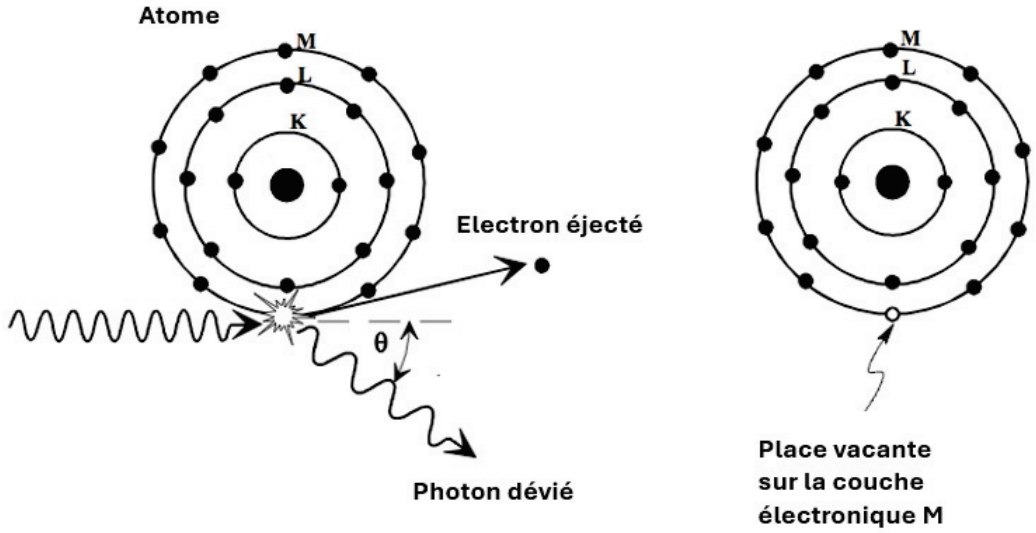

Figure 22 : Effet Compton (Wikimedia commons)

b. Echelle moléculaire

Les électrons mis en mouvement sont susceptibles de provoquer des lésions diverses sur l'ADN (ponts intercaténaires, erreur de base, cassure simple et/ou double brins). Cela se fait soit directement par dépôt d'énergie localisé au niveau de l'ADN soit indirectement par l'intermédiaire de la radiolyse de l'eau, à l'origine de la production de radicaux libres.

On estime que dans une cellule diploïde exposée à 1Gy, il se produit 10^5 ionisations à l'origine de 1000 à 3000 ponts intercaténaires, de 25 à 50 cassures double brins et jusqu'à 1000 cassures simple brin. Les cassures double brins induites par les radiations sont la principale cause de mortalité cellulaire par rapport aux autres anomalies. Les sites endommagés sont souvent rassemblés en clusters, ce qui rend la réparation de l'ADN extrêmement difficile.

c. Echelle cellulaire

La mort cellulaire découle principalement des dommages à l'ADN induits par la radiation. Secondairement, la production de ROS peut endommager la membrane plasmique par peroxydation des lipides et protéines membranaires, entrainant une apoptose.

Lorsque les capacités de réparation de l'ADN aux différents points de contrôle du cycle cellulaire sont dépassées, deux issues sont possibles : soit les mutations sont trop importantes pour permettre la survie cellulaire, le cycle s'arrête alors et la cellule se détruit par apoptose, soit la cellule peut survivre un temps avec ses mutations non létales, mais l'effet est cumulatif à chaque mitose et cela peut mener à des catastrophes mitotiques : les anomalies du génome à l'origine de la perte ou d'un ajout de centromère provoquent une migration aberrante des chromosomes lors de la division cellulaire. Les cellules filles sont des cellules géantes à morphologie nucléaire anormales, elles ne sont alors pas viables. D'autres mécanismes de mort cellulaire peuvent survenir de façon très minoritaire : c'est le cas de la nécrose et de l'autophagie.

De façon générale par suite d'une irradiation, les cellules normales et cancéreuses répondent selon le principe des 4R's :

- Réparation de l'ADN : Les cellules cancéreuses sont souvent déficientes en oxygène et nutriments, ce qui les rend plus sensibles à la radiation par défaut de réparation. Cet effet différentiel offre à l'expérimentateur une fenêtre thérapeutique afin d'atteindre les cellules cancéreuses sans compromettre l'intégrité des cellules saines environnantes, qui elles sont capable de se régénérer plus facilement.
- Redistribution : Toute cellule est plus radiosensible en phase M et radiorésistante en phase S. Lorsqu'une exposition tue les cellules en mitose, les cellules restantes se synchronisent dans leur cycle cellulaire et passent ensemble à la prochaine phase.
- Réoxygénation : La plupart du temps les tumeurs cancéreuses sont mal desservies par le réseau sanguin, en se multipliant proches des capillaires les nouvelles cellules repoussent les anciennes loin des vaisseaux, ce qui entraine leur mort par hypoxie. Ainsi le centre des tumeurs solides est souvent nécrotique. En irradiant et tuant une population de cellules, cela permet à la population restante de se réoxygéner.
- Repopulation : L'exposition aux radiations ionisantes stimule la division cellulaire. Etant mieux desservies, les cellules normales se régénèrent plus facilement que les cellules cancéreuses. Ainsi une irradiation permet l'augmentation de la proportion de cellules normales dans la tumeur, avec amélioration de son aspect esthétique et récupération par l'animal de certaines capacités fonctionnelles.

On observe chez les cellules voisines des cellules directement irradiées une diminution de la survie caractérisée par des dommages cytogénétiques et des modifications biochimiques. On appelle ce phénomène l'effet Bystander. Peu élucidé, l'hypothèse suivante est la plus communément admise : Des signaux moléculaires de détresse (notamment des cytokines) émis par les cellules irradiées diffusent aux cellules voisines via les jonctions gap et induisent différentes voies de signalisation sur ces cellules à l'origine des effets observés.

d. Echelle tissulaire

Lorsque les tissus sont exposés à des radiations, deux types d'effets indésirables sont susceptibles d'apparaitre.

i. Effets aigus ou immédiats

Ils surviennent sur les cellules à prolifération rapide et se déclarent de quelques jours à quelques semaines après le traitement. Ils sont généralement peu sévères et se résolvent d'eux-mêmes, ou éventuellement à l'aide d'un traitement symptomatique léger. On peut par exemple observer une desquamation, un érythème voire une ulcération de la peau et des muqueuses, une conjonctivite etc.

ii. Effets chroniques ou retardés

Ces effets secondaires sont tardifs et apparaissent souvent plusieurs mois après le traitement. Ils sont souvent liés à l'atteinte de la microvasculature par les radiations avec une dévitalisation progressive des tissus, et à une déplétion en cellules matrices. Ils peuvent se caractériser par une difficulté à cicatriser avec des hyperpigmentations et des alopécies, mais aussi être bien plus graves et souvent irréversibles : fibrose, nécrose, sténose etc.

Lors de radiothérapie des tumeurs péri-oculaires, il faut par exemple bien considérer la sensibilité de la cornée et du cristallin car cela peut entrainer un syndrome œil sec et une cataracte sévère.

Le cheval semble plus résistant que l'homme et les animaux de compagnie vis-à-vis de la toxicité de la radiothérapie.

3. Radiosensibilité des tissus

Les différents types de tumeurs ne réagissent pas toutes de la même façon à la radiothérapie. Certains cancers répondent très bien et nécessitent des doses faibles de radiation comme le lymphome, tandis que d'autres tumeurs dits « radiorésistantes » ont besoin de doses bien supérieures pour atteindre l'objectif, doses qui peuvent dépasser le seuil de tolérance des cellules saines et causer des dommages tissulaires, ce qui n'est pas favorable à la radiothérapie. C'est par exemple le cas des mélanomes pour lesquels la radiothérapie n'est pas une technique de choix dans la prise en charge.

La radiorésistance est multimodale : elle dépend de la taille de la tumeur (plus la tumeur a un gros volume, plus elle est radiorésistante), sa durée d'évolution (une tumeur dans les premiers stades d'oncogenèse est plus radiosensible qu'une tumeur évoluant chroniquement) ainsi que les précédents traitements auxquelles elle a été exposée qui ont permis de sélectionner des populations mutées plus résistantes.

Les meilleures candidates sont ainsi des tumeurs solides faciles d'accès, à index mitotique élevé. La plupart des tumeurs épithéliales sont considérées modérément radiosensibles.

L'environnement de la tumeur est également à prendre en considérations : en conditions hypoxiques moins de ROS sont formés ce qui rend les cellules plus radiorésistantes.

Les molécules de chimiothérapie sont radio-sensibilisantes, l'utilisation conjointe de chimiothérapie et radiothérapie a donc l'avantage de présenter un effet synergique.

4. Cadre réglementaire de la radiothérapie

L'utilisation de radiations ionisantes en médecine vétérinaire est strictement encadrée par des normes de radioprotection, ce afin de garantir la sécurité des animaux et du personnel tout en assurant l'efficacité des traitements.

En effet, la radiothérapie présente un risque pour la santé des manipulateurs, que ce soit en cas d'exposition accidentelle à de fortes doses de rayonnements, ou bien d'exposition prolongée à de faibles doses de rayonnements. Les effets cumulatifs au fil du temps (mutations génétiques, anomalies chromosomiques) peuvent alors mener au développement de cancers ou des maladies dégénératives.

Les principaux textes de loi encadrant la radiothérapie en France sont la directive européenne 2013/59/Euratom à l'échelle internationale ainsi que le Code du Travail, notamment les articles R.1333.

Regardons ensemble quelles sont les exigences de la réglementation :

- Les vétérinaires et techniciens qui utilisent les équipements de radiothérapie doivent suivre des formations spécialisées tenues par des organismes certifiés. Cela leur permet d'acquérir des connaissances en radiobiologie, en physique des radiations et en radioprotection.
- Les équipements utilisés en radiothérapie doivent être conformes aux normes établies par les autorités compétentes, notamment l'ASN en France (Autorité de Sûreté Nucléaire). Ils sont régulièrement contrôlés et calibrés pour garantir un bon fonctionnement et une utilisation sans danger.
- Le personnel utilise des protections adaptées lors de l'administration du traitement : ce sont des écrans en plexiglas, des tabliers et gants plombés etc.
- La dose de radiation reçue est étroitement contrôlée à l'aide de dosimètres portatifs.
- Un protocole de radiothérapie est établi pour chaque animal et doit répertorier toutes les informations nécessaires au traitement, notamment les dosages et méthodes de suivi des effets secondaires.
- Le traitement et l'hospitalisation se réalisent dans des facilités adaptées. Ces zones sont strictement délimitées et seul l'accès au personnel compétent et formé est autorisé.
- Les déchets radioactifs sont stockés et éliminés conformément à la réglementation en vigueur.

5. Etablissement d'un protocole de radiothérapie

Il semble important d'introduire à ce stade la notion de ratio thérapeutique : Il désigne la balance entre la probabilité de contrôle de la tumeur et de complications au niveau du tissu sain adjacent. On cherche toujours à le maximiser dans la mesure du possible.

a. Principes du fractionnement

Comme vu précédemment, on cherche à préserver les tissus sains en restant en dessous de leur seuil de tolérance (dose maximale au-delà de laquelle les lésions moléculaires sont irréversibles). Pour cela on évite de les exposer à de trop fortes irradiations.

Etant donné l'effet cumulatif des doses en radiothérapie, on recherche à distribuer une dose totale d'énergie en plusieurs fractions étalées dans le temps. Cela possède de nombreux intérêts :

- Le fractionnement permet de minimiser les dégâts sur les cellules saines qui ont le temps de réparer les dommages subis entre les sessions.
- Lors d'une irradiation, les cellules tumorales qui n'ont pas été détruites car en phase résistante (phase S) se synchronisent dans leur cycle cellulaire. Elles passent ensemble en phase sensible (phase M) ou la prochaine fraction peut être administrée.
- Les cellules restantes à la suite d'une fraction sont susceptibles de se réoxygéner. La présence d'oxygène dans le milieu lors de la prochaine session permet la formation accrue de ROS et donc une meilleure radiosensibilité.

Il n'existe pas de régime standardisé en oncologie équine. Dans cette espèce, il n'est pas raisonnable d'hyperfractionner car chaque session nécessite une anesthésie générale, une mise en place des équipements ainsi qu'éventuellement un suivi soutenu en hospitalisation. C'est pourquoi la plupart des protocoles incluent peu de fractions. Cela se réalise au détriment de la sécurité car les doses utilisées par fraction sont ainsi plus élevées, il faut donc trouver le meilleur équilibre entre le nombre de sessions et les doses par fraction afin de préserver l'intégrité des tissus sains sans imposer trop de contraintes sur le patient.

b. Modélisations et choix d'un plan thérapeutique

La tumeur est étudiée et modélisée en trois dimensions grâce à des examens d'imagerie médicale : IRM ou scanner. Cela permet de définir et localiser les volumes cibles, on parle de « contourage ». On rajoute au volume brut de la tumeur une marge pour une possible extension microscopique : c'est le volume cible clinique, ainsi qu'une marge pour le flou cinétique de l'organe en mouvement et les variations de configuration : c'est le volume cible planifié (Figure 23).

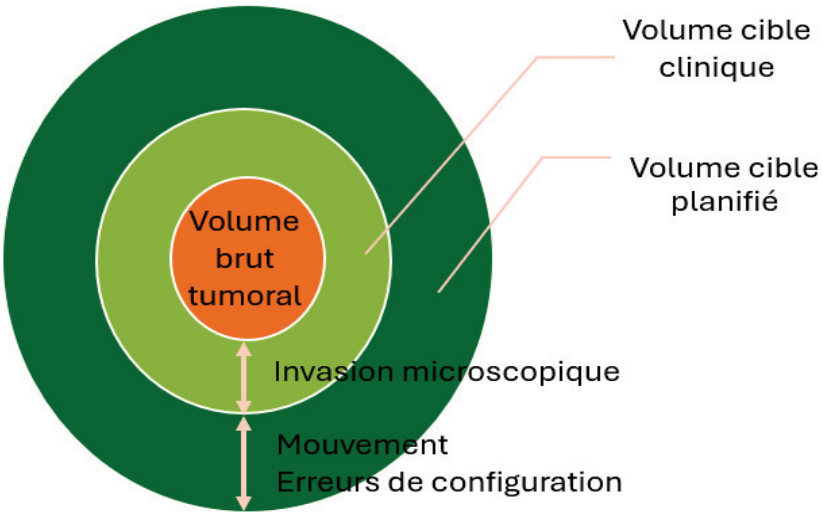

Figure 23 : Volumes d'intérêt en radiothérapie (Chloé FRASSETO)

Le spécialiste en radiothérapie utilise ces données via des logiciels spécialisés afin de déterminer la dosimétrie spécifique :

- La dose totale à laquelle on souhaite exposer la tumeur
- Le schéma de fractionnement : nombre de fractions, quantité de gray par fraction, espacement entre les sessions
- Durée totale du traitement.

Conventionnellement chez les équidés on prescrit une dose totale de 36 à 75Gy, en six à 12 fractions de 4-8gy, deux à trois fois par semaines pendant trois à quatre semaines.

6. Techniques de radiothérapie

a. Radiothérapie externe : Téléthérapie

La téléthérapie repose sur l'utilisation d'une source de rayonnement placée à distance de la tumeur. En radiothérapie humaine et vétérinaire, on utilise principalement une radiothérapie photonique mégavoltage obtenue à partir d'une source de Cobalt 60 ou d'accélérateurs linéaires de particules, avec des photons d'énergie de l'ordre du mégaélectronvolt. Les faisceaux de radiation sont collimatés afin de cibler le volume tumoral et épargner les tissus sains environnants.

De nombreux progrès technologiques ont eu lieu ces dernières années afin d'augmenter la dose reçue par les tissus tumoraux sans augmenter celle reçue par les tissus sains, ce qui a pour but de maximiser le ratio thérapeutique : d'une radiothérapie purement conformationnelle (3D), on a vu émerger la radiothérapie par modulation d'intensité (IMRT) où la dose d'irradiation délivrée par chacun des faisceaux n'est pas homogène mais modulée de façon tridimensionnelle. Enfin, on décrit plus récemment une radiothérapie stéréotaxique reposant sur l'utilisation de microfaisceaux convergents permettant d'irradier à forte dose une tumeur de faible volume avec une précision millimétrique.

La téléthérapie se montre plutôt adaptée pour des tumeurs relativement profondes, elle est donc peu utilisée dans le cadre de la prise en charge des tumeurs cutanées, notamment pour leur facilité d'accès.

b. Radiothérapie interne : Curiethérapie

La curiethérapie ou application d'isotopes radioactifs au contact de la masse permet des niveaux de dose décroissants au fur et à mesure qu'on s'éloigne de la tumeur. Cette hétérogénéité d'exposition a alors l'avantage de préserver les tissus sains avoisinants qui sont soumis à des doses bien mieux tolérées. La curiethérapie se décompose en deux catégories : la plésiothérapie et la brachythérapie interstitielle. Abordons ensemble les principales caractéristiques qui les distinguent :

i. Plésiothérapie

La plésiothérapie est définie par l'application d'une source radioactive à la surface de la tumeur (Figure 24). L'isotope de choix est le Strontium 90. Sa longue demi-vie (28.7 ans) permet une utilisation sur le long terme sans altération significative de ses propriétés. En réalité, l'énergie du rayonnement béta émis par la désintégration du strontium est insuffisante pour obtenir des propriétés thérapeutiques, c'est la désintégration de son isotope fils : l'yttrium 90 qui émet des radiations de l'ordre de 2.27 MeV qui justifie son utilisation.

La profondeur de pénétration dans les tissus est minime (de l'ordre de 2 à 2.5mm) : 60% de la dose est absorbée dans le premier millimètre. Cela permet de traiter uniquement des tumeurs très superficielles comme les sarcoïdes et carcinomes périoculaires.

Le strontium 90 est monté sur une plaque en acier inoxydable, sur laquelle est intégré un bouclier en polyméthacrylate de méthyle pour protéger la main de l'opérateur. Elle est plaquée contre la surface de la tumeur pendant quelques minutes afin de délivrer une dose de 80 à 100 Gy dans l'ensemble du volume tumoral, soit une dose de surface de 200-250Gy. Elle peut se délivrer en une séance unique ou en applications fractionnées.

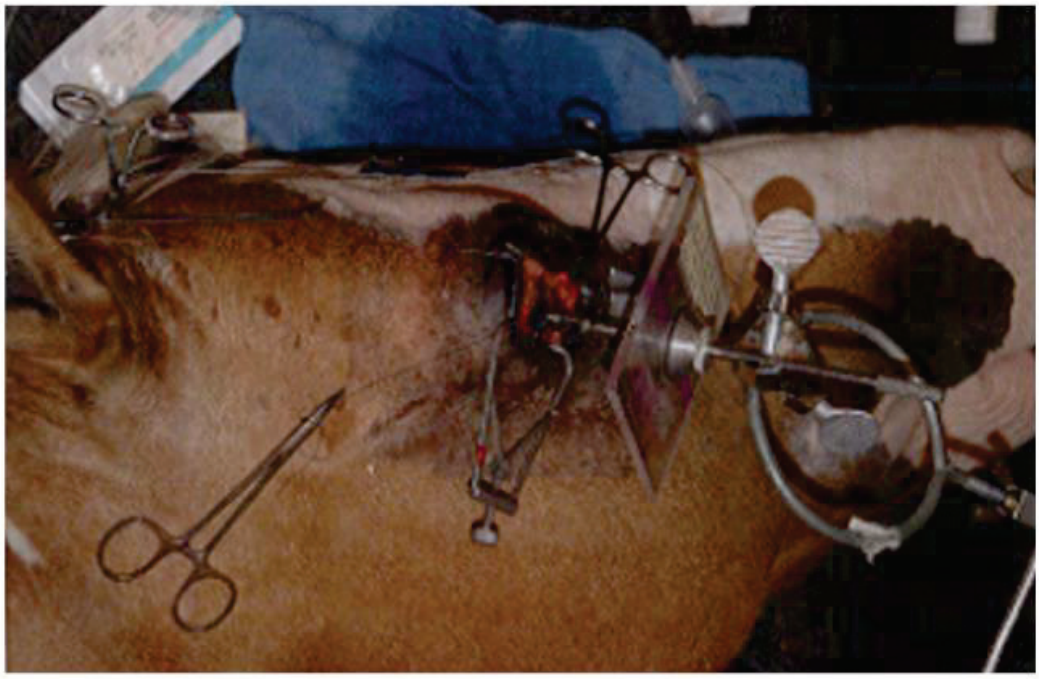

Figure 24 : Séance de plésiothérapie à base de Strontium 90 sur un carcinome épidermoïde cornéen (Knottenbelt, Patterson-Kane, Snalune 2015)

- Données d'efficacité

Il existe peu d'études en plésiothérapie équine s'intéressant aux sarcoïdes. Parmi celles-ci, on citera notamment une étude récente réalisée par Hollis (Hollis 2020)(Annexe n°7). Cette dernière évalue l'efficacité de la plésiothérapie en se basant sur l'évolution macroscopique des sarcoïdes après traitement. Seules des tumeurs superficielles, de faible diamètre (<24 mm) et bien délimitées, d'épaisseur finale inférieure à 3mm (nécessitant parfois une réduction chirurgicale préalable) ont été inclues dans l'étude. Le traitement consistait à appliquer une source de Strontium 90 de 1cm de diamètre contre la surface tumorale pour délivrer une dose de 100Gy sur 5mm de profondeur, en une à trois séances. Les résultats ont montré une résolution complète de l'ensemble des tumeurs dans les quatre à 12 semaines suivant le traitement avec des effets secondaires bénins incluant alopécie, dépigmentation et dermatite modérée. Aucune récurrence n'a été observée. Cette étude apporte d'excellentes preuves d'efficacité de la plésiothérapie. Cependant, elle souffre de certaines limites, notamment un petit échantillon et un suivi limité (trois ans maximum).

Concernant les carcinomes épidermoïdes, une grande majorité des études portent sur le traitement des tumeurs péri-oculaires. En effet, leur localisation soulève la problématique de prendre en charge la tumeur sans endommager les structures adjacentes comme la cornée. Des substances cytotoxiques utilisées en chimiothérapie pourraient traverser le stroma cornéen et causer des effets secondaires graves et irréversibles. Tandis que la plésiothérapie apporte une option de traitement plus sécuritaire et moins délabrante.

On parlera particulièrement de l'étude de Plummer (Plummer et al. 2007)(Annexe n°8) qui s'intéresse à l'apport de la plésiothérapie adjuvante à base de Strontium comparé à une kératectomie superficielle seule dans la prise en charge de SCC cornéens. Le protocole de traitement consistait à administrer une dose totale de 200 Gy délivrée en différents points au contact du globe oculaire. Parmi les 29 chevaux suivis, 24 ont montré une résolution complète des tumeurs (83%) après un suivi moyen de près de cinq ans. Deux ans après le traitement, 16 chevaux sur 20 ont présenté un taux de réussite de 80%.

Ces résultats corroborent des études antérieures sur le traitement de SCC péri-oculaires, qui rapportaient des taux de succès de 83% (Rebhun 1990) à 87,5%.(Walker, Goble, Geiser 1986) respectivement un et deux ans après traitement. Par ailleurs, l'utilisation d'une exérèse chirurgicale combinée à une plésiothérapie au Strontium 90 dans le traitement de 33 SCC péri-oculaires a démontré un taux de non-récurrence global de 84.9% (28/33) dans une étude de grande échelle réalisée en 2004 (Mosunic et al. 2004)(Annexe n°9).

ii. Brachythérapie interstitielle

La brachythérapie interstitielle désigne quant à elle l'utilisation d'une source radioactive scellée directement dans les tissus à l'aide d'implants : L'Iridium 192 est l'isotope le plus utilisé. On le retrouve sous forme de graines ou bobine de fils entourés de platine comme source de faible intensité (LDR 2Gy/h) ou au sein d'applicateurs : sources de haute intensité (HDR 12Gy/h).

D'autres isotopes sont cités dans la littérature comme l'iodine 125 ou le gold 198 : ce dernier retrouvé sous forme de graines a une demi-vie très courte (deux à trois jours) et se désintègre en un isotope du mercure émettant des radiations gamma. Cela permet de le laisser en place dans le volume tumoral (implant définitif) et d'assurer une délivrance progressive de la dose. En contrepartie il représente un plus grand danger pour le manipulateur avec des résidus de radiations. Ainsi la majorité des implants utilisés sont seulement temporaires et sont retirés une fois la dose totale atteinte.

ii.1 Brachythérapie LDR

L'implantation de la source radioactive est manuelle, elle se réalise sous anesthésie générale ou sous sédation et bloc sensoriel, le processus est alors plus rapide et sécuritaire pour l'équipe soignante. Des applicateurs spécifiques (aiguilles en acier inoxydable ou des cathéters en nylon) sont placés au sein du tissu tumoral puis les sources radioactives sont insérées à l'aide de pinces à long manche.

Les sources LDR sont laissées en place en moyenne entre cinq et 10 jours, avec une émission globale de 0.3 à 0.5Gy/h. Les doses totales prescrites varient généralement entre 50 et 90Gy en fonction des caractéristiques de la masse traitée (nature histologique, localisation, diamètre).

Le positionnement des implants est d'une importance primordiale au risque de créer des points chauds (> 107% de la dose) ou des points froids.

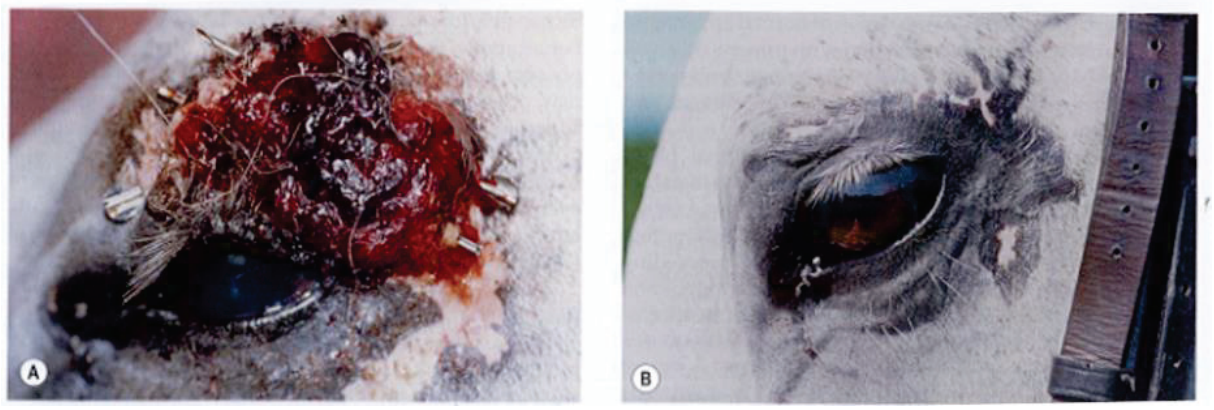

Figure 25 : Résolution d'un carcinome épidermoïde de la paupière supérieure suite à une brachythérapie faible dose à base d'Iridium 192 (Knottenbelt, Patterson-Kane, Snalune 2015)

Ces mesures nécessitent une hospitalisation et un isolement dans un box de radioprotection, l'équidé est placé sous surveillance via des caméras ou monitoré à travers des vitres transparentes. Parfois un temps d'adaptation à cet environnement stressant est nécessaire pour le cheval avant d'envisager le traitement.

La brachythérapie LDR est relativement simple de réalisation et présente de très bons résultats, néanmoins elle présente des limites pour la santé et la sécurité des manipulateurs : ces derniers sont notamment exposés lors de la mise en place et le retrait des sources, et il existe également un risque de délogement des implants. Enfin, il peut advenir des blessures ou maladies au confinement du patient.

- Données d'efficacité

Nous nous intéresserons à une étude pionnière en radiothérapie équine (Théon, Pascoe 1995)(Annexe n°5), portant sur le traitement de sarcoïdes et carcinomes péri-oculaires chez 115 chevaux. La brachythérapie repose sur l'utilisation de graines d'Iridium 192, implantées sous anesthésie générale ou locale au sein du volume tumoral pour délivrer une dose de 60 Gy sur 7,6 jours en moyenne. Les chevaux ont été suivis régulièrement pendant une période médiane de 16 mois. Les résultats montrent un taux de survie sans progression tumorale (PFS) de 86,6% après un an pour les sarcoïdes et de 81,8% pour les carcinomes, bien que ces taux diminuent à 74% et 63,5% respectivement après cinq ans. En termes d'effets secondaires, des réactions aigues modérées (érythème, desquamation, gonflement) ont fréquemment été observées tandis que des effets retardés plus graves tels que fibrose, nécrose, cataractes, et kératites ont été rapportés bien moins couramment.

L'étude révèle que les tumeurs de diamètre supérieur à 5cm sont significativement plus susceptibles de récidiver que les tumeurs de plus petite taille. Enfin, immédiatement après la chirurgie, la radiothérapie présente une meilleure efficacité mais également un risque accru de complications au site tumoral.

Une étude plus récente vient corroborer ces résultats pour la prise en charge de sarcoïdes (Byam-Cook, Henson, Slater 2006)(Annexe n°6) : elle utilise également l'Iridium comme source radioactive mais cette fois sous forme de fils recouverts de platine. Ces derniers sont implantés dans des guides tubulaires placés dans le volume tumoral, ce qui permet de délivrer une dose totale de 50 à 60 Gy (moyenne de 50 Gy) sur une période de six jours. Les résultats montrent une rémission complète de 100% pour les sarcoïdes périoculaires après un suivi médian de 14,5 mois, et une rémission de 86,7% pour les sarcoïdes non oculaires après un suivi médian de 55 mois. Les effets secondaires étaient principalement esthétiques, tels que desquamation et érythème, avec peu d'impacts fonctionnels.

Dans l'étude de Mosunic (Mosunic et al. 2004)(Annexe n°9), une exérèse chirurgicale associée à une brachythérapie à base d'Iridium 192 a montré un taux de non-récurrence de 89.5% (2/19).

Ainsi, la brachythérapie faible intensité montre de très bons résultats, elle entraine néanmoins une exposition du manipulateur et nécessite une hospitalisation prolongée tant que les implants sont en place.

ii.2 Brachythérapie HDR

La brachythérapie forte intensité ou postchargement à distance (remote afterloading) est une technologie de pointe qui tend à remplacer progressivement la brachythérapie LDR. Elle repose sur l'utilisation de sources radioactives de haute énergie stockées dans un robot appelé projecteur de source (Figure 26).

La séance se déroule comme suit : le cheval est sédaté et/ou anesthésié dans les facilités de radiothérapie puis des applicateurs connectés à la plateforme sont placés au sein du tissu tumoral. Grâce à une imagerie par arceau et des marqueurs radiodenses directement insérés dans les applicateurs, on obtient des images orthogonales de la tumeur dont on se sert pour programmer informatiquement le traitement. La plateforme permet ensuite de commander à distance les sources stockées dans le robot : ces dernières sont introduites dans les applicateurs pendant un temps défini puis retournent dans un contenant sécurisé. L'irradiation alors est intense, de courte durée (cinq à 10 minutes) et entièrement contrôlée via un ordinateur central ce qui assure la sécurité du manipulateur.

Figure 26 : Séance de brachythérapie forte intensité sur un carcinome épidermoïde pénien (Knottenbelt, Patterson-Kane, Snalune 2015)

Le cheval rentre chez lui entre les sessions, ou s'il reste il n'est pas radioactif pendant son hospitalisation. Deux à trois fractions sont souvent nécessaires et espacées d'une semaine (Figure 27).

La brachythérapie HDR nécessite des facilités de haute technologie, qui sont très couteuses. En revanche après investissement cette technique devient très économique sur le long terme.

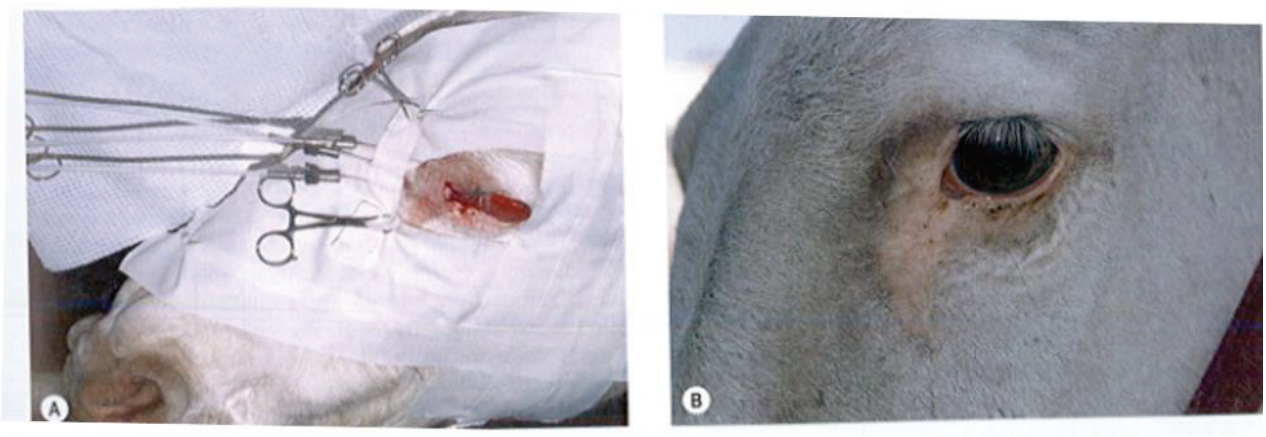

Figure 27 : Séance de brachythérapie forte intensité sur un carcinome épidermoïde palpébral et évolution 18 mois après traitement (Knottenbelt, Patterson-Kane, Snalune 2015)

7. Conclusion

En conclusion, la radiothérapie locale s'inscrit comme une excellente méthode adjuvante à l'exérèse chirurgicale pour le traitement de sarcoïdes et carcinomes épidermoïdes, tumeurs de radiosensibilité modérée répondant à des doses de l'ordre de 60Gy. Elle améliore significativement le contrôle tumoral et réduit les récidives par rapport à la chirurgie seule, en particulier pour les carcinomes péri-oculaires (Mosunic et al. 2004) :

Cette étude rétrospective porte sur la prise en charge de 157 tumeurs SCC péri-oculaires, sans (groupe 1) ou avec (groupe 2) radiothérapie adjuvante Les résultats montrent que le taux de récidive des tumeurs était significativement plus faible dans le groupe 2 (11,9%) par rapport au groupe 1 (44,1%), particulièrement pour les carcinomes palpébraux, cornéens et limbaux.

En revanche, la radiothérapie utilisée seule ne permet souvent que de limiter l'impact fonctionnel et esthétique de la tumeur et non d'obtenir une guérison totale. En effet, la radiothérapie locale permet une cytotoxicité sur une profondeur de l'ordre du millimètre (plésiothérapie) au centimètre (brachythérapie), on comprend ainsi pourquoi elle apparait plus efficace après une réduction chirurgicale du volume tumoral puisque les tissus et marges restantes sont alors exposées.

Comme pour la chimiothérapie locale, de meilleurs taux de succès sont décrits pour des tumeurs de petite taille, dont le développement est récent, et qui n'ont pas déjà reçu d'autres traitements. Cela vient à nouveau confirmer l'intérêt d'une détection et d'une prise en charge précoce des tumeurs cutanées.

Par ailleurs, la radiothérapie présente un réel avantage pour la prise en charge de tumeurs oculaires touchant des structures extrêmement fragiles comme la cornée ou le limbe. En effet, d'autres modalités de traitement comme la cryothérapie et la chimiothérapie sont susceptibles d'entrainer de graves et irréversibles effets secondaires comme une kératite sévère ou une sécheresse lacrymale. Les répercussions cliniques référencées pour la radiothérapie sont de moindre importance ce qui rend son utilisation plus sécuritaire.

Malheureusement malgré ses très bons résultats, la radiothérapie reste peu accessible en France et en Europe. Seuls de grands centres spécialisés possèdent les facilités et le matériel nécessaires. L'argument financier rentre ainsi en considération puisqu'au prix de chaque séance il faut rajouter le transport, l'anesthésie, l'hospitalisation et le suivi au long terme de l'équidé.

PARTIE 4

PHOTOTHERAPIE DYNAMIQUE

1. MECANISMES D'ACTION 78
   a. Accumulation sélective dans les tissus tumoraux 78
   b. Formation de radicaux libres 78
   c. Collapsus vasculaire 79
   d. Reprise du cycle immunitaire tumoral 79
2. AGENTS PHOTOSENSIBILISANTS 80
   a. Première génération 80
   b. Seconde génération 80
3. SOURCES LUMINEUSES 82
   a. Lumière blanche filtrée 82
   b. LASER 82
      i. Lasers à colorant 82
      ii. Lasers à diode 82
   c. Lampes à LED (diodes électroluminescentes) 83
4. DEROULEMENT D'UNE SEANCE DE PHOTOTHERAPIE DYNAMIQUE LOCALE 84
5. CONCLUSION 88

La photothérapie dynamique (PDT) est une technique médicale reposant sur l'administration d'un agent photosensibilisant (AP) s'accumulant sélectivement au sein des cellules cancéreuses, suivie d'une exposition à une lumière colorée. La photo-activation de cet agent entraine alors une réaction chimique ciblée menant à la mort cellulaire.

Etudiée pour le traitement de maladies cutanées seulement depuis les années 1970, ses propriétés sont pourtant utilisées depuis des millénaires : les peuples égyptiens dans l'Antiquité connaissaient déjà les vertus des plantes photosensibilisantes contre le psoriasis et le vitiligo. Ils appliquaient des extraits végétaux au contact direct de leur peau puis exposaient leurs lésions à la lumière du soleil.

La PDT permet aujourd'hui la prise en charge de dermatoses et néoplasies variées en médecine humaine et vétérinaire. Elle a l'avantage d'être accessible, peu invasive et de ne pas nécessiter beaucoup de soins après le traitement, avec une récupération de l'ordre de quelques heures à quelques jours. Néanmoins son utilisation chez les animaux de compagnie reste peu documentée.

Afin de construire ce développement, de nombreux articles et ouvrages ont été étudiés (Knottenbelt, Patterson-Kane, Snalune 2015; Dobson, De Queiroz, Golding 2018; Buchholz, Walt 2013; Barros et al. 2021; Henry, Higginbotham 2010; Shi, Sadler 2020).

1. Mécanismes d'action

a. Accumulation sélective dans les tissus tumoraux

Les agents photosensibilisants ont la particularité de s'accumuler préférentiellement dans les cellules tumorales. Les mécanismes à l'origine de cette affinité sont peu élucidés, on suspecte principalement certaines caractéristiques biologiques des tissus cancéreux. :

- Perméabilité vasculaire importante : cela permet à des molécules de grande taille comme les AP de pénétrer plus facilement dans les tissus.
- Drainage lymphatique anarchique : cela entraine l'accumulation d'AP au sein de la tumeur par défaut d'élimination.
- Matrice extra-cellulaire désorganisée par des enzymes protéolytiques : cela facilite la diffusion des AP à l'ensemble du microenvironnement tumoral.

b. Formation de radicaux libres

L'exposition de la tumeur à une lumière colorée entraine un passage des AP présents dans les tissus d'un état de repos (S0) vers des états atomiques excités (S1, S2..) par absorption d'énergie lumineuse : on parle de de photo-activation (Figure 28).

L'excès d'énergie est alors rapidement dissipé soit sous forme de chaleur, soit par fluorescence, c'est-à-dire l'émission de photons de moindre énergie. Ces derniers sont alors captés par les molécules d'oxygène environnante, menant à la formation d'oxygène singulet $^1O2$.

Par ailleurs, les AP peuvent également passer par un état intermédiaire appelé « triplet », dont la déperdition d'énergie par fluorescence provoque également la formation de radicaux libres, notamment des superoxydes et des hydroxyles, par oxydoréduction.

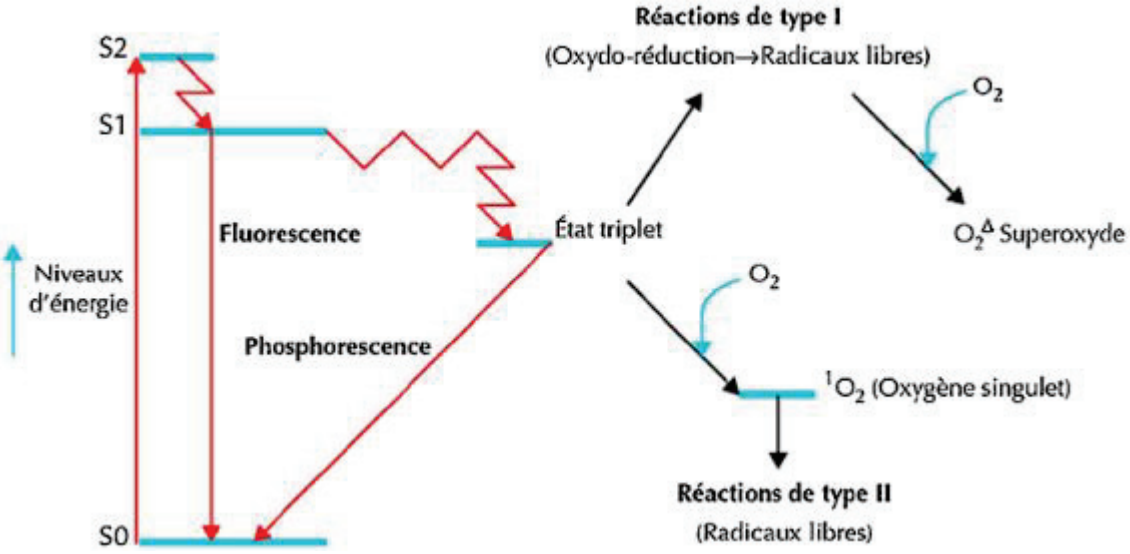

Figure 28 : Diagramme de Jablonski (Azaïs, Mordon, Collinet 2017)

Comme vu précédemment, l'accumulation de ces substances cytotoxiques provoque un stress oxydatif majeur au sein de la cellule. On observe une oxydation des acides aminés, de certaines bases nucléiques, mais aussi des lipides, menant à une désorganisation des membranes et un dysfonctionnement mitochondrial. La mort cellulaire survient principalement par apoptose, notamment à cause de la libération massive de cytochrome c par les mitochondries (voie intrinsèque). L'activation des récepteurs de mort membranaires joue également un rôle important (voie extrinsèque). Néanmoins, lorsque les dommages cellulaires sont trop sévères, la mort cellulaire peut également survenir par nécrose ou autophagie.

Ainsi, on comprend que l'efficacité de la PDT est directement influencée par la concentration en oxygène des tissus cibles. Certaines zones peu oxygénées dans un volume tumoral ne répondront que partiellement à la PDT, ce qui peut mener à des échecs thérapeutiques. A l'inverse, une pré-oxygénation des lésions peut présenter un véritable intérêt pour potentialiser les effets de la PDT.

c. Collapsus vasculaire

Par ailleurs, la PDT participe également à la diminution de la vascularisation tumorale. En effet, les APs s'accumulent préférentiellement dans les endothéliums néovascularisés des tumeurs. L'exposition à la lumière favorise alors un collapsus vasculaire, entrainant une hypoxie marquée et irréversible du volume tumoral. Les conditions ne sont alors pas propices au développement de nouvelles cellules. Il est aussi supposé un effet vasoconstricteur de la PDT par inhibition de la production et du relargage d'oxyde nitrique par les cellules endothéliales.

d. Reprise du cycle immunitaire tumoral

Enfin, à l'instar de la chimiothérapie et de la radiothérapie, la PDT mobilise l'immunité à médiation cellulaire (Th1) du patient via le relargage de signaux inflammatoires par les cellules tumorales en souffrance. Cela stimule le recrutement de macrophages et neutrophiles, qui participent largement à la destruction des cellules restantes. Des dommages sont également causés aux cellules environnantes via l'accumulation locale de cytokines et enzymes lysosomales (effet Bystander).

2. Agents photosensibilisants

Les APs possèdent un chromophore : c'est-à-dire une région moléculaire composée d'atomes reliés par une alternance des lésions simple et double. C'est cette structure qui permet l'absorption de photons à une longueur d'onde spécifique et qui procure sa couleur à un composé. La plupart des APs actuels sont activés à des longueurs d'onde comprises entre 630 et 700nm.

Les chromophores des Aps utilisés en oncologie sont majoritairement des tétrapyrroles : région moléculaire comportant quatre noyaux de pyrroles arrangés en chaine linéaire ou macrocycle. On en retrouve dans différents composés du vivant comme la bilirubine, la chlorophylle ou bien encore la porphyrine, molécule impliquée dans le transport de dioxygène dans le sang (composé de l'hémoglobine).

a. Première génération

Les APs de première génération sont des dérivés de l'hématoporphyrine. Il a ainsi été commercialisé dans les années 1990 le porfimère sodique (Photofrin ND)(Figure 29), dont le pic d'absorption est situé à 630 nm (lumière orange / rouge). Il présente néanmoins l'inconvénient de s'éliminer lentement, provoquant ainsi une photosensibilité résiduelle pendant plusieurs semaines. Ainsi, une exposition au soleil peu après le traitement de graves réactions cutanées. Par ailleurs, ces longueurs d'onde pénètrent peu profondément dans les tissus (de l'ordre de deux centimètres) ce qui ne permet que le traitement de néoplasies superficielles.

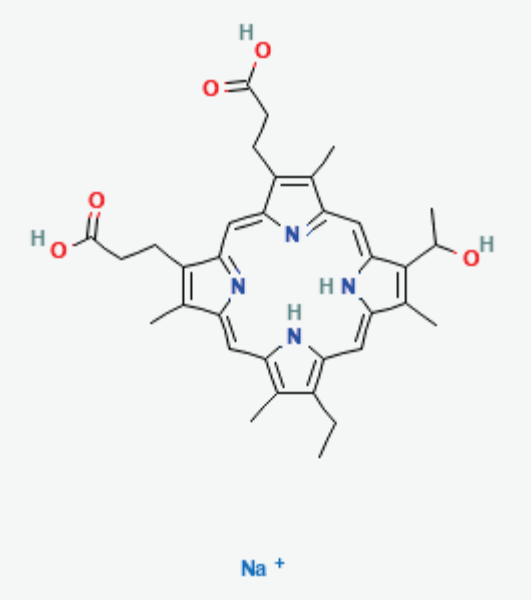

Figure 29 : Structure chimique bidimensionelle du porfimère sodique (Pubchem)

b. Seconde génération

D'autres APs dits de seconde génération ont été étudiés / synthétisés afin de mieux répondre exigences de l'oncologie moderne : une production accrue de ROS ainsi qu'une élimination plus rapide pour des effets secondaires amoindris. On recherche également des APs dont le pic d'absorption est supérieur à 630nm pour une pénétration plus profonde de la lumière au sein du volume cible.

Un des principaux représentants des APs de seconde génération est l'acide δ-aminolévulinique (ALA, Levulan ND)(Figure 30) : un des premiers précurseurs de la biosynthèse de l'hème. Une fois administré par voie locale (topique, intralésionnelle) ou systémique, il pénètre notamment dans les cellules tumorales pour lesquelles il présente une forte affinité (on suspecte l'implication des transporteurs d'acides béta-aminés et GABA exprimés en grande quantité dans ces cellules). Il est par la suite métabolisé en protoporphirine IX (PpIX) qui est un APs activé à 635 nm. Son évolution naturelle est d'être catalysée en hème par la ferrochélatase grâce à l'ajout d'un Fe^{II+}. Seulement dans les cellules cancéreuses cette enzyme est souvent déficiente, le défaut d'élimination de la PPIX entraine son accumulation intra-cellulaire. Ce phénomène rend les cellules tumorales particulièrement sensibles à l'exposition lumineuse. L'ALA a pour avantage de s'éliminer en l'espace de 12 heures et ainsi de ne présenter que très peu d'effets secondaires. Néanmoins son caractère hydrophile limite son utilisation à des affections superficielles car elle ne pénètre que très peu dans les tissus.

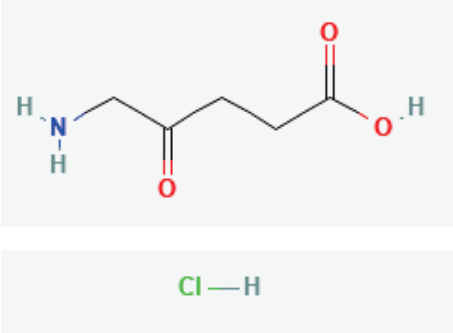

Figure 30 : Structure chimique bidimensionnelle de l'acide δ-aminolévulinique (Pubchem)

Des esthers ont ainsi été synthétisés afin de rendre les composés moins hydrophiles et ainsi pallier cet obstacle : c'est le cas de l'aminolévulinate de méthyle (MAL, MetVix ND)(Figure 31) et de l'hexa-aminolévulinate (Hexvix ND)(Figure 32). Bien d'autres APs ont été ou sont à l'étude ces dernières années, notamment des complexes métalliques et des dérivés de la chlorine.

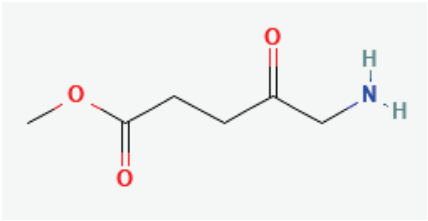

Figure 31 : Structure chimique bidimensionnelle de l'aminolévulinate de méthyle (Pubchem)

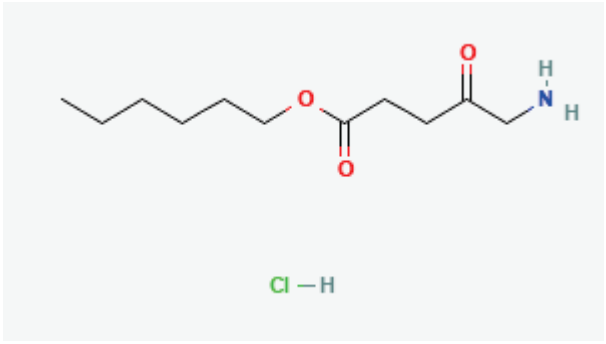

Figure 32 : Structure chimique bidimensionnelle de l'hexa-aminolévulinate (Pubchem)

3. Sources lumineuses

Afin d'obtenir les effets thérapeutiques recherchés de la PDT, il est nécessaire d'établir un plan de dosimétrie adapté à la fois aux caractéristiques de la lésion (nature du tissu, localisation, taille, accessibilité) et de l'APs utilisé (longueur d'onde et intensité lumineuse d'activation). Cela repose sur le choix de plusieurs facteurs dont la dose totale de lumière reçue, le temps d'illumination ainsi que le mode de fractionnement.

De nombreuses sources lumineuses et technologies permettent aujourd'hui de jouer sur ces différents paramètres.

a. Lumière blanche filtrée

Initialement, on utilisait des lampes émettant de la lumière blanche, équipées de filtres permettant de sélectionner une longueur d'onde spécifique. Faciles d'utilisation et peu couteuses, elles sont adaptées au traitement de zones larges et superficielles. Cependant, elles ne sont presque plus utilisées car de trop faible intensité : ce qui implique des temps de traitements particulièrement longs (de l'ordre de plusieurs heures).

b. LASER

Le LASER, acronyme de « Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation » est une des sources lumineuses les plus utilisées en photothérapie dynamique. Il s'agit d'un dispositif qui amplifie et concentre la lumière en un faisceau de très forte intensité, directif, cohérent et monochromatique. Ainsi, cette technologie ne nécessite pas l'utilisation conjointe d'un filtre et permet un temps d'illumination acceptable lors d'une séance de photothérapie. Les lasers ont également l'avantage de pouvoir être combinés à des systèmes de fibre optique, améliorant la délivrance de la lumière aux tumeurs situées dans les organes creux comme l'œsophage, ou bien dans les tissus interstitiels.

i. Lasers à colorant

Le principe des lasers à colorant repose sur l'utilisation d'un milieu amplificateur liquide contenant un colorant organique. Cela permet de choisir une longueur d'onde précise en ajustant la composition du colorant et le paramétrage du laser, afin qu'elle corresponde au pic d'absorption de l'AP utilisé.

Ce sont des sources lumineuses d'intensité élevée et adaptées à des tumeurs superficielles de petites dimensions. Néanmoins, elles sont onéreuses et peuvent être complexes à utiliser.

ii. Lasers à diode

Une diode est un composant électronique à deux électrodes qui ne laisse passer le courant électrique que dans un sens.

Les lasers à diode émettent une lumière de longueur d'onde spécifique, appartenant au spectre du visible. Ils sont plus abordables et plus compacts, ce qui rend leur utilisation relativement simple.

Le principal inconvénient des lasers est leur faisceau de faible diamètre, qui rend le traitement de lésions de larges dimensions, long et fastidieux.

c. Lampes à LED (diodes électroluminescentes)

Une lampe à LED est un dispositif qui utilise des diodes électroluminescentes pour émettre de la lumière visible ou infrarouge (Figure 33).

Ce sont des sources lumineuses de choix en photothérapie dynamique humaine et vétérinaire. En effet, elles sont conçues pour émettre une lumière de longueur d'onde spécifique avec une forte intensité, tout en consommant peu d'énergie. Elles génèrent peu de chaleur ce qui limite les dommages thermiques aux tissus traités. Elles ont une durée de vie excellente (plusieurs milliers d'heure) et sont donc particulièrement rentables. Enfin, elles peuvent être insérées dans des dispositifs cliniques mobiles, ce qui rend leur manipulation aisée et pratique pour l'opérateur, avec un niveau de précision très satisfaisant.

Figure 33 : Utilisation d'une unité LED pour irradier le lit tumoral après une exérèse chirurgicale (Giuliano et al. 2014)

4. Déroulement d'une séance de photothérapie dynamique locale

Les sources lumineuses utilisées en photothérapie dynamique ont une profondeur de pénétration très limitée dans les tissus. C'est pourquoi cette technique est très souvent précédée d'une chirurgie réductive. Cela se réalise la plupart du temps sous anesthésie générale (notamment pour les tumeurs péri-oculaires), voire sous tranquillisation uniquement si la contention est de très bonne qualité.

Les agents photosensibilisants sont relativement onéreux, leur administration systémique demanderait de grandes quantités de produit et donc un cout trop important. Ils sont ainsi majoritairement appliqués localement sous forme de crèmes ou de gels en incluant les marges tumorales.

Il est ensuite nécessaire de laisser les molécules pénétrer les tissus cancéreux pendant un temps d'incubation de deux à 24h selon le type de photosensibilisant. Pendant cette période mais aussi à l'issue du traitement, le patient ne doit pas être exposé à la lumière du jour ou à une lumière intense, il est alors placé dans des facilités dédiées permettant de maintenir la pénombre ou équipé de protections (couvertures, masques).

A la fin de la période d'incubation, les lésions sont exposées à une lumière de longueur d'onde spécifique proche du pic d'absorption de l'AP utilisé, et ce le temps nécessaire pour délivrer la dose prescrite, en moyenne 15 à 30 minutes (Figure 34). Par la suite les tissus tumoraux vont nécroser en l'espace de quelques jours. Les effets locaux sont souvent limités à un œdème, de la douleur et de l'inconfort.

Le traitement peut parfois nécessiter plusieurs séances, souvent espacées de sept jours.

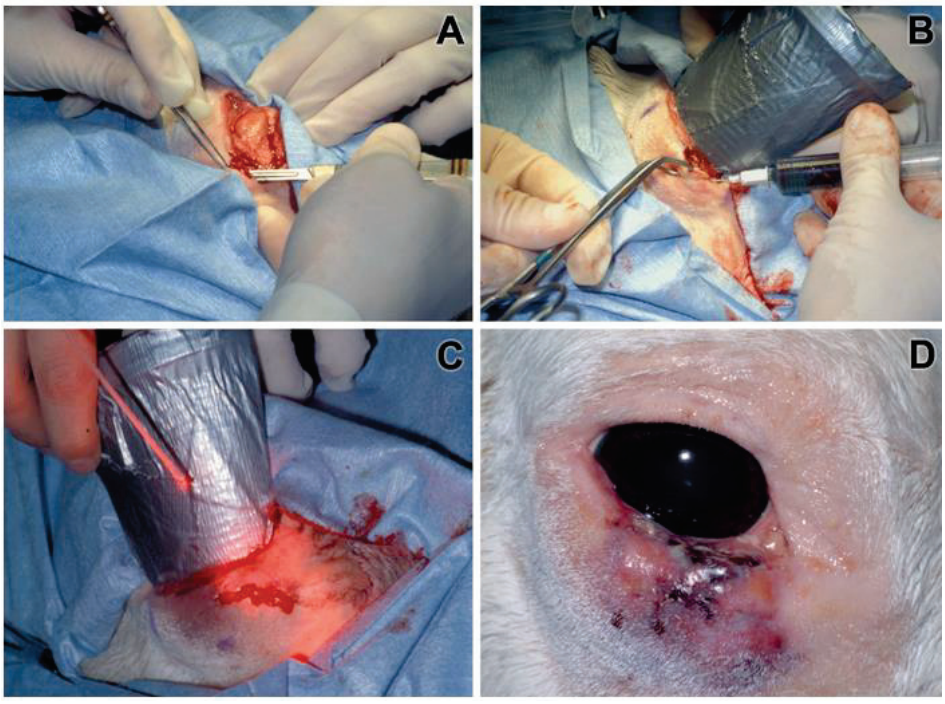

Figure 34 : Technique de photothérapie dynamique locale. A = Exérèse chirurgicale des tumeurs. B = Injection locale de l'agent photosensibilisant au niveau du lit de la plaie. C = Irradiation avec une lumière de longueur d'onde adaptée. D = Aspect du post-opératoire direct de l'œil traité. (Giuliano et al. 2008)

- Données d'efficacité

Dr. Elisabeth A.Giuliano, vétérinaire spécialiste en ophtalmologie à l'Université du Missouri aux Etats Unis, est l'autrice de nombreux ouvrages concernant les modalités de traitement des tumeurs péri-oculaires. A cette occasion, elle s'est particulièrement intéressée à la prise en charge des carcinomes épidermoïdes par photothérapie dynamique locale adjuvante associée à une exérèse chirurgicale. Nous évoquerons principalement une étude publiée en 2014, comparant l'efficacité de la cryothérapie et de la photothérapie dynamique en se basant sur le délai de récurrence tumorale après exérèse chirurgicale. (Giuliano et al. 2014)(Annexe 11).

Cette étude inclue 24 chevaux répartis en deux groupes : le groupe 1 (14 chevaux) traité entre 1993 et 2003 par exérèse et cryothérapie à l'azote liquide, et le groupe 2 (10 chevaux) traité entre 2006 et 2010 par exérèse, application de verteporfine à 1mg/cm2 sur le lit de la plaie puis irradiation avec une lumière LED à 688 nm, à une dose de 100J/cm2 obtenue avec un débit de 200mW/cm2, pendant 15 à 30 minutes

Les résultats montrent une différence significative entre les deux modalités de traitement : 78 % des chevaux traités avec de la cryothérapie ont présenté une récidive tumorale (médiane de 10 mois après traitement) tandis que dans le groupe 2, aucune récidive n'a été observée après un suivi minimum de 25 mois. Les effets secondaires étaient limités à un chemosis post-opératoire transitoire et une alopécie, avec quelques cas d'épiphora et d'ectropion sans impact fonctionnel majeur (Figure 35).

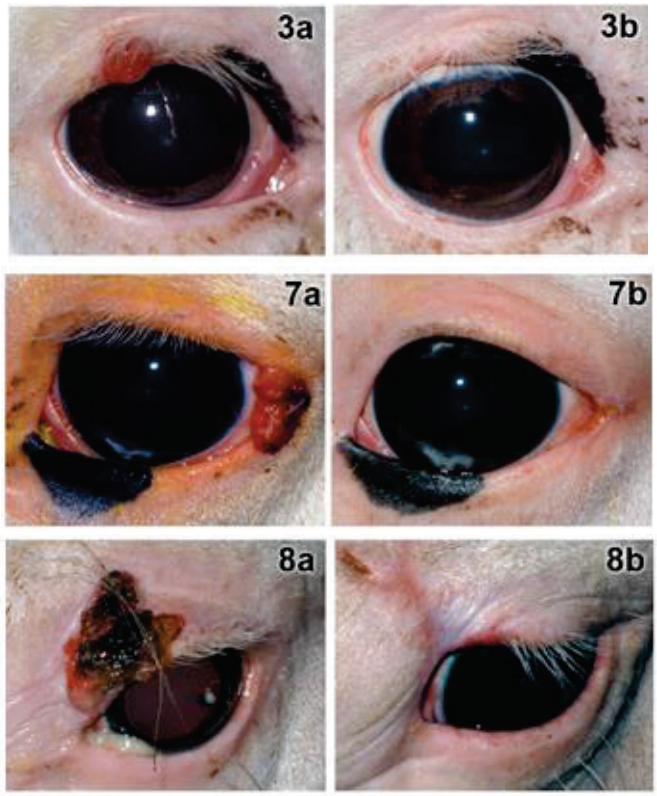

Figure 35 : Photographies extra-oculaires réalisées à l'examen ophtalmologique initial (a) et après traitement (exérèse chirurgicale et photothérapie dynamique locale à base de HPPH), lors de l'examen clinique le plus récent (b) sur trois patients (Giuliano et al. 2008)

Cette étude corrobore les résultats d'une étude pilote prospective réalisée quelques années auparavant par la même autrice, avec les mêmes critères d'inclusion : carcinomes confirmés histologiquement, localisés en région péri-oculaire, sans signes d'extension locale ni métastatique, chevaux en bonne santé générale (Giuliano et al. 2008)(Annexe n°10)

Le traitement consistait après exérèse chirurgicale en l'application de 2-[1-hexyloxyethyl]-2-devinylpyropheophorbide-a (HPPH) sur le lit de la plaie, à 1mg/cm2, suivie d'une exposition à une lumière de 665nm de longueur d'onde, émise par un laser. La plaie chirurgicale a reçu une dose de 100J/cm2 à un débit de 100mW/cm2, pendant 25 à 45 minutes en fonction de la taille de la lésion.

Les résultats montrent que la PDT adjuvante a permis une rémission complète dans 7 des 9 chevaux (78%), avec une moyenne de 45 mois sans récurrence tumorale (Figure 36). Cependant, les deux chevaux qui avaient été préalablement traités avec d'autres stratégies thérapeutiques ont tous deux montré une récidive tumorale rapide. L'une d'elle a été traitée avec succès par une nouvelle séance de PDT.

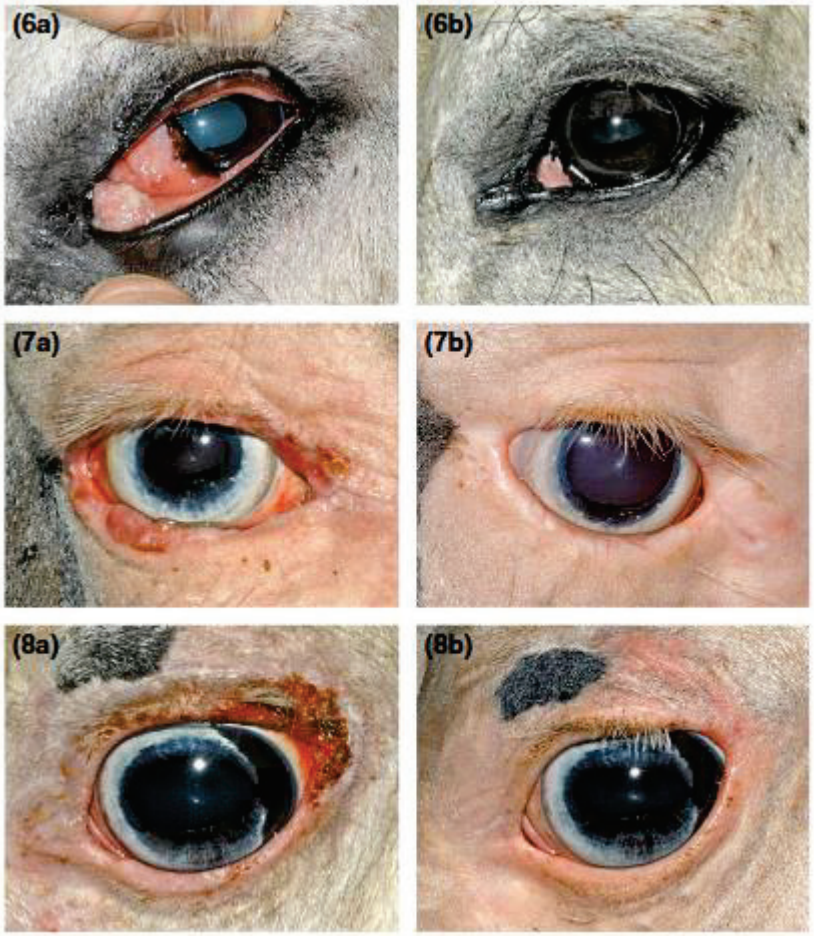

Figure 36 : Photographies extra-oculaires réalisées à l'examen ophtalmologique initial (a) et après traitement (exérèse chirurgicale et photothérapie dynamique locale à base de verteporfine), lors de l'examen clinique le plus récent (b) sur trois patients (Giuliano et al. 2014)

Quelques études viennent également soutenir l'utilisation de PDT adjuvante pour la prise en charge de sarcoïdes. Elles ont émergé notamment dans les années 2000, avec par exemple une étude prospective réalisée entre 2002 et 2004 (Gustafson et al. 2004) à l'Université de l'Oregon sur 10 équidés. Il s'agit d'une étude expérimentale, sur des sarcoïdes générant un inconfort et souvent réfractaires aux précédents traitements. La prise en charge, après chirurgie cytoréductive si nécessaire, consistait en l'application topique ou injection intralésionnelles d'ALA suivie d'une exposition lumineuse monochromatique à la longueur d'onde d'activation de la protoporphirine IX (lampe à LED ou laser). Une réponse, caractérisée par une amélioration clinique, l'absence de récurrence tumorale ou des signes de nécrose cellulaire, a été objectivée sur 13/18 lésions (72%). Sur les huit lésions traitées en totalité, cinq ont présenté une rémission totale ou partielle sur une période de suivi de trois à 20 mois. Les résultats de cette première étude sont très encourageants, mais cette dernière souffre de plusieurs limitations : notamment un effectif très faible, un protocole variable et une absence d'uniformité dans l'application des traitements.

Une seconde étude venant appuyer ces données initiales a été présentée au congrès de l'association des vétérinaires équins britanniques (BEVA) en 2012 : Cette étude rétrospective, menée entre 2009 et 2011, a porté sur le traitement de sarcoïdes péri-oculaires chez 21 équidés. Après une exérèse partielle ou subtotale réalisée par chirurgie laser, deux séances de PDT sont réalisées à une semaine d'intervalle, consistant en l'administration de MAL suivie d'une exposition à une lumière de 630nm émise par la lampe à LED Aktilite. Parmi les 16 chevaux suivis, 93 % (15/16) n'ont pas présenté de récidive au bout d'un an. Quelques effets secondaires rares ont été notés, dont un œdème péri-oculaire modéré à sévère chez cinq chevaux et un cas de kératite. Cette étude souligne ainsi l'efficacité de la PDT avec un taux de rémission élevé et peu d'effets secondaires. Un suivi plus long serait toutefois nécessaire pour valider la durabilité des résultats.

Enfin, une étude prospective récente (Golding, Kemp-Symonds, Dobson 2017) explore l'association de la photothérapie dynamique (PDT) avec des inhibiteurs de la glycolyse et des antioxydants pour en améliorer la toxicité. Les cellules tumorales favorisent le métabolisme glycolytique et résistent au stress oxydatif, ce qui les rend moins sensibles à la PDT. L'idée est qu'en réduisant la production d'ATP et en augmentant la production de radicaux libres, on pourrait renforcer l'efficacité de la PDT, comme cela a été observé en médecine humaine.

Les expérimentations ont été menées à plusieurs niveaux :

- Cultures cellulaires in vitro : Des cellules de sarcoïdes équins ont été traitées avec de l'acide δ-aminolévulinique (ALA), illuminées, puis incubées avec des inhibiteurs de la glycolyse comme le 2-désoxy-d-glucose (2DG) ou l'ionidamine. Les résultats ont montré que ces inhibiteurs, notamment l'ionidamine, augmentaient fortement la cytotoxicité de la PDT, avec une mortalité cellulaire allant de 40,7 % à 77,5 % après plusieurs séances.
- Tumeurs in vivo : 54 chevaux ont été répartis en quatre groupes pour évaluer l'efficacité de la PDT combinée avec des inhibiteurs de la glycolyse. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec l'association ALA + ionidamine (93 % de réponse partielle ou totale) et Metvix (100 % de réponse partielle ou totale). Ces traitements ont significativement réduit le volume tumoral, contrairement à la PDT seule.

Cette étude montre que la PDT, combinée à des inhibiteurs de la glycolyse, peut améliorer considérablement le traitement des sarcoïdes en augmentant leur sensibilité. Elle suggère de futures applications d'approches combinées, afin d'optimiser la cytotoxicité et améliorer le taux de rémission sur le long terme.

5. Conclusion

Pendant de nombreuses années, la thérapie photodynamique n'a pas connu de réel essor en médecine vétérinaire. En effet, le développement parallèle de méthodes thérapeutiques concurrentes (chimiothérapie, radiothérapie), les limites techniques, le manque de littérature publiée sur le sujet ainsi qu'un faible nombre de produits photosensibilisants développés et commercialisés sur le marché ont grandement retardé la croissance et la diffusion de cette technique.

Aujourd'hui la photothérapie dynamique est de nouveau à l'ordre du jour grâce à l'avènement de nouvelles sources lumineuses faciles d'utilisation, peu couteuses et portatives (lasers, LED). Par ailleurs, de plus en plus d'agents photosensibilisants sont désormais disponibles sur le marché, ce qui les rend plus accessibles. Enfin, la publication récente d'études prospectives contrôlées apporte d'excellentes preuves d'efficacités : en moyenne, quatre chevaux sur cinq ne présentent pas de récurrence tumorale de sarcoïde/SCC dans les deux à cinq ans post traitement.

La PDT s'affiche ainsi comme une technique non invasive, simple de réalisation une fois le matériel acquis, rapide et aisément reproductible. Elle ne provoque que très peu d'effets secondaires locaux, avec une préservation de l'aspect esthétique et fonctionnel des tissus dans la majorité des cas traités. Si elle reste limitée aux tumeurs superficielles, le développement récent de systèmes optiques permet maintenant son utilisation dans des organes creux. Son coût n'est pas encore suffisamment compétitif par rapport à la chimiothérapie, mais elle reste moins onéreuse que la radiothérapie locale. Elle possède ainsi de nombreuses propriétés avantageuses, et sera certainement amenée à se développer davantage dans les années à venir.

PARTIE 5

CRYOTHERAPIE

1. MECANISMES DE DESTRUCTION PAR LE FROID 90
   a. Phase cryolésionnelle 90
      i. Refroidissement et congélation 90
      ii. Décongélation 91
   b. Stase vasculaire différée 91
   c. Enclenchement des mécanismes immunitaires 91
2. AGENTS CRYOGENIQUES 93
   a. Azote liquide 93
   b. Protoxyde d'azote 93
   c. Dioxyde de carbone 93
3. METHODES D'APPLICATION 94
   a. Vaporisation directe 94
   b. Utilisation de cryoprobes ou sondes cryogéniques 94
4. DEROULEMENT D'UNE SEANCE DE CRYOTHERAPIE 95
5. CONCLUSION 97

La cryothérapie, également appelée cryochirurgie, consiste en l'application d'un froid extrême en surface d'une tumeur afin d'induire une nécrose des tissus cancéreux, tout en préservant les tissus sains environnants. Elle implique l'utilisation d'agents cryogéniques, appliqués à l'aide de sondes ou en vaporisation.

Facile d'utilisation, rapide, peu invasive et aisément reproductible, elle présente l'avantage de pouvoir être réalisée sur le terrain et dans les cliniques généralistes car elle ne nécessite pas de facilités d'isolement ni de matériel de pointe.

Une littérature diverse est utilisée pour la construction de cette partie (Knottenbelt, Patterson-Kane, Snalune 2015; Harrington et al. 2021; Yiu et al. 2007).

1. Mécanismes de destruction par le froid

On considère la cryodestruction effective lorsque les tissus atteignent des températures de l'ordre de -20°C à -60°C. L'exposition au froid extrême entraine à la fois une destruction cellulaire au cours du cycle de congélation/décongélation, mais aussi une stase vasculaire secondaire importante entrainant une hypoxie du tissu cancéreux.

a. Phase cryolésionnelle

C'est pendant le cycle de congélation / décongélation qu'interviennent la majorité des dommages cellulaires.

Voyons ensemble quelles sont les répercussions des changements thermiques au niveau de la cellule et son environnement (Figure 37) :

i. Refroidissement et congélation

Lors de la phase de congélation, la température descend rapidement au sein de la cellule jusqu'à permettre la formation de cristaux de glace pure dans les milieux intra et extracellulaires.

Le point de fusion d'un corps pur ou d'un eutectique se définit comme la température à laquelle les états liquide et solide de cette substance peuvent coexister à l'équilibre, à une pression donnée. Le point de fusion de la cellule est inférieur à celui de l'eau pure (0°C) car la cellule est un mélange de nombreux composants solubles. On observe ainsi le début de cristallisation autour de -5°C.

La cellule rentre initialement dans un état de surfusion : elle demeure dans un premier temps en phase liquide alors que sa température est plus basse que son point de fusion. La formation des premiers cristaux amène la perturbation nécessaire pour entrainer le passage sous forme solide. A partir de -15°C, on observe également la formation de cristaux de solutés et d'hydrate dans le milieu extracellulaire. Tous ces processus ont plusieurs conséquences sur la structure et le fonctionnement de la cellule :

- La formation de cristaux de glace pure se déroule majoritairement dans le milieu extracellulaire qui se concentre en électrolytes : l'osmolarité extracellulaire augmente ce qui provoque un appel d'eau intra-cellulaire. On observe alors une déshydratation sévère de la cellule, dont les répercussions peuvent être létales.
- L'architecture de la cellule est bouleversée par le refroidissement et la congélation. En effet, les liaisons faibles liant les complexes lipoprotéiques des membranes se rompent : les membranes se retrouve alors désorganisées avec une dispersion des phospholipides.
    - La membrane plasmique devient ainsi perméable aux ions, entrainant le gonflement et la lyse cellulaire.
    - Les membranes des organites (noyau, mitochondrie) sont également concernées, entrainant leur destruction. Le métabolisme cellulaire est complètement altéré.
    - Le fuseau mitotique est très sensible à l'hypothermie par dépolymérisation de la tubuline
- Les cristaux de glace intra-cellulaires entrainent des lésions mécaniques des organites.
- On observe une dénaturation des protéines et des enzymes cellulaires.

Lors d'une congélation trop lente, la membrane plasmique protège la cellule des cristaux de glace qui se forment dans le milieu extracellulaire. Il est nécessaire que la congélation soit rapide pour que la cellule n'ait pas le temps de se déshydrater complètement : cela permet la formation des cristaux intracellulaires.

Les cellules au sein d'un même volume tumoral, en fonction de la distance avec la zone froide et des échanges thermiques ne sont pas exposées au même historique thermique. Elles répondent ainsi chacune de façon variable, ce qui rend l'efficacité de la cryothérapie parfois très imprévisible.

ii. Décongélation

Lorsque la cellule se réchauffe, la fonte progressive des cristaux permet la libération d'eau, alors disponible pour se fixer aux cristaux restants. Cela permet la formation de cristaux de grand volume : ce sont eux qui provoquent le plus de dommages cellulaires. On appelle ce phénomène la recristallisation migratrice, d'autant plus importante que la décongélation est lente. En effet, il ne faut pas que la décongélation soit trop rapide car cela entraine une disparition prématurée des cristaux.

b. Stase vasculaire différée

Le choc thermique entraine successivement une stase puis une thrombose vasculaire, particulièrement au niveau des capillaires de la zone de contact avec le cryogène. L'apport en oxygène des tissus sous-jacents est alors compromis : l'ischémie étant délétère pour les cellules tumorales.

c. Enclenchement des mécanismes immunitaires

La mort cellulaire massive engendre une reprise du cycle immunitaire tumoral, en relançant la production d'anticorps anti-tumoraux et la cytotoxicité des lymphocytes T. Le relargage de signaux de stress participe également à l'effet Bystander comme évoqué dans les précédentes parties de ce manuscrit.

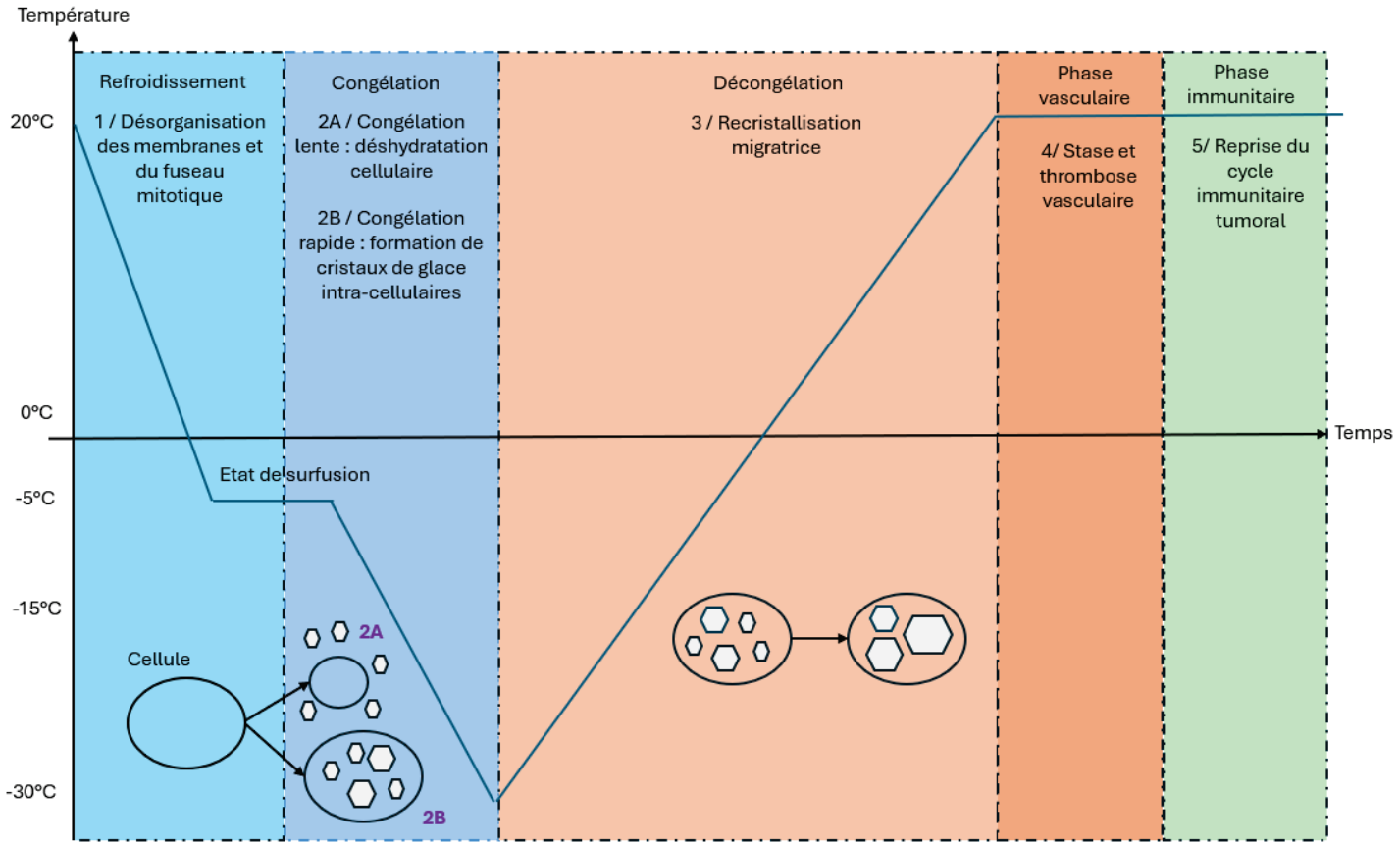

Figure 37 : Mécanismes d'action de la cryothérapie locale (Chloé FRASSETO)

2. Agents cryogéniques

Les agents cryogéniques désignent les substances utilisées pour produire ou maintenir des températures extrêmement basses dans un milieu cible.

a. Azote liquide

Il s'agit de l'agent cryogénique le plus couramment utilisé en médecine humaine et vétérinaire, notamment grâce à sa disponibilité et son cout abordable.

A pression atmosphérique, l'azote liquide (N2) est un liquide inodore et incolore à -196°C. Sa très faible température en fait un agent cryogénique puissant et efficace.

Il s'évapore rapidement une fois appliqué, ce qui permet de contrôler précisément la durée d'exposition.

D'autre part, il ne présente pas de toxicité et n'interagit pas avec d'autres substances, ce qui rend son utilisation relativement sûre pour le manipulateur. En revanche il peut occasionner des brûlures de froid au contact direct avec la peau, il est donc nécessaire de porter des équipements de protection (gants, lunettes) lors de son utilisation.

Son stockage et son transport s'effectuent dans des récipients de Dewar. Ce sont des contenants spécialement conçus pour résister à des températures très froides : ils possèdent deux couches de matériaux de faible conductivité thermique (souvent de l'acier inoxydable), séparées par un vide, ce qui permet une excellente isolation. Ils sont également équipés de vannes de sécurité afin de maitriser le risque de surpression.

b. Protoxyde d'azote

Initialement, on le retrouve sous la forme d'un gaz inerte à température ambiante. Lorsqu'il est mis sous pression, il se transforme en liquide qui peut atteindre des températures de -89°C. Il présente donc une efficacité moindre par rapport à l'azote liquide mais suffisante pour occasionner des dommages cellulaires létaux.

c. Dioxyde de carbone

La neige carbonique (CO2 solide), à -78.5°C peut également être utilisée. Compte tenu de sa température moins basse que les autres agents cryogéniques, la profondeur du traitement est limitée et les temps d'application sont plus longs pour obtenir le même effet.

3. Méthodes d’application

a. Vaporisation directe

Les pistolets ou sprays sont des dispositifs permettant de vaporiser l’agent cryogénique directement en contact de la zone à traiter.

Ils fonctionnent généralement avec des agents cryogéniques liquides stockés dans un réservoir. Lorsque le spray est activé, il est libéré sous forme de gaz, formant un jet maitrisé. Ce phénomène est dû à la différence de pression entre le liquide stocké dans la cartouche et l’air ambiant. Lorsqu'il est pulvérisé sur la peau ou une autre surface, le gaz se vaporise et abaisse rapidement la température des tissus jusqu’à -30°C à -50°C.

Cette méthode a l’avantage d’être très peu invasive, pratique et facile d’utilisation. Le matériel est relativement accessible et peu couteux. Cependant la vaporisation est peu précise, ce qui rend complexe le traitement de petites zones sans affecter les tissus voisins.

b. Utilisation de cryoprobes ou sondes cryogéniques

Une cryoprobe est constituée d'une sonde métallique (généralement en acier inoxydable) dans laquelle un fluide cryogénique est injecté sous pression. Ce dernier se vaporise, ce qui refroidit l’extrémité de la sonde, créant ainsi une zone de froid intense très localisée à appliquer au contact des lésions.

La plupart des cryoprobes modernes sont équipées de capteurs de température qui permettent de contrôler précisément la profondeur et la durée de l'application du froid, afin d'éviter tout dommage excessif aux tissus voisins.

Un peu plus onéreux que les sprays, ces dispositifs permettent un traitement très localisé et précis.

4. Déroulement d'une séance de cryothérapie

Une chirurgie cytoréductive préalable est parfois nécessaire pour diminuer le volume tumoral et exposer les cellules plus profondes.

La cryothérapie se réalise sous anesthésie générale ou sédation sur cheval debout. Les tissus cancéreux sont d'abord rapidement refroidis et congelés par transfert thermique au contact de températures très basses (vaporisation d'agents cryogéniques ou application de cryoprobes), puis les lésions sont laissées à température ambiante pour obtenir une décongélation lente.

Une cryothérapie réussie nécessite souvent la réalisation de deux à quatre cycles successifs de congélation / décongélation afin d'obtenir une destruction cellulaire de la totalité de la tumeur.

La température atteinte dans les tissus doit être de l'ordre de -20 à -60°C. Elle est intimement contrôlée par des thermocouples. Ce sont des capteurs composés de deux métaux de natures différentes reliés à une extrémité : quand la jonction des métaux est chauffée ou réfrigérée, une tension variable est produite, qui peut être ensuite transcrite en température. En effet, la cryothérapie peut engendrer de graves séquelles en cas de chute de température des tissus profonds comme les os, articulations, nerfs ou tendons, ce qui justifie l'importance de réaliser un monitoring précis.

Dans les premières heures suivant la cryothérapie, on observe initialement un gonflement et une rougeur des tissus. S'ensuit la formation d'une ampoule puis d'une plaque nécrotique en quelques jours. Cette dernière est remplacée par du tissu de granulation en l'espace d'une à trois semaines.

- Données d'efficacité

Il existe peu d'études récentes sur l'efficacité de la cryothérapie en médecine oncologique équine, notamment pour le traitement de sarcoïdes. Elle était une des alternatives thérapeutiques disponibles dans les années 1950 à 1980 et a ainsi été présentée dans des études globales de gestion médicale des tumeurs. On s'appuiera sur les résultats de deux études des années 2000 qui se sont intéressées à l'efficacité comparée de l'exérèse chirurgicale seule à la cryothérapie et l'immunothérapie.

Dans la première (Martens et al. 2001), 18 lésions ont été traitées par contact avec un cryoprobe, assurant deux cycles de congélation / décongélation, avec une température atteinte de -30°C en profondeur contrôlée par des thermocouples. Cela a permis une rémission complète pour 14 lésions (78%) sans effet secondaire significatif excepté un blanchiment des poils.

Dans la seconde (McConaghy et al. 1994), la cryothérapie s'est réalisée à l'aide d'un pistolet vaporisateur d'azote liquide sur 31 lésions, en trois cycles successifs de congélation / décongélation, avec une température de -20°C atteinte au sein du volume tumoral (monitoring par thermocouples). Plusieurs sessions ont été nécessaires chez certains chevaux. Un succès thérapeutique a été obtenu pour 13/31 sarcoïdes soit un taux de non-récurrence de 42%. Peu de séquelles ont été rapportées, exceptée une arthrite septique du tarse chez un des patients.

Concernant les carcinomes épidermoïdes, la cryothérapie a été inclus dans des études sur les modalités de prise en charge de tumeurs péri-oculaires, en comparaison avec la radiothérapie et la photothérapie dynamique.

On citera notamment (Giuliano et al. 2014) qui rapporte des résultats très décevants : 11/14 chevaux ayant reçu une cryothérapie par vaporisation d'azote liquide en deux cycles de congélation / décongélation ont eu une récurrence tumorale pendant la période de suivi (médiane 10 mois) soit un taux de non-récurrence de seulement 22%.

L'étude de Mosunic (Mosunic et al. 2004) menée à plus grande échelle permet de relativiser ces résultats, avec un succès thérapeutique de 69.3% (52/75) suite à cryothérapie adjuvante en deux cycles de congélation / décongélation.

5. Conclusion

La cryothérapie adjuvante présente ainsi de nombreux avantages : elle est notamment peu onéreuse et ne nécessite pas d'hospitalisation ni anesthésie générale. De plus, des dispositifs portables permettent sa réalisation autant en clinique que sur le terrain ce qui rend cette stratégie anti-cancéreuse plus accessible. Elle est enfin relativement simple d'utilisation

Néanmoins, on ne maitrise pas précisément l'historique thermique des cellules exposées au froid. Certaines cellules peuvent survivre et devenir plus résistantes, ce qui les rendra plus complexes à traiter par la suite. Elle est ainsi de moins en moins considéré comme un traitement de choix en oncologie moderne.

Cela se reflète dans les études avec des récurrences tumorales parfois fréquentes. En effet, le taux de rémission est assez variable dans la littérature (22-78%) avec une plus faible réponse des carcinomes épidermoïdes. Enfin, la cryothérapie peut être particulièrement délétère pour les tissus profonds environnants, avec un risque d'atteinte tendineuse ou nerveuse.

CONCLUSION

En médecine vétérinaire équine, les tumeurs cutanées comme les sarcoïdes ou les carcinomes épidermoïdes sont relativement fréquentes. Même si souvent bégnines, elles sont susceptibles par leur invasion loco-régionale de provoquer un inconfort et une impotence fonctionnelle jusqu'à impacter la qualité de vie de l'animal. C'est pourquoi leur prise en charge représente un véritable défi thérapeutique.

Depuis les années 1950, de multiples stratégies anti-cancéreuses ont été étudiées et développées. Certaines ont connu un véritable essor avec la publication de nombreuses revues de littérature pour soutenir leur utilisation, principalement en médecine humaine. Dans le monde vétérinaire, ces méthodes sont utilisées avec parfois peu de preuves scientifiques de leur efficacité. C'est dans ce contexte que s'inscrit cette thèse, avec comme objectif de comprendre le fonctionnement des thérapies cytotoxiques, mais aussi de parcourir les publications récentes sur le sujet. Cela nous apporte finalement des arguments afin de prendre des décisions thérapeutiques éclairées, dans le respect de la médecine factuelle.

De cette étude, on retiendra ainsi les lignes de force suivante :

- Intérêt de l'exérèse chirurgicale

L'exérèse chirurgicale représente le traitement de choix des tumeurs solides. Néanmoins, elle ne permet une guérison totale que lorsqu'elle est réalisée en marges saines, ce qui peut être complexe à obtenir notamment pour les tumeurs péri-oculaires. L'utilisation de techniques adjuvantes permet alors de compléter la prise en charge avec l'élimination des tissus tumoraux restants

La chirurgie cytoréductive présente de nombreux avantages dans le cadre de son association à une stratégie thérapeutique cytotoxique :

  - Diminution de la charge tumorale.
  - Amélioration de la diffusion des médicaments et agents photosensibilisants.
  - Accessibilité : Notamment pour la plésiothérapie qui ne se réalise qu'en surface ou la photothérapie dynamique, limitée par la profondeur de pénétration de la lumière.
  - Réoxygénation : Elle permet à des zones anoxiques au sein du volume tumoral de se réoxygéner, ce qui favorise la formation des radicaux libres et la potentialisation du stress oxydatif des cellules cancéreuses.

- Intérêt d'un diagnostic précoce et d'un traitement de première ligne efficace

Dans la majorité des études, on constate que le taux de réussite thérapeutique est significativement plus élevé sur des masses naïves, de petite taille et se développant lentement, quelle que soit la méthode utilisée. Des récurrences tumorales sur les masses de grandes dimensions ou déjà exposées à d'autres traitement préalable. On comprend donc qu'une détection précoce des tumeurs cutanées et la mise en place rapide d'un traitement adapté et efficace facilitent la gestion et améliore le pronostic.

A l'avenir des études d'efficacité corrélées avec le grade histolopathologique des tumeurs (antigène nucléaire de prolifération cellulaire, Ki-67, expression de VEGF, morphologie des noyaux) seraient intéressantes pour comprendre les mécanismes de résistance mis en place par les cellules cancéreuses considérées agressives.

- La mort cellulaire survient par suite de la perturbation du cycle cellulaire et de la perte d'homéostasie de la cellule.

La plupart des cellules exposées aux traitements anti-cancéreux se détruisent par apoptose, ou mort cellulaire programmée. Cela résulte de nombreux effets cytotoxiques, parmi lesquels :

- Le stress oxydatif secondaire à la formation de radicaux libres

On observe une forte accumulation d'espèces réactives de l'oxygène au sein de la cellule après une séance de chimiothérapie ou photothérapie dynamique. Cela engendre des lésions multiples, notamment sur les lipides membranaires. La libération de cytochrome-c mitochondrial déclenche alors la voie cellulaire intrinsèque de l'apoptose.

- Une altération de la réplication et de la synthèse d'ADN

Les radiations ionisantes et les principales molécules utilisées en chimiothérapie équine (agents alkylants, antimétabolites) provoquent des dégâts très importants au niveau de l'ADN, notamment des cassures double brin. En fonction de leur nombre et sévérité, la réparation peut s'avérer impossible, ce qui provoque soit un arrêt du cycle cellulaire après un point de contrôle et l'activation de protéines pro-apoptotiques, soit une accumulation d'anomalies non réparées, menant à terme à des catastrophes mitotiques

En cryothérapie en revanche, le principal mécanisme de mort cellulaire est la nécrose. En effet, l'exposition au froid engendre des lésions mécaniques directes sur les organites par le biais de la formation de cristaux de glace intracellulaires, et provoque une déshydratation suivie d'une rupture osmotique membranaire.

- Evaluation de l'efficacité des différentes méthodes, avantages et inconvénients (voir Tableau 2)

Il ressort des différentes études que l'électrochimiothérapie (92-100%) et la brachythérapie (63-100%) atteignent les meilleurs taux de rémission aussi bien sur les sarcoïdes que les carcinomes épidermoïdes, suivis de la chimiothérapie intra-lésionnelle (87-93% avec le cisplatine) et de la plésiothérapie (83-87%). Leurs effets secondaires sont fréquemment locaux et transitoires, et elles assurent une préservation de l'aspect fonctionnel et esthétique des tissus. Néanmoins ces techniques ne se réalisent que dans certaines cliniques spécialisées, où les facilités et équipements adaptés sont disponibles. La chimiothérapie et la brachythérapie faible intensité requièrent également une hospitalisation. Entre les soins et le prix du transport, cela représente un véritable investissement financier de la part du propriétaire. Enfin, l'exposition à des radiations ionisantes et médicaments anti-cancéreux représentent un risque pour la santé humaine, à la fois pour le manipulateur et le détenteur, d'où une réglementation stricte encadrant leur utilisation.

La photothérapie dynamique quant à elle est une stratégie anti-cancéreuse en pleine expansion grâce à l'émergence de nouvelles technologies de sources lumineuses et le développement d'agents photosensibilisants plus performants. Elle est plus sécuritaire pour le manipulateur, demande moins de matériels et présente des résultats encourageants en fonction du protocole utilisée (14-100%). Néanmoins, il n'existe encore pas de protocole bien établi et son prix reste relativement élevé. Elle sera certainement amenée à se développer davantage dans les années à venir.

Enfin, si la cryothérapie présente de nombreux avantages, notamment son cout et sa simplicité d'administration, elle reste plus délétère pour les tissus et présente de moins bons résultats sur le long terme (22-78%), avec des récurrences tumorales fréquentes. Ce n'est donc pas forcément un traitement de choix.

Finalement la décision thérapeutique est complexe et multifactorielle. Elle doit être adaptée à la tumeur (nature, localisation et tissus environnants, taille et extension, durée d'évolution, agressivité), aux techniques disponibles (efficacité, cout, facilités et équipements, spécialiste, durée d'hospitalisation) mais aussi au propriétaire (compliance, motivation, moyen de transport) et au patient (carrière sportive, tolérance à plusieurs anesthésies). Tous ces facteurs sont à prendre en compte pour effectuer une prise en charge éclairée.

	Chimiothérapie locale			Radiothérapie locale		Photothérapie dynamique	Cryothérapie
	Emulsions lipidiques	Formes à relargage lent	Electrochimiothérapie	Brachythérapie	Plésiothérapie		
Mécanisme d'action	Altérations de l'ADN et perturbation du cycle cellulaire Stress oxydatif Mort cellulaire par apoptose > nécrose et autophagie			Altérations de l'ADN et perturbation du cycle cellulaire Mort cellulaire par apoptose et catastrophes mitotiques		Stress oxydatif Mort cellulaire par apoptose > nécrose et autophagie	Déshydratation cellulaire Lésions mécaniques par les cristaux de glace intracellulaires Mort cellulaire par nécrose > apoptose
Molécules principales	Sels de platine (agents alkylants) : carboplatine, cisplatine Antimétabolites : 5-Fluorouracile Antibiotiques cytotoxiques : Bléomycine			Isotopes radioactifs : Iridium-192 Iodine-125 Or-198	Isotopes radioactifs : Strontium-90	Agents photosensibilisants : Acide δ-aminolévulinique Aminolévulinate de méthyle Hexa-aminolévulinate Verteporfine	Agents cryogéniques :Azote liquide CO2 / Acétone
Matériel nécessaire	Electrodes de contact			LDR : Applicateurs (sondes, cathéters) HDR : Projecteur de source et contrôle informatisé	Montage sur plaque, maintien avec une tige	Sources lumineuses : lumière blanche filtrée, lampe à LED, laser à diode	Pistolets / spray pour vaporisation directe Dispositifs de contact (cryoprobes)
Coût	€€€			€€€€		€€-€€€	€
Effets secondaires	Fréquents : Erythème, œdème Rares : kératite			Fréquents : Erythème, desquamation, œdème Rares : Fibrose, nécrose, cataracte, kératite		Fréquents : Oedème, alopécie Rares : kératite	Fréquents : Œdème, alopécie, vitiligo Rares : Atteinte nerveuse, tendineuse, arthrite septique
Données d'efficacité	NR (1an) cisplatine = 87% sc/ 65% SCC (Théon 1993) NR(4ans) cisplatine = 77 +/- 11% (Théon 1994) NR(4ans) cisplatine= 96% sc/88%SCC (Théon 2007) NR(3ans) 5-FU = 68,4% sc (Stexart 2006) NR (1an) bléomycine = 78 +/- 10% (Théon 1997)	NR(2ans) = 85% sc / 60% SCC (Hewes 2006)	NR (1,5ans) = 100% (Rols 2002) Rc + Rp = 94,4-99,5% (Tozon 2016) NR(4ans) = 99,5% (Tamzali 2012)	PFS (1an) = 81,5% sc / 81,8% SCC et PFS(5 ans)) 74% sc / 63,5% SCC (Théon 1995) NR(4,5ans) = 100% sc péri-oculaires et 86,7% sc (Byam-Cook 2006) NR = 89,5% (Mosunic 2004)	NR (<3ans) = 100% sc (Hollis 2020) NR (5ans) = 83% SCC (Plummer 2007) NR(1an) = 83% SCC (Rebhun 1990) NR (2ans) = 87,5% (Walker 1986) NR = 84,9% (Mosunic 2004)	NR (2ans) = 100% SCC (Giuliano 2014) NR(3,5ans) = 78% SCC (Giuliano 2008) Amélioration clinique, absence de récidive ou signes de nécrose = 72% / Rp + Rc = 63% sc (Gustafson) NR(1an) = 93% (Kent 2012) Rp + Rc = 93% AlA + ionidamine et 100% MAL (Golding 217)	NR = 78% sc (Martens 2001) NR = 42% sc (McConaghy 1994) NR(1an) = 22% SCC (Giuliano 2014) NR = 69,3% SCC (Mosunic 2004)
Lieu	Clinique spécialisée Hospitalisation obligatoire			Clinique spécialisée Hospitalisation obligatoire si brachythérapie LDR		Clinique généraliste ou spécialisée Hospitalisation facultative	Clinique généraliste, spécialisée ou médecine de terrain Hospitalisation facultative
Sécurité	Réglementation stricte Produits cancérigènes, mutagènes, tératogènes Lieux de stockage et reconstitution dédiés, facilités de traitement et hospitalisation, gestion des déchets. Port d'EPI			Réglementation stricte Radiations ionisantes cancérigènes, mutagènes, tératogènes Facilités de traitement et hospitalisation. Port de protections plombées, boucliers de plexiglas. Dosimétrie.		Bonne Port d'EPI	Bonne Port d'EPI

Tableau 2 : Bilan (Chloé FRASSETO)

Légende :
NR = Taux de non-récurrence
PFS = Taux de survie sans progression tumoralesans progression tumorale
Rc = Réponse complète
Rp = Réponse partielle
Sc = sarcoïde
SCC = carcinome épidermoïde

BIBLIOGRAPHIE

AZAÏS, H., MORDON, S. et COLLINET, P., 2017. Traitement des métastases péritonéales des cancers épithéliaux de l'ovaire par thérapie photodynamique. Limites et perspectives. *Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie*. avril 2017. Vol. 45, n° 4, pp. 249-256. DOI 10.1016/j.gofs.2017.02.005.

BARROS, Norami De Moura, SBROGLIO, Lissiê Lunardi, BUFFARA, Maria De Oliveira, BAKA, Jessica Lana Conceição E Silva, PESSOA, Allen De Souza et AZULAY-ABULAFIA, Luna, 2021. Phototherapy. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. juillet 2021. Vol. 96, n° 4, pp. 397-407. DOI 10.1016/j.abd.2021.03.001.

BASKAR, Rajamanickam, LEE, Kuo Ann, YEO, Richard et YEOH, Kheng-Wei, 2012. Cancer and radiation therapy: current advances and future directions. *International Journal of Medical Sciences*. 2012. Vol. 9, n° 3, pp. 193-199. DOI 10.7150/ijms.3635.

BUCHHOLZ, Julia et WALT, Heinrich, 2013. Veterinary photodynamic therapy: A review. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. décembre 2013. Vol. 10, n° 4, pp. 342-347. DOI 10.1016/j.pdpdt.2013.05.009.

BYAM-COOK, K. L., HENSON, F. M. D. et SLATER, J. D., 2006. Treatment of periocular and non-ocular sarcoids in 18 horses by interstitial brachytherapy with iridium-192. *The Veterinary Record*. 9 septembre 2006. Vol. 159, n° 11, pp. 337-341. DOI 10.1136/vr.159.11.337.

CEMAZAR, M., TAMZALI, Y., SERSA, G., TOZON, N., MIR, L. M., MIKLAVCIC, D., LOWE, R. et TEISSIE, J., 2008. Electrochemotherapy in veterinary oncology. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2008. Vol. 22, n° 4, pp. 826-831. DOI 10.1111/j.1939-1676.2008.0117.x.

CHABNER, Bruce et LONGO, Dan L. (éd.), 2011. *Cancer chemotherapy and biotherapy: principles and practice*. 5th ed. Philadelphia : Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins. ISBN 978-1-60547-431-1. RC271.C5 C32219 2011

CHABNER, Bruce et LONGO, Dan L. (éd.), 2019. *Cancer chemotherapy, immunotherapy and biotherapy: principles and practice*. Sixth edition. Philadelphia, PA : Wolters Kluwer. ISBN 978-1-4963-7514-8.

CHEN, Daniel S. et MELLMAN, Ira, 2013. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity*. 25 juillet 2013. Vol. 39, n° 1, pp. 1-10. DOI 10.1016/j.immuni.2013.07.012.

DASARI, Shaloam et TCHOUNWOU, Paul Bernard, 2014. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *European Journal of Pharmacology*. 5 octobre 2014. Vol. 740, pp. 364-378. DOI 10.1016/j.ejphar.2014.07.025.

DAUTEL, Olivier, 2017. *Biologie, géologie: BCPST 1re année*. Paris : Vuibert. Vuibert prépas. ISBN 978-2-311-40401-2. 570

DOBSON, Jane, DE QUEIROZ, Genilson Fernandes et GOLDING, Jon P., 2018. Photodynamic therapy and diagnosis: Principles and comparative aspects. *The Veterinary Journal*. mars 2018. Vol. 233, pp. 8-18. DOI 10.1016/j.tvjl.2017.11.012.

ELMORE, Susan, 2007. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicologic Pathology*. juin 2007. Vol. 35, n° 4, pp. 495-516. DOI 10.1080/01926230701320337.

GIULIANO, Elizabeth A., JOHNSON, Philip J., DELGADO, Cherlene, PEARCE, Jacqueline W. et MOORE, Cecil P., 2014. Local photodynamic therapy delays recurrence of equine periocular squamous cell carcinoma compared to cryotherapy. *Veterinary Ophthalmology*. juillet 2014. Vol. 17 Suppl 1, pp. 37-45. DOI 10.1111/vop.12099.

GIULIANO, Elizabeth A., MACDONALD, Ian, MCCAW, Dudley L., DOUGHERTY, Thomas J., KLAUSS, Gia, OTA, Juri, PEARCE, Jacqueline W. et JOHNSON, Philip J., 2008. Photodynamic therapy for the treatment of periocular squamous cell carcinoma in horses: a pilot study. *Veterinary Ophthalmology*. septembre 2008. Vol. 11 Suppl 1, pp. 27-34. DOI 10.1111/j.1463-5224.2008.00643.x.

GOLDING, J. P., KEMP-SYMONDS, J. G. et DOBSON, J. M., 2017. Glycolysis inhibition improves photodynamic therapy response rates for equine sarcoids. *Veterinary and Comparative Oncology*. décembre 2017. Vol. 15, n° 4, pp. 1543-1552. DOI 10.1111/vco.12299.

GOODWIN, Kristie D., LEWIS, Mark A., LONG, Eric C. et GEORGIADIS, Millie M., 2023. Two distinct rotations of bithiazole DNA intercalation revealed by direct comparison of crystal structures of Co(III)•bleomycin A2 and B2 bound to duplex 5'-TAGTT sites. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 1 janvier 2023. Vol. 77, pp. 117113. DOI 10.1016/j.bmc.2022.117113.

GUSTAFSON, Scott B., ENGELKING, Kirstin, JACQUES, Steven L. et BILDFELL, Robert, 2004. Clinical results of photodynamic therapy for the treatment of sarcoid tumors in equids. In : BARTELS, Kenneth E., BASS, Lawrence S., DE RIESE, Werner T. W., GREGORY, Kenton W., HIRSCHBERG, Henry, KATZIR, Abraham, KOLLIAS, Nikiforos, MADSEN, Steen J., MALEK, Reza S., MCNALLY-HEINTZELMAN, Karen M., PAULSEN, Keith D., ROBINSON, David S., TATE, JR., Lloyd P., TROWERS, Eugene A. et WONG, Brian J. (éd.), *Biomedical Optics 2004* [en ligne]. San Jose, CA. 13 juillet 2004. pp. 313. [Consulté le 13 août 2024]. Disponible à l'adresse : http://proceedings.spiedigitallibrary.org/proceeding.aspx?doi=10.1117/12.528079

HANAHAN, Douglas et WEINBERG, Robert A., 2011. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*. mars 2011. Vol. 144, n° 5, pp. 646-674. DOI 10.1016/j.cell.2011.02.013.

HARRINGTON, Lea, TANNOCK, Ian, HILL, Richard P. et CESCON, David (éd.), 2021. *The basic science of oncology*. Sixth edition. New York : McGraw Hill. ISBN 978-1-259-86207-6.

HAVRÁNKOVÁ, Renata, 2020. Biological effects of ionizing radiation. *Casopis Lekaru Ceskych*. 2020. Vol. 159, n° 7-8, pp. 258-260.

HECHT, S. M., 2000. Bleomycin: new perspectives on the mechanism of action. *Journal of Natural Products*. janvier 2000. Vol. 63, n° 1, pp. 158-168. DOI 10.1021/np990549f.

HENRY, Carolyn J. et HIGGINBOTHAM, Mary Lynn (éd.), 2010. *Cancer management in small animal practice*. Maryland Heights, Mo : Saunders/Elsevier. ISBN 978-1-4160-3183-3. SF910.T8 C36 2010

HENSON, F. M. D. et DOBSON, J. M., 2004. Use of radiation therapy in the treatment of equine neoplasia. *Equine Veterinary Education*. décembre 2004. Vol. 16, n° 6, pp. 315-318. DOI 10.1111/j.2042-3292.2004.tb00319.x.

HEWES, Christina A. et SULLINS, Kenneth E., 2006. Use of cisplatin-containing biodegradable beads for treatment of cutaneous neoplasia in equidae: 59 cases (2000-2004). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15 novembre 2006. Vol. 229, n° 10, pp. 1617-1622. DOI 10.2460/javma.229.10.1617.

HOLLIS, A. R., 2020. Strontium plesiotherapy for the treatment of sarcoids in the horse. *Equine Veterinary Education*. août 2020. Vol. 32, n° S11, pp. 7-11. DOI 10.1111/eve.13038.

KING, T. C., PRIEHS, D. R., GUM, G. G. et MILLER, T. R., 1991. Therapeutic management of ocular squamous cell carcinoma in the horse: 43 cases (1979-1989). *Equine Veterinary Journal*. novembre 1991. Vol. 23, n° 6, pp. 449-452. DOI 10.1111/j.2042-3306.1991.tb03759.x.

KNOTTENBELT, D. C., WATSON, A. H., HOTCHKISS, J. W., CHOPRA, S. et HIGGINS, A. J., 2020. A pilot study on the use of ultra-deformable liposomes containing bleomycin in the treatment of equine sarcoid. *Equine Veterinary Education*. mai 2020. Vol. 32, n° 5, pp. 258-263. DOI 10.1111/eve.12950.

KNOTTENBELT, Derek C., 2005. A Suggested Clinical Classification for the Equine Sarcoid. *Clinical Techniques in Equine Practice*. décembre 2005. Vol. 4, n° 4, pp. 278-295. DOI 10.1053/j.ctep.2005.10.008.

KNOTTENBELT, Derek C., PATTERSON-KANE, Janet C. et SNALUNE, Katie L., 2015. *Clinical equine oncology*. Edinburgh : Elsevier. ISBN 978-0-7020-4266-9. 636.108 96994

KREBS, Jocelyn E., GOLDSTEIN, Elliott S. et KILPATRICK, Stephen T., 2018. *Lewin's genes XII*. Burlington, MA : Jones & Bartlett Learning. ISBN 978-1-284-10449-3. QH430 .L4 2018

LUETHY, Daniela, FRIMBERGER, Angela E., BEDENICE, Daniela, BYRNE, Barbara S., GROOVER, Erin S., GARDNER, Rachel B., LEWIS, Trisha, MACDONALD, Valerie S., PROCTOR-BROWN, Lauren, TOMLINSON, Joy E., RASSNICK, Kenneth M. et JOHNSON, Amy L., 2019. Retrospective evaluation of clinical outcome after chemotherapy for lymphoma in 15 equids (1991-2017). *Journal of Veterinary Internal Medicine*. mars 2019. Vol. 33, n° 2, pp. 953-960. DOI 10.1111/jvim.15411.

MARTENS, A., DE MOOR, A., VLAMINCK, L., PILE, F. et STEENHAUT, M., 2001. Evaluation of excision, cryosurgery and local BCG vaccination for the treatment of equine sarcoids. *Veterinary Record*. décembre 2001. Vol. 149, n° 22, pp. 665-669. DOI 10.1136/vr.149.22.665.

MCCONAGHY, F.F., DAVIS, R.E., REPPAS, G.P., RAWLINSON, R.J., MCCLINTOCK, S.A., HUTCHINS, D.R. et HODGSON, D.R., 1994. Management of equine sarcoids: 1975–93. *New Zealand Veterinary Journal*. 10 janvier 1994. Vol. 42, n° 5, pp. 180-184. DOI 10.1080/00480169.1994.35816.

MEUTEN, Donald J., 2017. *Tumors in domestic animals*. 5th ed. Ames (Iowa) : Wiley Blackwell. ISBN 978-1-119-18120-0. 636.089 6994

MOSUNIC, Cory B., MOORE, Phillip A., CARMICHEAL, K. Paige, CHANDLER, Matthew J., VIDYASHANKAR, Anand, ZHAO, Ying, ROBERTS, Royce E. et DIETRICH, Ursula M., 2004. Effects of treatment with and without adjuvant radiation therapy on recurrence of ocular and adnexal squamous cell carcinoma in horses: 157 cases (1985-2002). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1 décembre 2004. Vol. 225, n° 11, pp. 1733-1738. DOI 10.2460/javma.2004.225.1733.

PISTRITTO, Giuseppa, TRISCIUOGLIO, Daniela, CECI, Claudia, GARUFI, Alessia et D'ORAZI, Gabriella, 2016. Apoptosis as anticancer mechanism: function and dysfunction of its modulators and targeted therapeutic strategies. *Aging*. avril 2016. Vol. 8, n° 4, pp. 603-619. DOI 10.18632/aging.100934.

PLUMMER, C. E., SMITH, S., ANDREW, S. E., LASSALINE, M. E., GELATT, K. N., BROOKS, D. E., KALLBERG, M. E. et OLLIVIER, F. J., 2007. Combined keratectomy, strontium-90 irradiation and permanent bulbar conjunctival grafts for corneolimbal squamous cell carcinomas in horses (1990-2002): 38 horses. *Veterinary Ophthalmology*. 2007. Vol. 10, n° 1, pp. 37-42. DOI 10.1111/j.1463-5224.2007.00489.x.

REBHUN, W. C., 1990. Treatment of advanced squamous cell carcinomas involving the equine cornea. *Veterinary surgery: VS*. 1990. Vol. 19, n° 4, pp. 297-302. DOI 10.1111/j.1532-950x.1990.tb01191.x.

ROLS, M. P., TAMZALI, Y. et TEISSIÉ, J., 2002. Electrochemotherapy of horses. A preliminary clinical report. *Bioelectrochemistry (Amsterdam, Netherlands)*. janvier 2002. Vol. 55, n° 1-2, pp. 101-105. DOI 10.1016/s1567-5394(01)00156-6.

SCOTT, Danny W. et MILLER, William H., 2011. *Equine dermatology*. 2. ed. Philadelphia, Pa. London : Saunders. ISBN 978-1-4377-0920-9.

SHI, Huayun et SADLER, Peter J., 2020. How promising is phototherapy for cancer? *British Journal of Cancer*. 15 septembre 2020. Vol. 123, n° 6, pp. 871-873. DOI 10.1038/s41416-020-0926-3.

SPRAYBERRY, Kim A. et ROBINSON, N. E., 2015. *Current therapy in equine medicine*. 7. ed. St. Louis, Mo : Elsevier Saunders. ISBN 978-1-4557-4555-5.

STEWART, A. A., RUSH, B. et DAVIS, E., 2006. The efficacy of intratumoural 5-fluorouracil for the treatment of equine sarcoids. *Australian Veterinary Journal*. mars 2006. Vol. 84, n° 3, pp. 101-106. DOI 10.1111/j.1751-0813.2006.tb12239.x.

TAMZALI, Y., BORDE, L., ROLS, M. P., GOLZIO, M., LYAZRHI, F. et TEISSIE, J., 2012. Successful treatment of equine sarcoids with cisplatin electrochemotherapy: a retrospective study of 48 cases. *Equine Veterinary Journal*. mars 2012. Vol. 44, n° 2, pp. 214-220. DOI 10.1111/j.2042-3306.2011.00425.x.

TANNOCK, Ian (éd.), 2013. *The basic science of oncology*. 5. ed. New York : McGraw-Hill Medical. McGrawHill education. ISBN 978-0-07-174520-8.

THÉON, A. P. et PASCOE, J. R., 1995. Iridium-192 interstitial brachytherapy for equine periocular tumours: treatment results and prognostic factors in 115 horses. *Equine Veterinary Journal*. mars 1995. Vol. 27, n° 2, pp. 117-121. DOI 10.1111/j.2042-3306.1995.tb03046.x.

THÉON, A. P., PASCOE, J. R., CARLSON, G. P. et KRAG, D. N., 1993. Intratumoral chemotherapy with cisplatin in oily emulsion in horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15 janvier 1993. Vol. 202, n° 2, pp. 261-267.

THÉON, A. P., PASCOE, J. R., GALUPPO, L. D., FISHER, P. E., GRIFFEY, S. M. et MADIGAN, J. E., 1999. Comparison of perioperative versus postoperative intratumoral administration of cisplatin for treatment of cutaneous sarcoids and squamous cell carcinomas in horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1 décembre 1999. Vol. 215, n° 11, pp. 1655-1660.

THÉON, A. P., PASCOE, J. R., MADIGAN, J. E., CARLSON, G. et METZGER, L., 1997. Comparison of intratumoral administration of cisplatin versus bleomycin for treatment of periocular squamous cell carcinomas in horses. *American Journal of Veterinary Research*. avril 1997. Vol. 58, n° 4, pp. 431-436.

THÉON, A. P., PASCOE, J. R. et MEAGHER, D. M., 1994. Perioperative intratumoral administration of cisplatin for treatment of cutaneous tumors in equidae. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15 octobre 1994. Vol. 205, n° 8, pp. 1170-1176.

THÉON, Alain P., WILSON, W. David, MAGDESIAN, K. Gary, PUSTERLA, Nicola, SNYDER, Jack R. et GALUPPO, Larry D., 2007. Long-term outcome associated with intratumoral chemotherapy with cisplatin for cutaneous tumors in equidae: 573 cases (1995-2004). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15 mai 2007. Vol. 230, n° 10, pp. 1506-1513. DOI 10.2460/javma.230.10.1506.

TOZON, N., KRAMARIC, P., KOS KADUNC, V., SERSA, G. et CEMAZAR, M., 2016. Electrochemotherapy as a single or adjuvant treatment to surgery of cutaneous sarcoid tumours in horses: a 31-case retrospective study. *The Veterinary Record*. 17 décembre 2016. Vol. 179, n° 24, pp. 627. DOI 10.1136/vr.103867.

VODENKOVA, Sona, BUCHLER, Tomas, CERVENA, Klara, VESKRNOVA, Veronika, VODICKA, Pavel et VYMETALKOVA, Veronika, 2020. 5-fluorouracil and other fluoropyrimidines in colorectal cancer: Past, present and future. *Pharmacology & Therapeutics*. février 2020. Vol. 206, pp. 107447. DOI 10.1016/j.pharmthera.2019.107447.

WALKER, Michael A., GOBLE, Dallas et GEISER, Dennis, 1986. TWO-YEAR NON-RECURRENCE RATES FOR EQUINE OCULAR AND PERIORBITAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA FOLLOWING RADIOTHERAPY: Comparison to Previous Reports. *Veterinary Radiology*. septembre 1986. Vol. 27, n° 5, pp. 146-148. DOI 10.1111/j.1740-8261.1986.tb00022.x.

YAHYAPOUR, Rasoul, MOTEVASELI, Elahe, REZAEYAN, Abolhasan, ABDOLLAHI, Hamid, FARHOOD, Bagher, CHEKI, Mohsen, NAJAFI, Masoud et VILLA, Vilmar, 2018. Mechanisms of Radiation Bystander and Non-Targeted Effects: Implications to Radiation Carcinogenesis and Radiotherapy. *Current Radiopharmaceuticals*. 4 avril 2018. Vol. 11, n° 1, pp. 34-45. DOI 10.2174/1874471011666171229123130.

YIU, Wai-ki, BASCO, Maria T, ARUNY, John E, CHENG, Stephen Wk et SUMPIO, Bauer E, 2007. Cryosurgery: A review. *International Journal of Angiology*. mars 2007. Vol. 16, n° 01, pp. 1-6. DOI 10.1055/s-0031-1278235.

ANNEXES

Annexe n°1 : Analyse d'article

Long-term outcome associated with intratumoral chemotherapy with cisplatin for cutaneous tumors in equidae: 573 cases (1995–2004) (Théon et al. 2007)

Cette étude rétrospective a porté sur 573 équidés (chevaux, ânes, mulets) admis pour le traitement de tumeurs cutanées au centre hospitalier universitaire vétérinaire de Californie entre janvier 1995 et juin 2004. On a recensé sur ces individus 630 tumeurs cutanées identifiées à l'analyse histologique. Parmi celles-ci, on retrouvait principalement des sarcoïdes (409), mais aussi des carcinomes (151) et quelques mélanomes (16). D'autres tumeurs cutanées ont également été répertoriées, telles que des sarcomes des tissus mous et des lymphomes cutanés.

Les tumeurs ont été triées en s'inspirant de la classification internationale TNM (tumeur / nœud lymphatique / métastase). On a retrouvé plusieurs catégories de taille selon le diamètre maximal (Dm) de la tumeur :

- T0 : résidu microscopique
- T1 : Dm [0-2] cm
- T2 : Dm [2-5] cm
- T3 : Dm [5-10] cm
- T4 : Dm > 10 cm

Les individus de l'étude ont été sélectionnés selon les critères suivants : la tumeur est mesurable et sa nature est confirmée à l'histologie, le cheval est en bon état général et ne présente pas d'évidences de dissémination métastatique, le dossier médical est complet et l'évolution du cheval est connue sur au moins deux ans.

Tous les chevaux ont reçu une chimiothérapie intra-lésionnelle à base de cisplatine, seule ou associée à une exérèse chirurgicale. Lorsque cette dernière était réalisée, on a retrouvé plusieurs cas de figure :

- Exérèse incomplète, cicatrisation par seconde intention, chimiothérapie en périopératoire
- Exérèse incomplète, fermeture de la plaie, chimiothérapie en périopératoire
- Exérèse incomplète, fermeture de la plaie, chimiothérapie 10 à 14 jours après chirurgie
- Exérèse complète, fermeture de la plaie, chimiothérapie 10 à 14 jours après chirurgie

Le protocole de chimiothérapie a été répété quatre fois à deux semaines d'intervalle. Il s'est déroulé comme suit : le cisplatine a été reconstitué dans de l'eau stérile et un émulsifiant à une concentration de 10 mg/mL, puis mélangé à de l'huile de graine de sésame stérile, à une concentration finale de 3,3 mg/mL. De l'adrénaline a été ajoutée pour les mélanomes et les tumeurs richement vascularisées. Cette solution a ensuite été injectée en intra et péri tumoral, avec des points d'injection espacés de 8 mm en moyenne, à raison d'environ 1 mg/cm³. Cela s'est réalisé sur des chevaux tranquillisés ou anesthésiés. L'équidé a reçu une antibioprophylaxie à base de triméthoprime-sulfamides, pénicilline ou doxycycline pendant 5 jours après la chimiothérapie.

Des contrôles locaux ont été effectués à deux semaines, un, deux, trois et six mois, un, deux, trois et quatre ans si possibles après la session complète de chimiothérapie.

Deux critères de réussite ont été étudiés :

- Le taux de contrôle local : absence de récidive deux ans après le traitement
- Le taux de guérison : absence de récidive quatre ans après le traitement

Résultats :

Après une session entière de chimiothérapie, le taux de contrôle local sur toutes les tumeurs confondues a été de 95,9 % et le taux de guérison de 93,3 %. Les taux de guérison spécifiques se sont élevés à 96,3 % pour les sarcoïdes, 88 % pour les carcinomes épidermoïdes, 81 % pour les mélanomes.

On a décompté un total de 39 récidives, dont 25 ont à nouveau été traitées avec une seconde session de chimiothérapie. Cela a abouti à un succès thérapeutique pour 22 d'entre elles.

Le second axe de cette étude était de déterminer, parmi différentes variables (notamment la race, l'âge, le stade tumoral, le type histologique, le type clinique, la localisation de la tumeur primaire, le délai de traitement et les tentatives de traitements antérieures), lesquelles s'imposent comme des facteurs pronostics significatifs. La régression de Cox (modèle à risque proportionnel) a été utilisée pour les identifier. Cette analyse a révélé que le protocole de traitement (P-value = 0.005), le stade de la tumeur (P-value < 0.001) et les traitements antérieurs (P-value < 0.001) sont des facteurs pronostics significatifs. Ces résultats doivent néanmoins être interprétés avec précaution, étant donné le faible pouvoir du test.

- Protocole de traitement

On remarque un taux de guérison significativement plus élevé pour les chimiothérapies associées à une exérèse complète (résidu microscopique), avec un traitement réalisé 10 à 14 jours après opération [100 % de guérison pour les sarcoïdes et carcinomes épidermoïdes], comparé aux chimiothérapies seules [93,7 % pour les sarcoïdes, 85 % pour les carcinomes épidermoïdes] ou associées à une exérèse incomplète avec cicatrisation par seconde intention [87,2 % pour les sarcoïdes, 78,5 % pour les carcinomes épidermoïdes].

Il n'y a pas de différence notable avec les autres modalités de traitement, c'est-à-dire le retrait partiel associé à une chimiothérapie peropératoire ou différée.

- Stade tumoral

Le taux de contrôle local a diminué avec l'augmentation du stade de la tumeur. En effet, pour une sarcoïde traitée par chimiothérapie seule, il n'y a pas eu de récidive pour 100 % des chevaux ayant des sarcoïdes de stade T1, alors que ce taux a baissé à 97 % pour le stade T2 et 87 % pour le stade T3. On a retrouvé la même évolution pour les carcinomes épidermoïdes avec absence de récidive à deux ans chez 100 % des chevaux présentant des tumeurs de stade T1 contre 88 % en stade T2. Cela s'applique également aux traitements bimodaux : pour un carcinome traité par exérèse partielle, fermeture de la plaie et chimiothérapie peropératoire, le taux de contrôle local a été de 100 % en stade T1, il a diminué à 97 % en stade T2 et 75 % en stade T3.

- Traitements antérieurs

Une tentative de traitement antérieure a augmenté le taux de récidive, notamment avec la cryothérapie (P-value < 0.001).

Enfin, les réactions locales ont été modérées avec notamment un œdème transitoire et un prurit. Elles ont augmenté avec le nombre de traitements dans la session mais n'ont jamais atteint le stade de nécrose cutanée.

Ainsi, cette étude permet d'appuyer l'efficacité de la chimiothérapie locale à base de cisplatine mélangé à de l'huile de sésame stérile sur les principales tumeurs cutanées des équidés : les taux de guérison sont très satisfaisants et les effets locaux sont modérés, principalement un œdème léger à prononcé, se résolvant en l'espace de quelques jours sans impact sur l'état général.

Les tumeurs de petite taille et celles qui n'ont pas reçu de traitements antérieurs sont moins susceptibles de récidiver après le traitement. Cela appuie grandement l'intérêt de détecter rapidement les masses cutanées par une surveillance quotidienne de l'équidé, et de les traiter précocement avec une méthode dont l'efficacité est prouvée.

Par ailleurs, le taux de récidive semble être principalement dépendant de la technique, avec un échec thérapeutique fréquemment associé à une concentration insuffisante de cisplatine, due à une fuite, à des pertes à la suite d'hémorragies, ou à la non-inclusion des marges, etc.

Enfin, un retrait chirurgical de la totalité de la masse avec un résidu microscopique est associé à un meilleur taux de succès que les autres techniques (chimiothérapie seule ou associée à une exérèse partielle).

Cette étude globale est pionnière et fournit une méthode de référence soutenue par la médecine factuelle. On pourrait néanmoins lui reprocher le manque de critères de choix pour la technique utilisée, qui semble dépendre de la subjectivité de l'opérateur. On ne sait pas pourquoi une tumeur est traitée par chimiothérapie seule ou chimiothérapie adjuvante, si ce n'est par l'expérience du décideur.

Elle complète et vient conforter les résultats de nombreuses études préalables sur la chimiothérapie à base de cisplatine, notamment les études de Théon et al. (Théon et al. 1993; Théon, Pascoe, Meagher 1994)

Annexe n° 02 : Analyse d'article

The efficacy of intratumoural 5-fluorouracil for the treatment of equine sarcoids (Stewart, Rush, Davis 2006)

Il s'agit d'une étude rétrospective portant sur le traitement de 14 équidés, dont 13 chevaux (dont 10 quarter horses) et un âne. Elle s'est intéressée à des cas présentés entre août 1999 et août 2000 à l'université du Kansas, pour un total de 23 sarcoïdes.

Avant l'initiation du traitement, le diagnostic de sarcoïde a été confirmé à l'analyse histologique, et les masses ont été mesurées en longueur, largeur et profondeur afin de déterminer leur volume. Celui-ci variait de 0,25 cm^3 à 33 cm^3, avec une moyenne de 8,9 cm^3.

Les tumeurs de volume inférieur à 5 cm^3 ont été traitées directement par injection intra-lésionnelle de 5-Fluorouracile (5-FU), tandis que celles de volume supérieur ont d'abord subi un traitement chirurgical, l'objectif étant la réduction maximale du volume tumoral.

La séance a été réalisée sur cheval tranquillisé. Le site tumoral a été isolé, préparé aseptiquement, puis injecté avec un anesthésique local. Le 5-FU a été injecté selon des plans parallèles espacés de 0,5 cm, au sein et autour de la tumeur, avec une marge de 1 cm, pour une concentration totale finale de 50 mg/cm^3. En plus des équipements de protection individuels (EPI) obligatoires, des éponges stériles ont été maintenues aux sites d'injection afin de prévenir une éventuelle fuite de produit et éviter une exposition du manipulateur.

Les injections ont été réitérées toutes les deux semaines jusqu'à résolution visuelle de la tumeur, puis une réévaluation a eu lieu six semaines après la fin du traitement. Pour évaluer le succès du traitement sur le long terme, des nouvelles ont été demandées aux propriétaires trois ans après la session initiale de 5-FU.

Les critères de réussite ont été définis ainsi : la tumeur est considérée résolue si elle n'est plus visible six mois après traitement ou trois ans après traitement. En revanche, si elle est toujours visible après sept injections ou après six mois, elle est dite persistante. Enfin, si la tumeur était résolue à six mois mais qu'elle est à nouveau visualisée trois ans après traitement, on parle de récurrence.

Le taux de résolution à six mois a été très satisfaisant avec 71,4 %. Après la sortie de l'étude d'un équidé atteint initialement de quatre tumeurs, une résolution totale au contrôle de trois ans a été obtenue chez 8 équidés sur 13, soit une réussite de 61,5 % avec le 5-FU. Cela représente 13 tumeurs sur 19 (68,4 %) avec une réponse obtenue en cinq traitements ou moins. Quatre tumeurs ont persisté chez trois chevaux, avec une réduction néanmoins satisfaisante du volume tumoral chez l'une d'entre elles. Enfin, une récurrence a été observée chez deux chevaux atteints de sarcoïdes uniques, à respectivement neuf mois et un an après traitement.

Les effets de la taille initiale de la tumeur, du nombre de tumeurs par cheval et des traitements antérieurs sur la réussite du traitement ont été évalués à l'aide du test exact de Fisher. Les rédacteurs souhaitaient également évaluer les effets de la localisation de la tumeur avec un test du Chi-2, mais l'étude incluait un nombre insuffisant de sarcoïdes.

- Volume tumoral

Les sarcoïdes de volume inférieur à 13,5 cm^3 sont significativement plus susceptibles de se résoudre que les tumeurs de volume supérieur ($P = 0,032$). En effet, on a observé une résolution chez sept animaux sur huit atteints de tumeurs de volume inférieur à 13,5 cm^3 (87,5 %), tandis qu'un seul cas sur cinq des animaux atteints de tumeurs de volume supérieur à

13,5 cm³ s'est résolu (20 %). Cette même observation, basée cette fois sur la tumeur (et non l'équidé), a été réalisée avec un seuil modifié de volume à 15 cm³. Ainsi, 12 tumeurs sur 14 de volume inférieur à 15 cm³ ont pu être résolues complètement avec un traitement à base de 5-FU, soit une réussite de 85,7 %, contre 20 % chez les tumeurs de volume supérieur à 15 cm³ (P = 0,017).

- Nombre de tumeurs

Dans cette étude, il ne semble pas y avoir de différence significative entre la réussite du traitement d'une tumeur unique ou de tumeurs multiples chez un même animal (P = 1,0). Cela représente une résolution chez six chevaux sur 10 atteints de sarcoïdes uniques (60 %) et deux chevaux sur trois atteints de tumeurs multiples (66 %).

- Traitements précédents

Les tumeurs n'ayant pas été exposées à des traitements avant l'initiation des injections de 5-FU sont significativement plus susceptibles de répondre favorablement (P = 0,004). Aucune des quatre tumeurs préalablement traitées n'a été résolue au contrôle de trois ans, avec deux cas de persistance et deux cas de récidive, contrairement aux tumeurs naïves, avec une résolution complète de 13 tumeurs sur 15 (86,7 %) après traitement.

En conclusion, les données obtenues au cours de cette étude sont favorables à la chimiothérapie à base de 5-FU, avec des résultats comparables à ceux des autres techniques adjuvantes. Cela en fait une bonne option de traitement grâce à son faible coût, à la possibilité d'utiliser une forme aqueuse et à sa facilité d'administration. En revanche, elle fonctionne davantage sur des tumeurs naïves et de faible taille, ce qui n'en fait pas un traitement de choix pour la seconde intention.

Annexe n°03 : Analyse d'article

Use of cisplatin-containing biodegradable beads for treatment of cutaneous neoplasia in equidae: 59 cases (2000–2004) (Hewes, Sullins 2006)

Cette étude rétrospective, publiée en 2006 et réalisée sur la même période que la précédente, s'est intéressée à l'intérêt des formes solides à relargage lent de cisplatine comme alternative à l'injection intra-lésionnelle. En effet, l'utilisation de billes de cisplatine possède plusieurs avantages : elle est plus sécuritaire pour le manipulateur, elle présente une facilité d'accès et d'implantation, et elle nécessite moins de traitements successifs dans une même session de chimiothérapie.

L'étude a inclus 59 équidés présentés entre janvier 2000 et décembre 2004 au centre médical équin Marion DuPont Scott pour la prise en charge de masses cutanées par implantation locale de billes de cisplatine. La plupart des masses étaient des sarcoïdes (22), des carcinomes épidermoïdes (11) et des mélanomes (14), mais on retrouvait également des tumeurs plus rares, telles que des fibromes, fibrosarcomes, tumeurs des gaines nerveuses périphériques, tumeurs des cellules basales, adénocarcinomes et lymphosarcomes.

Les perles utilisées étaient constituées d'une matrice à base de sulfate de calcium et de sulfate de dextrane, à laquelle on ajoutait du cisplatine à une concentration de 7 %. Elles faisaient 3 mm de diamètre pour un poids de 20 à 26 mg. On estimait qu'une bille contenait environ 1,6 mg de cisplatine. Après stérilisation, elles étaient stockées à température ambiante à l'abri de la lumière.

Pour des tumeurs de faible diamètre (< 1,5 cm), on utilisait les perles seules, que l'on insérait dans des incisions espacées de 1 cm réalisées manuellement aux marges de la tumeur. Des points de sutures en croix étaient ensuite réalisés pour refermer l'incision. Cela se faisait sous tranquillisation et anesthésie locale.

Pour des tumeurs de diamètre plus important (> 1,5 cm), l'utilisation de perles était associée à l'exérèse de la tumeur sous anesthésie générale (scalpel, laser, CO_2 ou diode gallium-aluminum-arsenide). Les billes étaient ensuite insérées à intervalle de 2 cm le long de la plaie suturée en cas de cicatrisation par première intention, ou implantées aux marges et dans le lit de plaie en cas de cicatrisation par seconde intention. Parfois, une stabilisation était nécessaire à l'aide d'une éponge hémostatique pour éviter leur déplacement dans l'espace mort.

Les chevaux ont été examinés 30 jours après traitement, et de nouvelles implantations ont été réalisées en cas de rechute (grossissement) ou d'absence de réponse. On revoyait alors le sujet un mois après, et ainsi de suite. Les propriétaires ont été appelés un an après pour connaître l'évolution de la tumeur. On considérait que le traitement avait échoué lorsque la tumeur ne répondait pas, qu'elle grossissait ou alors qu'elle repoussait.

Examinons ensemble les résultats de cette étude : On s'intéresse au taux de non-récidive deux ans après une à plusieurs sessions de chimiothérapie.

Le nombre de traitements nécessaires s'est élevé en moyenne à 2,7, avec une médiane de deux traitements. Pour 30 chevaux, seulement une session a été nécessaire, et 10 ont eu besoin de deux sessions. huit chevaux ont subi trois épisodes de traitement, et 11 chevaux ont reçu quatre séances ou plus, dont un jusqu'à 19 traitements successifs.

Le taux de non-récidive s'est élevé à 83 % pour toutes les tumeurs confondues parmi les chevaux dont on a pu suivre l'évolution. Parmi ces tumeurs, 11 sarcoïdes sur 13, six carcinomes épidermoïdes sur 10 et 12 mélanomes sur 13 n'ont pas récidivé.

Les propriétaires ont rapporté des effets secondaires modérés au site de la tumeur : 10 d'entre eux ont évoqué une rougeur et un gonflement au niveau du site d'implantation des billes de cisplatine pendant deux à trois semaines, et un cheval a présenté des écoulements au niveau de la plaie, résolus en une dizaine de jours.

Ainsi, les résultats sont encourageants et supportent l'efficacité de l'utilisation de billes de cisplatine. Dans la plupart des cas, seulement une à trois sessions espacées d'un mois d'intervalle ont été nécessaires à la résolution de la tumeur cutanée, contrairement aux quatre sessions préconisées pour les injections simples d'émulsions de cisplatine. Il y a donc ici un avantage à réduire le nombre de visites et d'interventions sur le cheval. Néanmoins, quelques chevaux ont nécessité un grand nombre de traitements, dont un jusqu'à 19 réimplantations. On pourrait se poser la question de changer de mode thérapeutique plutôt que de continuer d'implanter des perles chez ces individus.

On apprécie dans cette étude la clarté des critères de choix d'associer ou non la chimiothérapie à une exérèse chirurgicale. Cependant, on ne retrouve pas, comme dans l'étude précédente, de données de comparaison entre les différentes techniques utilisées. Il nous est alors difficile d'estimer l'apport de l'exérèse face à la chimiothérapie locale seule

Annexe n°04 : Analyse d'article

Successful treatment of equine sarcoids with cisplatin electrochemotherapy: A retrospective study of 48 cases (Tamzali et al. 2012)

Electrochemotherapy as a single treatment or adjuvant treatment to surgery of cutaneous sarcoid tumours in horses: a 31-case retrospective study (Tozon et al. 2016)

Dans une étude préliminaire sur l'électrochimiothérapie (ECT) à base de cisplatine sur des sarcoïdes équines réalisée en 2002, il a été démontré un taux de non-récidive de 100 % 18 mois après traitement (Rols, Tamzali, Teissié 2002). Deux études indépendantes plus récentes ont été publiées pour étayer ces résultats, participant ainsi à l'établissement d'un protocole de référence pour l'ECT.

Les critères de sélection étaient très proches entre les deux études : il a notamment été choisi des animaux sans comorbidités, dont les tumeurs ne montraient pas d'évidence de malignité et dont un suivi à long terme a été réalisé. Dans la première étude, 194 sarcoïdes (parmi 47 équidés) ont été traités à l'ECT entre 1999 et 2004 à l'école vétérinaire de Toulouse, France. Dans la seconde étude, 70 sarcoïdes, présentés par 32 équidés, ont été référencés entre 2003 et 2010.

Le traitement a été réalisé sous anesthésie générale, associé ou non à une exérèse chirurgicale : les formes verruqueuses et nodulaires ont été traitées en curatif, tandis que les formes fibroblastiques ont été plutôt traitées en adjuvant d'une exérèse pour l'étude de Tozon. Il n'a pas été précisé les critères de choix de la chirurgie dans l'étude de Tamzali, si ce n'est la taille de la tumeur.

La zone a été tondue et préparée aseptiquement, puis recouverte de gel échographique pour sécuriser le contact. Le cisplatine sous forme de solution aqueuse a été injecté à une dose de 2 mg/cm³ une à deux minutes avant l'EPB. Dans la première étude, la solution utilisée était de 2 mg/mL, tandis que Tozon a utilisé une solution de 1 mg/mL, mais la concentration finale par rapport au volume de la tumeur était la même. Les impulsions électriques ont été réalisées selon deux axes perpendiculaires. Les chevaux ont été évalués toutes les quatre semaines après traitement dans l'étude de Tamzali et toutes les deux semaines dans l'étude de Tozon. Les séances ont été répétées au besoin. La réussite a été déterminée selon les critères suivants : dans l'étude de Tamzali, le succès était l'absence de récidive au bout de quatre ans après traitement. Dans l'étude de Tozon, on estimait que la réponse était complète lorsque la tumeur n'était plus palpable, et la réussite était partielle si le volume diminuait de plus de 50 %.

	Protocole Tamzali	Protocole Tozon 1	Protocole Tozon 2
Electrode	Electrodes parallèles plates en plaques d'acier inoxydable	Electrodes parallèles plates en plaques d'acier inoxydable	Electrode à aiguilles, 2 rangs de 4 aiguilles espacées de 4mm
Durée	100us	100us	100us
Fréquence	5000Hz	5000Hz	5000Hz
Amplitude	1300V/cm	1300V/cm	1000V/cm
Impulsions	2x8impulsions, ondes carrées	2 x 4 impulsions	

Les résultats de l'étude de Tamzali ont montré un taux de réussite de 99,5 % (193/194 tumeurs) avec une médiane de 2,8 /-1,3 sessions. Le seul cas de récidive a concerné une tumeur de 6 cm de diamètre sans traitement chirurgical, et il a été suspecté que la portée des ondes électriques était insuffisante pour atteindre les cellules les plus profondes. Les effets secondaires ont été peu marqués, se limitant principalement à un œdème local auto-limitant.

Dans cette étude, les facteurs influençant la réponse thérapeutique ont également été étudiés. L'influence de la taille de la tumeur sur le nombre de sessions nécessaires a été scrutée à l'aide d'une corrélation de Spearman. Dans le cas des 110 tumeurs traitées par ECT seule, plus la taille était grande, plus le nombre de sessions pour obtenir un résultat satisfaisant était élevé ($p < 0,05$). L'impact de la technique et du mode de cicatrisation a également été étudié par un test de Kruskal-Wallis. Ainsi, si l'exérèse était incomplète ou que la cicatrisation se faisait par seconde intention, le nombre de sessions était significativement plus élevé. La localisation de la tumeur ne semblait pas avoir d'impact sur la réussite du traitement.

À la fin de la période d'observation de l'étude de Tozon, d'une médiane de 54 mois pour le premier groupe (ECT simple), une réponse complète a été obtenue pour 48/52 (92,3 %) tumeurs, et les quatre autres (7,7 %) ont montré une réponse partielle au traitement. Ces tumeurs étaient majoritairement des tumeurs à croissance infiltrative. Parmi le second groupe (ECT + exérèse chirurgicale), 17/18 (94,4 %) tumeurs ont répondu complètement au traitement, une seule a récidivé au bout de 14 mois. Les tumeurs de grande taille fibroblastique ont nécessité des séances supplémentaires pour une médiane initiale de 2,5 sessions.

Cette étude montre que l'ECT est très bien tolérée avec des effets secondaires minimes, se résolvant en quelques jours avec des soins de plaies de base. Elle corrobore non seulement la sécurité, mais aussi l'efficacité de l'ECT, avec des taux de réussite extrêmement satisfaisants, plus élevés que pour le cisplatine simplement utilisé en émulsion (93,3 %) ou en perle (83 %). Certaines réponses locales semblent s'améliorer entre la deuxième et la quatrième semaine, ce qui serait plutôt en faveur d'une évaluation toutes les quatre semaines. Enfin, les auteurs pensent que l'utilisation d'électrodes à aiguilles sur les tumeurs infiltratives aurait un réel avantage par rapport aux électrodes plates, mais cela n'est confirmé par aucun test statistique.

Annexe n°5 : Analyse d'article

Iridium-192 interstitial brachytherapy for equine periocular tumours: treatment results and prognostic factors in 115 horses (Théon, Pascoe 1995)

Il s'agit d'une étude pionnière en radiothérapie équine. Elle inclue 115 chevaux présentés à l'université de Californie pour la prise en charge de tumeurs périoculaires de diamètre modéré (<10cm). On retrouve respectivement 52 carcinomes épidermoïdes et 63 sarcoïdes dont la nature est confirmée à l'analyse histologique. Les tumeurs sont classées selon leur diamètre en trois catégories :

- T1 : Dm [0-2]cm
- T2 : Dm [2-5]cm
- T3 : Dm [5-10]cm

Parmi les chevaux sélectionnés pour l'étude, 28 sont présentés pour récidive après avoir déjà reçu un traitement initial dans l'année.

Le protocole de radiothérapie se réalise sous anesthésie générale ou sur un cheval sédaté ayant reçu une anesthésie locale. Une exérèse chirurgicale immédiatement avant irradiation est réalisée sur 17 chevaux, les critères justifiant cette procédure ne sont pas cités dans l'article.

L'isotope utilisé pour la brachythérapie est l'Iridium 192 sous formes de graines. Elles sont implantées via des guides en nylon flexible de différentes tailles espacées de 1 +/- 0.2 centimètre afin de couvrir le volume cible clinique de la tumeur. Le débit de dose de référence ainsi atteint est de 0.034 +/-0.010 Gy/h. En moyenne les fibres de nylon contiennent 38 +/- 27 graines dont les coordonnées sont saisies dans une base informatique. Elles sont laissées en place autant de temps nécessaire afin d'atteindre une dose totale de 60 Gy, soit une moyenne de 7.6 +/-1.4 jours avant d'être retirées manuellement. Pendant l'hospitalisation, les chevaux sont isolés dans des installations dédiées.

Les chevaux sont évalués à deux ou trois semaines, à deux mois, quatre mois et six mois puis tous les six mois après la brachythérapie. La médiane et la moyenne de temps avant l'arrêt du suivi ou la mort de l'animal sont respectivement de 16 et 24 mois. Le critère principalement étudié est le temps de survie sans progression tumorale (PFS), c'est-à-dire sans grossissement macroscopique du volume tumoral. Un an après le traitement, le PFS est de 86.6% pour les sarcoïdes et 81.8% pour les carcinomes. Ces taux tombent à 74% et 63.5% respectivement cinq ans après irradiation. Les chiffres bruts ne sont pas précisés, les PFS sont estimées à partir de l'estimateur de Kaplan-Meier (estimateur produit-limite). Vingt-cinq chevaux ont présenté une récurrence tumorale.

En parallèle cette étude s'intéresse également aux effets secondaires locaux aigus et retardés de la radiothérapie : Au cours du traitement on décrit fréquemment au niveau du site tumoral un gonflement (75.6%) et bien plus rarement une infection (10.4%). Des réactions aigues auto-limitantes de type érythème et desquamation (37.4%) sont observées entre six et 30 jours après le traitement. Enfin, il advient de façon bien plus rare des réactions retardées. Certaines sont bégnines et uniquement esthétiques comme une dépilation (21,7%) ou une dépigmentation des poils. D'autres sont bien plus graves et s'accompagnent parfois d'une véritable impotence fonctionnelle. Parmi celles-ci on recense une nécrose (3.4%), une fibrose (10.4%) pouvant entrainer un entropion, un phimosis palpébral (5.2%), une cataracte (4.3%) ou bien encore une kératite et ulcères cornéens (6.9%).

Enfin, on cherche à évaluer certaines variables (type histologique, classification T ainsi que localisation de la tumeur) en tant qu'indicateurs pronostics. Leur indépendance est testée avec des tableaux de contingence. L'analyse univariable utilise le test statistique de Mantel-Cox tandis que l'analyse multivariable repose sur une régression de Cox. Cette dernière montre que le type histologique et la localisation de la tumeur ne semblent pas présenter d'impact significatif sur le temps de survie sans progression tumorale. En revanche, les tumeurs de classe T2 et T3 sont significativement plus susceptibles de récidiver que les tumeurs de classe T1 ($p = 0.009$, risque relatif = 0.85). En effet, le risque relatif de récurrence tumorale estimé par le rapport de risque (hazard ratio) est respectivement 1,8 fois et 3.4 fois plus élevé pour les tumeurs T2 et T3 que pour une tumeur T1.

D'après la discussion de l'article, leurs recherches confirment que le taux de contrôle local un an après le traitement n'est pas un bon indicateur d'efficacité car il la surestime. Cependant le taux de survie sans progression tumorale à trois ans pour les sarcoïdes et quatre ans pour les carcinomes semblent être des indicateurs fiables de l'efficacité de la radiothérapie.

En conclusion de cette étude, la radiothérapie semble adaptée à la prise en charge de tumeurs de faible épaisseur et perd en efficacité avec le diamètre de la tumeur, les classes T3-T4 nécessitent en amont une exérèse complète ou réductive. Immédiatement après la chirurgie, la radiothérapie présente une meilleure efficacité mais également un risque accru de complications au site tumoral. La dose totale de 60Gy parait suffisante pour la plupart des tumeurs, elle peut être augmentée mais le risque de complications doit rester « acceptable ».

Cet article présente quelques limites : il ne donne pas de données brutes prenant en compte les morts et perdus de vus. Le succès de l'étude est une estimation du PFS et ne s'ancre ainsi pas totalement dans la réalité. Enfin, les modèles utilisés pour les variables non indépendantes sont compliqués dans leur interprétation et dans leur compréhension.

Annexe n°6 : Analyse d'article

Treatment of periocular and non-ocular sarcoids in 18 horses by interstitial brachytherapy with iridium-192 (Byam-Cook, Henson, Slater 2006)

Cette étude rétrospective porte sur le traitement de 23 sarcoïdes, parmi lesquelles huit périoculaires et 15 non périoculaires, par brachythérapie interstitielle à l'Iridium 192. Les 18 chevaux admis dans l'étude ont été présentés à l'hôpital universitaire vétérinaire de Cambridge pour la prise en charge d'une ou plusieurs sarcoïdes identifiées à l'analyse histologique et dont on a obtenu des données de suivi sur le long terme par contact téléphonique avec le propriétaire.

Parmi les tumeurs non oculaires, huit ont déjà reçu un traitement préalable (cryothérapie, immunothérapie, chimiothérapie topique) sans résultat probant avant leur admission. Une chirurgie réductrice est réalisée sur les sarcoïdes de profondeur supérieure à 1cm préalablement à la brachythérapie.

Dans un premier temps, les chevaux sont sédatés et une analgésie locale est réalisée, notamment via un bloc auriculaire et palpébral pour les tumeurs périoculaires. Des guides tubulaires sont alors placés dans la totalité du volume tumoral, en prenant une marge de sécurité de 0.5 à 1cm autour de la masse. Les guides sont espacés entre eux d'environ 1cm. Le manipulateur implante 24h après des fils d'Iridium recouverts de platine dans les tubes qui sont ensuite scellés à leurs extrémités. Les chevaux sont isolés dans des facilités spécifiques pendant le temps d'irradiation (en moyenne six jours), ils reçoivent quotidiennement de la phénylbutazone pour prendre en charge la douleur et faciliter la cicatrisation, ainsi que de la sulfadiazine et du triméthoprime pour afin de limiter le risque de complications infectieuses. A la fin du traitement les guides et fils d'Iridium sont retirés en masse puis l'équidé peut repartir dans son écurie. L'atrophie et la nécrose de la tumeur se font lentement en l'espace de quelques mois.

L'établissement du plan de dosimétrie est assisté par ordinateur : les programmes permettent de calculer le nombre, l'espacement et la localisation des guides selon les caractéristiques de la tumeur (taille, volume, localisation) afin de délivrer une dose uniforme à l'ensemble du volume tumoral. Le protocole choisit cible une dose totale de 50 à 60 Gy délivrée à raison de 10Gy par jour, ce qui correspond à une brachythérapie LDR. En réalité, les tumeurs ont reçu une dose médiane finale de 50 Gy, avec une dose totale de 45 à 60 Gy pour les sarcoïdes périoculaires et de 35.2 à 64Gy pour les sarcoïdes non oculaires.

Les manipulateurs sont en contact avec une source radioactive seulement à deux reprises : à la mise en place et au retrait des implants qui sont manipulés avec des pinces longues. Un dosimètre permet d'enregistrer l'exposition.

Dans cette étude, on évalue la rémission c'est-à-dire l'absence de récurrence de la sarcoïde dans le temps. On observe une rémission complète sur la totalité des 8 tumeurs périoculaires soit 100% avec un suivi de quatre à 34 mois (médiane 14.5 mois) et sur 86.7% des tumeurs non oculaires (13 sur 15) avec un suivi jusqu'à 91 mois (médiane 55 mois). Les deux cas de récurrences sont survenus sur des sarcoïdes fibroblastiques.

Parmi les effets secondaires observés lors de l'étude, on note principalement une desquamation et un érythème des tissus voisins de la tumeur. L'aspect esthétique reste très satisfaisant avec une cicatrice modérée et une repousse acceptable des poils. Un cas d'impaction du colon résolue médicalement a été relevé à la suite de la brachythérapie. Aucune lésion ni perte de fonction de la cornée ou des annexes oculaires n'a été observée.

En conclusion, les résultats obtenus à l'aide de la brachythérapie sont très satisfaisants avec jusqu'à 100% de rémission sur les sarcoïdes péri-oculaires avec peu d'effets secondaires esthétiques et fonctionnels sur le long terme. On pourra reprocher un temps de suivi relativement court (médiane 14.5 mois) pour cette catégorie de tumeur car une récidive peut advenir plus tard dans la vie de l'animal. La rémission évaluée sur les sarcoïdes non oculaires est ainsi plus proche de la réalité avec une médiane de suivi de quatre à cinq ans. Cela vient renforcer le choix de la radiothérapie en mono ou bithérapie (associé à la chirurgie) comme un gold standard dans la prise en charge de tumeurs péri-oculaires et comme un choix raisonné dans le traitement des sarcoïdes non oculaires avec des taux de réussite similaires à la chimiothérapie. Elle nécessite cependant des installations de pointe et un personnel formé ce qui la rend très peu accessible en France.

Annexe n°7 : Analyse d'article

Strontium plesiotherapy for the treatment of sarcoids in the horse (Hollis 2020)

Cette étude rétrospective récente a pour objectif d'évaluer l'efficacité de la prise en charge de sarcoïdes par une plésiothérapie au Strontium 90 en se basant sur leur évolution macroscopique après traitement.

Huit chevaux présentant 10 sarcoïdes ont été inclus dans l'étude, les tumeurs ont été sélectionnées par des cliniciens spécialistes en fonction de leur éligibilité à la plésiothérapie : le diagnostic de sarcoïde est clinique voire histologique, les lésions ne sont pas traitées en parallèle avec une autre méthode thérapeutique, les masses sont de faible diamètre (<24mm) et leurs marges peu profondes et bien délimitables. On recherche une épaisseur finale inférieure à 3mm ce qui peut nécessiter une réduction chirurgicale préalable à l'irradiation.

Le traitement est réalisé sur cheval debout sédaté, à l'exception d'une lésion à la base de l'oreille prise en charge sous anesthésie générale à cause du degré d'immobilisation nécessaire mais aussi de son accessibilité. La zone est tondue et désinfectée. Une exérèse chirurgicale est préalablement réalisée sur les trois tumeurs d'épaisseur supérieure à 3mm sous analgésie locale puis la source de Strontium de 1cm de diamètre montée sur une tige en acier inoxydable est placée au contact de la lésion. La main de l'opérateur est protégée par un bouclier de plexiglas ce qui permet le maintien manuel de la source contre la surface tumorale autant de temps nécessaire qu'il n'en faut pour délivrer une dose totale de 100Gy sur une profondeur de 5mm. En effet, on inclue dans le volume à traiter une marge de sécurité latérale et en profondeur de 2mm. Cela correspond à une dose de surface de l'ordre de 250 à 300Gy.

Pour les tumeurs de diamètre supérieur à 1cm, la source est appliquée à plusieurs reprises sur la surface de la sarcoïde afin de traiter l'entièreté de la tumeur. Cela nécessite de déterminer et dessiner préalablement les différents champs d'application se chevauchant sur la surface tumorale. Les opérateurs sont équipés d'éléments de protection en plomb (gants, lunettes, cache-thyroïde) et doivent maintenir plusieurs minutes la source à chaque point de contact.

Le choix de fractionner la plésiothérapie en trois sessions a été décidé sur certaines sarcoïdes pour limiter le risque d'effets secondaires, notamment sur des zones à risque (naseau, paupière supérieure) pour trois lésions et enfin sur une tumeur déjà traitée avec de la radiothérapie.

Des photographies des lésions fournies par le propriétaire ou le vétérinaire référent sont utilisées afin de déterminer l'efficacité de la plésiothérapie : une résolution macroscopique de la tumeur est considérée comme un succès thérapeutique. Ces données sont obtenues sur une période de six à 30 mois après le traitement.

Une résolution complète a été obtenue pour toutes les tumeurs inclues dans l'étude, sans récurrence sur le long terme. En l'espace de quatre à 12 semaines, on constate une nécrose et un dessèchement de la tumeur qui finit par se détacher et tomber, laissant derrière elle une zone dépilée et grisâtre.

Parmi les effets secondaires recensés, l'alopécie ainsi que la dépigmentation locale sont systématiques. On observe très fréquemment une leucotrichie (9/10 lésions) et parfois une dermatite modérée et auto résolutive (5/10 lésions). Aucun effet indésirable significatif sur le long terme n'a été relevé et il n'a pas été nécessaire de compléter le traitement avec des anti-inflammatoires.

Les résultats de cette étude soutiennent l'utilisation raisonnée de la plésiothérapie pour le traitement des sarcoïdes équines, dans la continuité des études préliminaires de Knottenbelt. Il faut cependant garder en tête que les lésions inclues dans cette recherche ont été attentivement sélectionnées afin d'augmenter les chances de réponse au traitement, les critères retenus ne correspondant pas à la majorité des tumeurs rencontrées sur le terrain. Sont éligibles seulement des tumeurs très superficielles mais aussi peu étendues, notamment à cause de la contrainte de l'application manuelle.

Par ailleurs, une autre grande limite de cette publication est le faible nombre de tumeurs étudiées. Le taux de succès est surestimé, et si les effets secondaires observés ici n'ont qu'un faible impact fonctionnel et esthétique sur le long terme, ce n'est malheureusement pas représentatif de ce qui pourrait advenir sur un plus grand effectif avec des conséquences plus graves comme un risque de cataracte ou fibrose des tumeurs périoculaires par exemple.

Enfin, on pourrait reprocher à cette étude le manque de suivi sur le long terme, avec des photographies obtenues dans l'année à la suite du traitement dans la majorité des cas (8/10 lésions) et ne dépassant pas les trois ans post plésiothérapie. On recherche pourtant avec cette prise en charge une résolution définitive sans récurrence tumorale le long de la vie de l'animal, c'est à dire pendant des périodes plutôt de l'ordre de cinq à 10 ans.

Par ailleurs, le fractionnement est théoriquement mieux toléré par les tissus non tumoraux comme expliqué dans l'article et dans le développement de cette thèse. Cependant il n'est pas indiqué dans l'article les effets secondaires spécifiques de chaque groupe (fractionné et non fractionné) ce qui ne permet pas de faire de lien entre fractionnement et innocuité de la plésiothérapie.

Annexe n°8 : Analyse d'article

Combined keratectomy, strontium-90 irradiation and permanent bulbar conjunctival grafts for corneolimbal squamous cell carcinomas in horses (1990-2002): 38 horses (Plummer et al. 2007)

Les SCC sont les tumeurs oculaires équines les plus fréquemment décrites, 30% d'entre elles soit presque une sur trois lésions se situent au niveau de la cornée ou du limbe cornéen. Malheureusement, ces dernières ne sont pas bonnes candidates à la chimiothérapie intra-lésionnelle pour plusieurs raisons :

- L'injection d'agents anticancéreux est complexe car les SCC cornéens ont une structure plane et de faible épaisseur.
- Les molécules hydrosolubles pénètrent le stroma cornéen ce qui peut entrainer des effets secondaires graves sur l'endothélium de la cornée.

Pourtant, il semble nécessaire de conjuguer l'exérèse chirurgicale à une technique adjuvante car pratiquée seule, la kératectomie superficielle est associée à un très fort taux de récidive malgré des marges saines apparentes. En effet, une réussite thérapeutique de seulement 55% a été décrite dans les années 80 (King et al. 1991).

C'est dans ce cadre que s'inscrit cette étude rétrospective, dont l'objectif est de démontrer l'efficacité de la plésiothérapie au Strontium 90 en tant que traitement adjuvant dans la prise en charge des carcinomes cornéens et limbaux.

Les 38 chevaux sélectionnés ont été présentés au centre médical vétérinaire de l'université de Floride entre 1990 et 2002 pour la prise en charge de SCC cornéens confirmées à l'analyse histologique ou cytologique par kératectomie superficielle, plésiothérapie au Strontium 90 et greffe conjonctivale bulbaire permanente. Les races les plus représentées sont celles qui présentent fréquemment une robe avec un mélange de blanc et de couleur, car les SCC se développent préférentiellement dans des zones hypo-pigmentées sous l'effet des rayons ultraviolets. On recense ainsi 13 appaloosas, huit paint horse et sept quarter horse parmi les 38 équidés soit 73% de l'effectif.

Initialement, les 38 chevaux ont été traités avec le même protocole de radiothérapie immédiatement suite à la chirurgie : une dose totale de 20 000 rads soit 200 Gy est délivrée en positionnant la source de Strontium à différents endroits au contact du globe pour couvrir l'entièreté du site chirurgical. Ils sont suivis à la fois par examens physiques et par échange téléphonique / mail avec le propriétaire ou le vétérinaire référent.

Le succès thérapeutique est défini comme l'absence de récurrence tumorale à la suite du traitement. Il a finalement été évalué sur un effectif réduit. En effet, un cheval a dû subir une énucléation six jours après la prise en charge à cause d'un ulcère compliqué, et huit équidés ont été perdus de vue. Parmi les 29 chevaux restants, une résolution complète a été observée chez 24 équidés soit 83% avec un suivi moyen de 1754 jours soit presque cinq ans après irradiation, avec des durées de suivi variant de 14 à 5110 jours. Les cinq cas de récurrence ont eu lieu entre 29 et 900 jours soit un temps moyen de 449 jours, voyons comment ils ont été adressés :

- Jument paint horse. La récidive a eu lieu 690 jours après le traitement, la tumeur a été prise en charge par excision et traitement topique à base de 5-FU car la gestation de la jument était incompatible avec une nouvelle radiothérapie.
- Hongre appaloosa. La récidive a eu lieu 900 jours après le traitement, il n'y a pas de données sur la suite de la prise en charge.

- Jument appaloosa. La récidive a eu lieu 537 jours après le traitement, une plésiothérapie au strontium 90 a à nouveau été effectuée et a permis une résolution.
- Hongre quarter horse. Cet équidé a présenté de nombreuses récurrences tumorales à 90, 485 et 515 jours post traitement, elles ont été prises en charge avec une plésiothérapie mais suite à un prolapsus de l'iris une énucléation a été effectuée.
- Hongre arabe. La récidive a eu lieu 29 jours post traitement, elle a initialement été traitée avec une plésiothérapie mais une énucléation a été décidée suite à une seconde récurrence tumorale.

En se basant uniquement sur les cas dont on a obtenu des données de suivi deux ans après le traitement : on obtient un succès thérapeutique chez 16 chevaux sur 20 soit un taux de réussite de 80% deux ans après la plésiothérapie. Ces résultats concordent avec des études anciennes indiquant pour l'une un taux de non récurrence deux ans après plésiothérapie au strontium 90 de 87.5% (Walker, Goble, Geiser 1986) et pour l'autre un taux de non récurrence un an après traitement chez 20 équidés sur 24 soit une réussite thérapeutique de 83% (Rebhun 1990).

Cette étude vient soutenir l'utilisation de la plésiothérapie comme excellente technique adjuvante dans la prise en charge des SCC cornéens, dans un contexte où la chirurgie seule ne montre pas de bons résultats avec des récurrences tumorales fréquentes, et où l'utilisation de la chimiothérapie est contre-indiquée. Cependant la technique de plésiothérapie est peu développée, on ne sait pas à quoi ressemble la source de Strontium, comment l'appliquer et combien de temps, ni comment ont été réalisés les calculs.

Annexe n°9 : Analyse d'article

Effects of treatment with and without adjuvant radiation therapy on recurrence of ocular and adnexal squamous cell carcinoma in horses: 157 cases (Mosunic et al. 2004)

Il s'agit d'une étude rétrospective s'intéressant à l'impact de la radiothérapie en tant que traitement adjuvant sur le taux de récidive des carcinomes épidermoïdes péri-oculaires. Elle a inclus 91 chevaux présentés au centre hospitalier vétérinaire de l'Université de Géorgie aux Etats-Unis entre 1985 et 2002 pour la prise en charge de 157 carcinomes épidermoïdes péri-oculaires, de nature confirmée à l'analyse histologique.

Parmi cet effectif, on recensait des chevaux d'âge, de sexe, de robe et de race variés. Néanmoins, les hongres (61.5%) étaient majoritaires par rapports aux juments et étalons. Les races les plus représentées étaient le Quarter Horse (26.7%), l'Appaloosa (17.6%) et le Paint Horse (12.1%),

Les carcinomes épidermoïdes étaient majoritairement situés au niveau des paupières (28.7%), de la membrane nictitante (26.1%), de la cornée (19.1%) et du limbe (17.8%). Ils ont été pris en charge via plusieurs modalités de traitement différentes, classés en deux groupes dans le cadre de cette étude :

Groupe 1 : Prise en charge sans radiothérapie adjuvante (172/231 traitements)

- Enucléation (13)
- Exérèse chirurgicale (81)
- Exérèse chirurgicale associée à l'injection intra-lésionnelle de cisplatine à 1mg/cm3, en quatre séances espacées de deux semaines. (3)
- Exérèse chirurgicale suivie d'une cryothérapie en deux cycles de congélation/décongélation. (75)

Groupe 2 : Prise en charge avec radiothérapie adjuvante (59/231 traitements)

- Exérèse chirurgicale associée à une plésiothérapie à base de Strontium 90, à une dose comprise entre 80 et 200 Gy en fonction de la localisation de la tumeur. (33)
- Exérèse chirurgicale associée à une brachythérapie interstitielle LDR : soit via l'implantation de fils d'Iridium 192 pendant cinq à 13 jours de façon à délivrer des doses de l'ordre de 58 à 65 Gy (19), soit avec du Cobalt 60 en quatre traitements hebdomadaires en une dose totale de 32 à 36 Gy. (2)
- Exérèse chirurgicale, cryothérapie et plésiothérapie (5)

La période de suivi s'est étendue en moyenne sur 420.9 jours (10 à 3082 jours) pour l'ensemble de l'effectif, sans différence significative entre les deux groupes. De nombreux équidés ont été perdus de vus ce qui correspond à l'issue de 96 traitements (41.5%).

La récurrence était évaluée en fonction de l'analyse histologique ou de la réapparition macroscopique de la tumeur, nécessitant une nouvelle prise en charge. Le taux de récidive entre les deux groupes a été comparé avec un modèle de régression logistique à deux variables : il est revenu significativement plus important dans le groupe 1 où il s'élevait à 44.1% (76/172) que dans le groupe 2 où il tombait à 11.9% (7/59) pour toute localisation confondue ($p < 0.001$).

On a retrouvé cette différence significative pour certaines localisations en particulier :

- Carcinomes palpébraux : le taux de récidive s'élevait à 54% (27/50) pour le groupe 1 tandis qu'aucune récurrence n'a été répertoriée dans le groupe 2 (0/19).
- Carcinomes cornéens : le taux de récidive s'élevait à 35.3% (12/34) pour le groupe 1 tandis qu'aucune récurrence n'a été répertoriée dans le groupe 2 (0/9).
- Carcinomes du limbe : le taux de récidive s'élevait à 51.5% (17/33) pour le groupe 1 tandis qu'il tombait à 30.8% (4/13) dans le groupe 2

En revanche, il n'y avait pas de différence significative entre les deux groupes pour les carcinomes situés sur la membrane nictitante. Enfin, aucune analyse statistique n'a pu être effectuée pour les carcinomes de la conjonctive palpébrale du fait de leur taille trop faible.

Cette étude révèle également que les carcinomes des chevaux pur race ($p = 0.044$) et des chevaux de robe baie ($p = 0.028$) ont plus de risque de récidiver, quelques soient leur localisation ou les traitements appliqués.

Si l'on s'intéresse à la méthode : L'utilisation d'une exérèse chirurgicale combinée à une plésiothérapie au Strontium 90 a donné un taux de non-récurrence global de 84.9% (28/33). Associée à des implants d'Iridium 192, il atteignait 89.5% (2/19). La cryothérapie suivant une chirurgie cytoréductive a amené à un taux de non-récurrence de 69.3% (52/75).

Cette étude corrobore les résultats de nombreuses études antérieures et vient apporter de nouvelles preuves d'efficacité de la radiothérapie adjuvante combinée à une exérèse chirurgicale, comparée à l'exérèse chirurgicale seule ou associée à une cryothérapie, où le taux de récurrence est trois fois supérieur.

Annexe n°10 : Analyse d'article

Photodynamic therapy for the treatment of periocular squamous cell carcinoma in horses: a pilot study (Giuliano et al. 2008)

Il s'agit d'une étude prospective réalisée sur neuf chevaux atteints de carcinomes épidermoïdes péri-oculaires. Les tumeurs ont été pris en charge par exérèse chirurgicale et photothérapie dynamique adjuvante à l'Université du Missouri par la vétérinaire ophtalmologue spécialiste Elisabeth A.Giuliano, principale autrice de cette étude.

A l'admission, un examen clinique général était effectué afin de s'assurer de l'état de bonne santé du cheval avant mise en place du traitement, suivi d'un examen oculaire complet. Lors de suspicion de carcinome épidermoïde, les lésions étaient photographiées, mesurées puis biopsiées afin d'en confirmer la nature histologique. L'évaluation initiale était complétée par cytoponction des nœuds lymphatiques mandibulaires, bilan sanguin complet (biochimie et numération formule sanguine) et radiographie thoracique au besoin.

N'ont été admis dans l'étude que les chevaux répondant à des critères stricts : D'une part, le carcinome épidermoïde confirmé à l'analyse histologique était bien situé en région péri-oculaire, sans signe d'extension locale ni métastatique, et n'avait reçu aucun traitement préalable. D'autre part, le cheval était en bonne santé apparente, sans comorbidités, et son statut vaccinal du tétanos était à jour.

Une pommade ophtalmique à base de néomycine, polymyxine B et bacitracine a été appliquée dans l'œil affecté trois fois par jour 24h avant l'intervention pour limiter le risque de complication infectieuse. Les chevaux ont également reçu une injection intra-veineuse de flunixine à 1mg/kg avant le traitement afin de réduire l'inflammation et la douleur post-opératoires.

Les patients ont été placés en décubitus latéral sous anesthésie générale, ce n'est qu'à ce moment que les mesures finales de la tumeur ont été réalisées, ce afin de déterminer le volume précis d'agent photosensibilisant à utiliser. Les globes oculaires ont été protégés par de la mousse de polystyrène en guise de bouclier opaque. Après résection chirurgicale, le lit de la plaie a été infiltré avec de la 2-[1-hexyloxyethyl]-2-devinylpyropheophorbide-a (HPPH), un agent photosensibilisant non commercialisé, mélangé à du dimethyl sulfoxide (DMSO) 90% à une concentration finale de 2mg/mL. La dose finale administrée était de 1mg/cm2. Le lit tumoral était ensuite irradié avec une lumière de 665nm de longueur d'onde, émise par un laser. La plaie chirurgicale a reçu une dose de 100J/cm2 à un débit de 100mW/cm2, pendant 25 à 45 minutes en fonction de la taille de la lésion. Aucune plaie n'a été fermée par première intention.

Pendant la convalescence, les chevaux ont reçu à nouveau une pommade ophtalmique antibiotique trois fois par jour pendant 10 jours ainsi que de la phénylbutazone 1g par voie orale pendant cinq à sept jours. L'œil traité était protégé par un œillet afin de limiter son exposition, un examen ophtalmologique était réalisé tous les jours (au moins trois) en post-opératoire afin de monitorer d'éventuels effets secondaires, puis un suivi a été réalisé à la clinique un, trois, six et 12 mois après le traitement puis tous les ans, dans le but de détecter précocement une rechute.

Lors du recensement de janvier 2008, la période sans récurrence tumorale s'élevait en moyenne à 45 mois (25 à 68 mois). Sept chevaux ont été traités uniquement avec la PDT adjuvante, sans prise en charge préalable : ceux-là n'ont pas récidivé de leur tumeur. En revanche, une récurrence tumorale rapide a été observée chez les deux autres chevaux :

- Cas n°1 : Jument de 16 ans.

Atteinte d'un carcinome épidermoïde palpébral, cette jument avait déjà été traité deux fois par excision chirurgicale et cryothérapie suivie d'injections intra-lésionnelles de cisplatine dans les 10 mois précédent l'inclusion dans l'étude. Six semaines après la PDT, une biopsie a révélé une récurrence de carcinome épidermoïde en marge médiale de la zone traitée. Elle a par la suite reçu une nouvelle séance de PDT suite à reprise chirurgicale, ce qui a permis une guérison pendant 68 mois. Elle a finalement été énucléée suite à un abcès stromal.

- Cas n°2 : Hongre de 13 ans

Le SCC de cet hongre avait déjà été pris en charge à de multiples reprises par exérèse et cryothérapie mais récidivait systématiquement. Il a ainsi été référé à l'Université du Missouri où il a reçu sa première séance de PDT adjuvante. Dix semaines après le traitement, une zone érythémateuse de 3mm suspecte a été biopsiée. L'analyse histologique a montré une récurrence de carcinome. Cette zone a été uniquement reprise chirurgicalement avec des marges saines. Aucune récidive n'a été relevée jusqu'en janvier 2008 soit 64 mois après la seconde chirurgie.

Les effets secondaires se limitaient à un fort œdème palpébral dans la semaine suivant le traitement. Deux cas d'épiphora chronique ont été recensés, sans impact fonctionnel ni cosmétique sur l'œil atteint.

Les résultats de cette étude préliminaire soutiennent le potentiel de la PDT adjuvante dans le traitement des carcinomes épidermoïdes péri-oculaires, avec un taux de non-récurrence de 78% sur de longues périodes à l'échelle de la vie du cheval. Sur des tumeurs naïves, aucune récurrence tumorale n'a été observée par suite de la prise en charge. La PDT ne nécessite pas d'hospitalisation et est sécuritaire à la fois pour le cheval mais aussi pour le manipulateur dont la santé n'est pas compromise par les produits utilisés.

Il est suggéré que les tumeurs ayant récidivé répondaient aux critères suivants : des dimensions larges, un caractère particulièrement agressif ainsi qu'une vascularisation altérée par les tissus cicatriciels créées par les précédents traitements. Cela rend les tissus peu oxygénés et par conséquent moins sensibles à la PDT qui fonctionne particulièrement par la formation de radicaux libres.

Cela illustre la nécessité de prendre en charge les tumeurs cutanées précocement et d'utiliser des modalités de traitements dont l'efficacité est prouvée.

Cette étude possède néanmoins quelques limites, notamment le faible effectif qui limite fortement l'extrapolation des résultats à grande échelle. Enfin, le HPPH n'est pas commercialisé et n'est donc pas une molécule de choix pour établir un protocole fiable et reproductible utilisable en clinique.

Annexe n°11 : Local photodynamic therapy delays recurrence of equine periocular squamous cell carcinoma compared to cryotherapy (Giuliano et al. 2014)

Cette étude mixte compare l'efficacité de la cryothérapie et de la photothérapie dynamique après exérèse chirurgicale dans la prise en charge de carcinomes épidermoïdes péri-oculaires en se basant sur le délai entre le traitement et la première récurrence tumorale. Elle a inclus 24 équidés divisés en deux groupes distincts, sans différence significative d'âge, de sexe et de race du patient ni de taille de la tumeur :

- Groupe 1 : Exérèse chirurgicale et cryothérapie adjuvante (rétrospectif)

Ce groupe était composé de 14 chevaux traités entre 1993 et 2003 par exérèse chirurgicale et cryothérapie au service d'ophtalmologie de l'Université du Missouri. Les cas ont été sélectionnés selon les critères d'inclusion suivants : accès à un historique médical complet de l'équidé, confirmation de la nature de la tumeur à l'analyse histologique, données sur la taille et le volume tumoral, suivi effectué sur une période minimale de deux ans. Les nouvelles étaient obtenues via le vétérinaire traitant ou le propriétaire, voire grâce au suivi réalisé à la clinique directement.

Le traitement se réalisait sous anesthésie générale ou sédation sur cheval debout après préparation aseptique du site tumoral et anesthésie locale par injection sous-cutané de lidocaïne. Le vétérinaire procédait à une exérèse chirurgicale immédiatement suivie de cryothérapie à l'azote liquide en deux cycles de congélation/décongélation. Le matériel utilisé était un pistolet cryogénique de Brymill.

- Groupe 2 : Exérèse chirurgicale et photothérapie dynamique locale adjuvante (prospectif)

Ce groupé était composé de 10 chevaux traités entre 2006 et 2010 par exérèse chirurgicale et photothérapie dynamique adjuvante dans la même université par la vétérinaire ophtalmologue spécialiste Elisabeth A.Giuliano, principale autrice de cette étude.

A l'admission, un examen clinique général était effectué afin de s'assurer de l'état de bonne santé du cheval avant mise en place du traitement, suivi d'un examen oculaire complet. Lors de suspicion de carcinome épidermoïde, les lésions étaient photographiées, mesurées puis biopsiées afin d'en confirmer la nature histologique. L'évaluation initiale était complétée par cytoponction des nœuds lymphatiques mandibulaires, bilan sanguin complet (biochimie et numération formule sanguine) et radiographie thoracique au besoin.

N'ont été admis dans l'étude que les chevaux répondant à des critères stricts : D'une part, le carcinome épidermoïde confirmé à l'analyse histologique était bien situé en région péri-oculaire, sans signe d'extension locale ni métastatique, et n'avait reçu aucun traitement préalable. D'autre part, le cheval était en bonne santé apparente, sans comorbidités, et son statut vaccinal du tétanos était à jour.

Une pommade ophtalmique à base de néomycine, polymyxine B et bacitracine a été appliquée dans l'œil affecté trois fois par jour 24h avant l'intervention pour limiter le risque de complication infectieuse. Les chevaux ont également reçu une injection intra-veineuse de flunixine à 1mg/kg avant le traitement afin de réduire l'inflammation et la douleur post-opératoires.

Les patients ont été placés en décubitus latéral sous anesthésie générale, ce n'est qu'à ce moment que les mesures finales de la tumeur ont été réalisées, ce afin de déterminer le volume précis d'agent photosensibilisant à utiliser. Les globes oculaires ont été protégés par un volet réalisé à partir de la troisième paupière ou par de la mousse de polystyrène en guise

de bouclier opaque. Après résection chirurgicale, le lit de la plaie a été infiltré avec de la verteporfine concentrée à 2mg/mL pour obtenir une dose de 1mg/cm2, puis illuminé avec une lumière de 688nm de longueur d'onde, émise par une LED. La plaie chirurgicale a reçu une dose de 100J/cm2 à un débit de 200mW/cm2, pendant 15 à 30 minutes en fonction de la taille de la lésion. Aucune plaie n'a été fermée par première intention.

Pendant la convalescence, les chevaux ont reçu à nouveau une pommade ophtalmique antibiotique trois fois par jour pendant 10 jours ainsi que de la phénylbutazone 1g par voie orale pendant cinq à sept jours. L'œil traité était protégé par un œillet afin de limiter son exposition, un examen ophtalmologique était réalisé tous les jours en post-opératoire afin de monitorer d'éventuels effets secondaires, puis un suivi a été réalisé à la clinique un, trois, six et 12 mois après le traitement puis tous les ans, dans le but de détecter précocement une rechute.

L'analyse statistique effectuée concernant le temps entre la fin du traitement et la récurrence tumorale prouve qu'il existe une différence significative ($p = 0.0006$) entre le groupe 1, où 11 chevaux sur 14 ont vu leur tumeur récidiver en l'espace de 1 à 44 mois (période médiane de 10 mois) et le groupe 2 où aucune récurrence tumorale n'a été relevée sur une période de suivi minimale de 25mois.

Dans la discussion de cet article, il est suggéré que la différence entre les deux groupes peut s'expliquer de façon multifactorielle : plusieurs opérateurs ont réalisé les traitements dans le premier groupe, le mouvement du patient sous sédation simple a rendu la réalisation de l'exérèse et de la cryothérapie plus compliquée, et l'application en spray d'azote liquide est moins contrôlée que l'utilisation de sondes cryogènes.

Dans le groupe 2, les effets secondaires étaient limités à un fort chémosis post-opératoire, résolu en quelques jours et une alopécie permanente. Des cas d'épiphora et d'ectropion ont également été relevés, sans atteinte fonctionnelle et esthétique significative.

En conclusion, la photothérapie dynamique locale adjuvante à base de verteporfine semble s'imposer comme une solution efficace, pérenne et sécuritaire pour la prise en charge de carcinomes épidermoïdes péri-oculaires. Néanmoins, encore trop peu d'études soutiennent son utilisation, elle se réalise impérativement sous anesthésie générale et son prix reste peu avantageux comparé à la chimiothérapie intra-lésionnelle. Concernant la cryothérapie, les résultats de cette étude sont peu satisfaisants, avec une récurrence tumorale parfois très rapide chez 78% des chevaux traités.

Annexe n°12 : Analyse d'article

Clinical results of photodynamic therapy for the treatment of sarcoid tumors in equids (Gustafson et al. 2004)

Cette étude prospective a été réalisée entre 2002 et 2004 à l'Université vétérinaire de l'Oregon. Elle s'est intéressée à l'efficacité de la photothérapie dynamique (PDT) à base d'acide δ-aminolévulinique (ALA) dans la prise en charge de sarcoïdes, en association ou non avec une exérèse chirurgicale. L'objectif n'était pas forcément d'être curatif, mais d'obtenir des preuves d'efficacité caractérisées soit par une amélioration clinique visible, soit une absence de récurrence tumorale ou bien encore des signes de mort cellulaire objectivés par histologie.

Elle a inclus 10 équidés (neuf chevaux et un âne), avec un total de 18 tumeurs (diagnostic clinique ou histologique) traitées par PDT. L'auteur décrit que les sarcoïdes ont été choisis pour leur accessibilité, leur agressivité, l'échec d'autres options thérapeutiques et leurs répercussions cliniques (gène, inconfort, irritation). Un formulaire de consentement était signé par les propriétaires avant prise en charge.

Une réduction chirurgicale au laser ou à la lame froide a précédé le traitement pour sept lésions (quatre chevaux), sans fermeture par première intention. La tumeur ou le lit de la plaie étaient alors exposés à l'agent sensibilisant via l'une des modalités suivantes ou leur combinaison :

- Voie topique : Une préparation concentrée à 20%, d'absorption transcutanée rapide, était appliquée toutes les 30 à 60 minutes dans les trois à cinq heures précédent l'exposition lumineuse.
- Injection intra-lésionnelle : Solution concentrée à 1% (10mg/mL) associée à de la carbocaïne, injectée en plusieurs points au sein du volume tumoral, 20 à 60 minutes avant exposition lumineuse, à une dose de 1mL/cm3.

Après l'incubation nécessaire pour la formation de protoporphyrine IX, les lésions étaient exposées à l'une de ces deux sources lumineuses : La fluence J était calculée selon la formule J = T x W/cm2 avec T le temps d'exposition.

- Laser à diode, émettant une lumière monochromatique de 635nm de longueur d'onde, en un faisceau de 170mW sur une zone de 3cm de diamètre, irradiant à 25mW/cm2, avec de temps d'exposition de 20 à 75 minutes.
- Lampe à LED, constituée de 72 LED émettant une lumière de 641 +/- 21nm, irradiant à 7mW/cm2 sur une région de 3cm de diamètre, avec des temps d'exposition de 20 à 210 minutes.

Les équidés étaient ensuite évalués les premiers jours après le traitement puis un suivi était effectué toutes les trois semaines, avec parfois nécessité de réitérer une à deux nouvelles séances de PDT. Les lésions blanchissaient initialement dans les 10 à 15 minutes après illumination, puis noircissaient le jour suivant avant de former une escarre entre un et trois jours après la prise en charge.

Des prélèvements de tissus ont été réalisés sur 10 lésions, trois à cinq jours après le traitement afin de les envoyer à l'analyse histologique et de mettre en évidence des signes de nécrose.

A l'issue de l'étude, les résultats suivants ont été obtenus : 13 lésions sur 18 ont montré une réponse au traitement. A savoir que quatre des lésions qui n'ont pas montré d'amélioration appartenaient à un seul cheval. A l'âge de sept ans, ce dernier présentait plus d'une dizaine de sarcoïdes pris en charges à de multiples reprises par chirurgie, immunothérapie et traitements topiques divers sans succès. On suspecte un caractère très agressif et de puissants mécanismes de résistantes de ces lésions. En excluant ce cas particulier, on obtient une preuve d'efficacité initiale dans 13 lésions sur 14 (93%). Finalement, 8/17 lésions qui ont été suivies sur le long terme ont progressé ou récidivé.

Parmi les huit tumeurs traitées dans leur intégralité, un cas a été perdu de vue, et on a observé sur les autres lésions soit une résolution totale (3/8) ou partielle (2/8) avec un période de suivi de trois à 20 mois, soit une récurrence tumorale (2/8) en l'espace de cinq à sept mois.

Des résultats très satisfaisants ont été obtenus chez certains patients, on citera par exemple les sarcoïdes auriculaires du cheval B. Ces derniers ont été traités avec la pose d'un garrot à la base des deux oreilles et une injection d'ALA directement dans les veines auriculaires. Les tumeurs ont nettement régressé et sont restées stables pendant un an et demi. Chez un autre cheval, une sarcoïde située au niveau du dos a complétement répondu, ce qui a permis de lui reposer la selle sans générer d'inconfort et d'apporter une meilleure qualité de vie à l'animal.

La plupart des sarcoïdes inclus dans l'étude évoluaient déjà depuis longtemps, présentaient un impact fonctionnel et/ou esthétique à cause de leur taille ou localisation, et avaient déjà été exposés à d'autres méthodes de traitement. Il semble donc compliqué de généraliser les résultats, et on peut suspecter que l'efficacité de la PDT est sous-estimée pour ces tumeurs particulièrement agressives et résistantes.

Si les résultats obtenus sont encourageants, cette étude présente néanmoins de nombreuses limites : elle souffre d'une cohorte de faible effectif, d'un protocole très peu uniformisé et variable d'une lésion à l'autre (sans expliquer ni le choix de réaliser une exérèse chirurgicale préalable, ni l'orientation vers une méthode d'application ou une source lumineuse en particulier) ainsi que de sources d'erreur multiples (pas de diagnostic histologique initial sur tous les équidés, des sources lumineuses très différentes considérées équivalentes etc.). Le niveau de preuves reste donc assez faible.

Annexe n°13 : Analyse d'article

Glycolysis inhibition improves photodynamic therapy response rates for equine sarcoids (Golding, Kemp-Symonds, Dobson 2017)**.**

Cette étude prospective récente et d'excellente qualité s'est intéressé à l'apport de l'utilisation d'anti-oxydants ou d'inhibiteurs de la glycolyse en combinaison avec une photothérapie dynamique dans la prise en charge de sarcoïdes.

En effet, les mécanismes de défense contre le stress oxydatif sont accrus dans les cellules cancéreuses, ce qui empêche la photothérapie dynamique d'atteindre son plein potentiel cytotoxique. Par ailleurs, les cellules tumorales favorisent la glycolyse comme principale source énergétique, même en présence d'oxygène. Il a donc été théorisé et prouvé, notamment en médecine humaine, que l'utilisation d'inhibiteurs de la glycolyse, en entrainant un déficit en ATP et l'accumulation de radicaux libres dans la cellule permet de potentialiser les stratégies anti-cancéreuses.

Cette étude s'est réalisée à plusieurs échelles :

- Cultures cellulaires in vitro

L'expérimentation s'est réalisée sur des cellules issues de sarcoïdes équines (lignée EqS04b) ou cellule souches de fibroblastes retrouvées au niveau du palais de fœtus équins (EqPalF) en provenance de l'Université de Glasgow, conservée dans un milieu Eagle modifié de Dulbecco (DMEM) supplémentée en sérum équin (10%), pénicilline (100UI/mL) et streptomycine (100 ug/mL) dans un incubateur humidifié à 5% de dioxyde de carbone, à une température de 37°C. Le protocole suivant a été suivi :

  - Ensemencement : Ces cellules ont été ensemencées à une densité de 150 000 cellules/puits, pour obtenir le lendemain des monocouches confluente à 90%.
  - Incubation : Elles ont ensuite été incubées avec une faible dose d'ALA (21ug/mL) pendant 24h dans du DMEM sans sérum ni rouge de phénol avec une faible teneur en glucose
  - Exposition à la lumière : à une dose totale de 10J/cm2 à l'aide d'une lampe halogène blanche de 500W.
  - Complémentation : Par la suite, les cellules ont été placées dans des milieux complémentés en inhibiteurs de la glycolyse, soit du 2-désoxy-d-glucose (D2G) soit de l'ionidamine pendant 24h.
  - Evaluation de la viabilité cellulaire : Les cellules flottantes et adhérentes ont été regroupées et leur viabilité a été évaluée par cytométrie en flux après coloration à l'iodine de propidium.

Toutes les expériences de culture ont été réalisées en trois exemplaires. Certaines cultures n'étaient pas incubées avec de l'ALA, non exposées à une source lumineuse ou non complémentées en inhibiteurs de la glycolyse après photothérapie afin d'obtenir des contrôles négatifs. Enfin, quelques cultures ont subi jusqu'à quatre séances de PDT espacées d'une semaine pour permettre le repeuplement des puits.

Les doses utilisées en photosensibilisant et lumière étaient délibérément faibles afin de reproduire les conditions retrouvées en marges profondes des sarcoïdes in vivo.

L'analyse statistique (Anova) a montré les résultats suivants :

- Les cellules issues de sarcoïdes étaient significativement plus sensibles à la PDT que les fibroblastes, avec une mortalité respective post-traitement de 15,1 +/- 1.3% et 6.9 +/-0.4%
- L'ajout d'inhibiteurs de la glycolyse permet de potentialiser significativement la cytotoxicité de la PDT, avec une mortalité accrue à 40.7 +/- 1.5% pour le 2DG et 42.9 +/- 4.0% pour l'ionidamine.
- Après quatre séances d'exposition, les cellules sont plus sensibles au traitement avec une mortalité de 56.7 +/- 9.0% pour le 2DG et 77.5 +/- 5.3% pour l'ionidamine. Cela réfute l'hypothèse initiale qui supposait le développement de résistance à la PDT après plusieurs expositions, et montre au contraire une sensibilisation.

- Tissus cancéreux in vitro

Des manipulations ont également été réalisées sur des échantillons de tissus issus de sarcoïdes de type fibroblastique retirés au laser CO2 et sur de la peau de souris de laboratoire C57/BL6 adultes prélevée après euthanasie. Les deux types de peau ont été nettoyés avec de l'éthanol, cultivés dans du DMEM sans sérum et maintenus dans un incubateur humidifiant à 37°C.

Lors de la première expérience, les tissus ont ensuite été mis en contact avec de l'ALA de trois façons différentes :

- Dans une solution amplifiant la pénétration transcutanée : ALA à 20% dans une solution d'éthanol et de tampon phosphate, contenant 60mg de N-lauroylsarcosine et 40mg de monolauréate de sorbitane dans 10mL de solution. Un papier filtre est imbibé de solution puis déposé à la surface des tissus.
- Dans la crème émolliante Cetraben, concentrée à 20% et appliqué en fine couche sur les tissus.
- Dans une crème concentrée à 20% formulée par l'Hôpital de Mandeville.

Après quatre heures d'incubation, les tissus ont été fixés à l'aide de formaldéhyde et incorporés dans de la gélatine. Ensuite, des sections transverses de 50 um ont été découpés à l'aide d'un vibratome, colorées par la méthode de coloration nucléaire de Hoechst, montés sur lame et observés au microscope à fluorescence.

Cela a permis de sélectionner la solution amplifiante, car elle seule a permis l'observation d'une fluorescence au sein de l'épiderme.

Lors de la seconde expérience, les tissus ont été exposés à un inhibiteur de la glycolyse via apposition d'un papier filtre imbibé de solution amplifiante contenant 300 uM ionidamine ou 180 mM de 2DG pendant deux heures. Ils ont ensuite incubé dans un milieu DMEM sans sérum contenant de l'ALA à 335 ug/mL pendant une heure et demi avant découpe, coloration, montage et observation au microscope.

La présence d'inhibiteurs de la glycolyse au sein des tissus empêche le métabolisme de l'ALA en protoporphyrine IX, qui est sa forme photosensibilisante active Au microscope, la fluorescence dans l'épiderme et les follicules pileux était bien moindre dans les tissus exposés aux inhibiteurs que dans les tissus de contrôle exposés uniquement à la solution amplifiante, ce qui signifie que les inhibiteurs de glycolyse se sont bien répartis dans l'épaisseur cutanée.

- Tumeurs cutanées in vivo

Les auteurs ont voulu démontrer l'efficacité de la PDT associée ou non à des inhibiteurs de la glycolyse in vivo, sur des sarcoïdes occultes, verruqueux, nodulaires ou fibroblastiques de moins de 5mm d'épaisseur et 110mm de long.

L'étude a inclus 54 chevaux répartis en quatre groupes :

- Groupe 1 : Traitement par ALA uniquement

L'ALA, concentrée à 256 mg/mL dans la solution amplificatrice, a été appliqué à l'aide d'un coton tige sur la surface du sarcoïde et 5mm autour, toutes les 30 minutes pendant trois heures soit six applications au total, avant une exposition à une lumière rouge de 630nm à une dose totale de 37J/cm2, pendant huit minutes en moyenne. Les sources lumineuses utilisées étaient la lampe Lumacare (lumière filtrée associée à dispositif optique) à une intensité de 70 mW/cm2 ou Aktilite (lampe à LED) à une intensité de 77 mW/cm2.

- Groupe 2 : Traitement par ALA et 2DG

Juste après la photothérapie, du 2DG concentré à 30mg/mL dans la solution amplificatrice (183 mM) est appliqué à l'aide d'un coton tige toutes les 30 minutes pendant deux heures puis toutes les deux heures pendant 10 heures soit 10 applications au total.

- Groupe 3 : Traitement par ALA et ionidamine

Juste après la photothérapie, de l'iodinamide concentrée à 192ug/mL dans la solution amplificatrice (600 uM) est appliqué à l'aide d'un coton tige toutes les 30 minutes pendant deux heures puis toutes les deux heures pendant 10 heures soit 10 applications au total.

- Groupe 4 : Traitement par MAL (crème Metvix)

Dans une étude parallèle, l'agent photosensibilisant est l'aminolévulinate de méthyle sous forme de crème appliquée en fine couche pendant trois heures avant illumination. Le traitement s'est effectué en deux séances espacées de six à 10 jours.

Tous ces traitements ont été bien tolérés par les patients, avec peu d'effets secondaires. Seuls un érythème et un œdème transitoires ont été décrits.

L'efficacité thérapeutique a été évaluée un mois après le traitement selon le classement RECIST : succès du traitement en cas de réponse complète (disparition de la tumeur) ou partielle (diminution de 30% de la taille initiale), échec du traitement si lésion stable ou en progression (augmentation de 20% de la taille initiale).

L'analyse statistique a montré que l'utilisation seule d'ALA n'entraine pas de variation significative de volume un mois après le traitement, avec un échec thérapeutique dans 6/7 cas (stabilisation pour quatre tumeurs, progression pour deux autres). L'utilisation d'ALA suivi de 2DG ne montre pas de différence significative ($p = 0.0573$) avec la PDT seule en terme de classification RECIST selon le Test de Fisher exact, mais elle permet une réduction significative du volume tumoral (66.0 +/- 12.9%) avec l'analyse de Wilcoxon.

Les meilleurs résultats sont obtenus lors d'utilisation d'ALA suivi de ionidamine avec 93% (25/27) de succès thérapeutique (réponse totale pour 17 tumeurs et partielle pour huit tumeurs) et une réduction de 80.6+/-6.8% du volume tumoral, ou de Metvix avec 100% de réponse totale (4/7) ou partielle (3/7) et une réduction de 99.0 +/- 0.5% du volume tumorale. Ces deux méthodes sont équivalentes selon le Test de Fisher exact, et bien supérieures à l'utilisation d'ALA seule en termes de réduction tumorale avec l'analyse de Wilcoxon.

Ainsi, cette étude confirme que si la photothérapie dynamique seule est limitée, elle peut atteindre des taux de succès thérapeutiques très importants lorsque bien maitrisée et potentialisée. Elle prouve en effet qu'il existe des molécules capables de faciliter la pénétration en profondeur des agents sensibilisants, et d'augmenter leur potentiel cytotoxique. C'est le cas ici de l'utilisation combinée d'ionidamine, un inhibiteur de la glycolyse qui favorise l'accumulation de radicaux libres dans la cellule.

Par ailleurs, les études in vitro ont montré des signes de sensibilisation à la photothérapie lors de séances successives. Cela pourrait être utilisé dans le futur. Une investigation est en cours à l'Université de Cambridge.

Annexe n°14 : Analyse d'article

Carbon dioxide laser surgery with adjunctive photodynamic therapy as a treatment for equine peri-ocular sarcoid : Outcome and complications in 21 patients (BEVA congress 2012)

Cette étude rétrospective a été conduite sur 21 équidés (chevaux et poneys) présentés entre avril 2009 et décembre 2011 pour la prise en charge de sarcoïdes péri-oculaires. Après une exérèse partielle ou subtotale via une chirurgie laser au dioxyde de carbone, des séances de photothérapie adjuvante à base de MAL sont réalisées sur chacun des patients de cette étude.

La première séance de photothérapie dynamique se fait le même jour que la prise en charge chirurgicale initiale. Les modalités exactes du traitement ne sont pas précisées : aucune information sur le mode d'administration de l'agent photosensibilisant, le temps d'illumination et la dose totale reçue n'est décrite. On sait en revanche que la source lumineuse utilisée est une lampe Aktilite ®, composée d'un panneau rigide de LEDs délivrant une lumière rouge centrée sur 630 nm. Des AINS (suxibuzone) et antibiotiques (sulfamides) sont prescrits sur de courtes durées par voie orale pour le retour à domicile.

Une seconde séance est réalisée la semaine suivante, sous sédation sur cheval debout.

Le succès thérapeutique est évalué comme une absence de récidive de la sarcoïde un an après la fin du traitement. Ces informations ont pu être obtenues via évaluation clinique ou nouvelles téléphoniques chez 16 sujets. Parmi eux, 15 équidés (93%) n'ont pas eu de récidive de leur tumeur un an après la prise en charge.

Quelques rares effets secondaires ont été décrits : 5 chevaux ont présenté un œdème péri-oculaire transitoire modéré à sévère et un cas de kératite a été relevé.

Cette étude supporte vivement l'intérêt de la photothérapie dynamique dans le traitement des sarcoïdes équines : notamment par le faible cout, le haut taux de rémission mais aussi des effets secondaires minimes. Il manque néanmoins de nombreuses données dans les textes retrouvés en ligne notamment sur le déroulement même de la séance. Enfin, les résultats sont obtenus sur un laps de temps relativement court. On souhaiterait pour plus de pertinence un taux de rémission sur du plus long terme comme pour les autres études pionnières citées dans ce papier.

Annexe n°15 : Analyse d'article

Evaluation of excision, cryosurgery and local BCG vaccination for the treatment of equine sarcoids (Martens et al. 2001)

Cette étude rétrospective s'est intéressée à l'efficacité comparée de l'exérèse chirurgicale large avec la cryothérapie et la vaccination locale antituberculeuse dans la prise en charge de sarcoïdes. Elle a inclus 95 chevaux référés à la Faculté de Médecine Vétérinaire de Gand entre 1995 et 1999 pour le traitement de masses cutanées compatibles avec des sarcoïdes.

A la clinique, le diagnostic était confirmé selon l'aspect clinique ou par analyse histologique. La plupart des biopsies réalisées ont également été envoyées en laboratoire pour une recherche d'ADN viral (papillomavirus bovin). Au total, 69 tumeurs sur 77 analysées sont revenues en faveur de sarcoïdes, et les huit autres étaient porteuses d'ADN viral.

Après traitement, des nouvelles ont été obtenues par contact téléphonique avec le propriétaire ou le vétérinaire traitant, ou par une nouvelle consultation. La période de suivi s'est étendue de six mois à cinq ans après la prise en charge, avec une médiane de 14 mois. Quatre cas ont été perdus de vue. Le succès thérapeutique était considéré comme une régression complète de la tumeur lors des différentes réévaluations.

Les modalités de traitement ont été sélectionnées selon la taille, la localisation et l'aspect tumoral :

- Exérèse chirurgicale au scalpel ou laser CO2

Cette méthode a été privilégiée pour les tumeurs accessibles, de localisation permissive pour réaliser une exérèse large et se situer en marges saines.

L'exérèse s'est réalisée arbitrairement soit au scalpel et bistouri électrique (25 chevaux, 67 sarcoïdes) soit au laser CO2 (28 chevaux, 81 sarcoïdes) en incluant des marges de 8 à 16mm de large et de profondeur. Certaines plaies ont pu être refermées par première intention, en changeant l'ensemble du matériel stérile pour éviter la dissémination de cellules tumorales. Les chevaux ont reçu des antibiotiques (pénicilline) et anti-inflammatoires (flunixine) les trois à cinq jours suivants l'opération.

Une régression complète a été obtenue dans 82% des cas (47/57 tumeurs) lors d'exérèse classique et 89% des cas (72/81) lors d'exérèse au laser, soit une réussite de 71% à l'échelle des patients (20/28 chevaux). On suspecte que ces résultats particulièrement élevés par rapport aux études précédentes sont liés à la sélection stricte des tumeurs, des précautions pour éviter la dissémination de cellules tumorales ainsi que des marges chirurgicales relativement importantes.

On remarque qu'une récurrence tumorale a été observée plus fréquemment pour les tumeurs de grande taille ou déjà exposées à d'autres traitements dans le passé.

- Chirurgie cytoréductive et cryothérapie

Les tumeurs sur lesquelles l'exérèse large n'a pas pu être envisagée ont été traitées par cryothérapie, exceptées les masses péri-oculaires ou situées proches de structures anatomiques fragiles comme les articulations ou le passage de nerfs. Les sarcoïdes traitées par cryothérapie été significativement plus larges que pour les autres traitements (Test du chi-carré $p<0.01$) et un pourcentage plus important de tumeurs ont été préalablement exposées à d'autres traitement ($p<0.001$).

Pour les lésions de grande taille, une chirurgie cytoréductive a été réalisée au préalable avant d'exposer les tissus sous-jacents à deux cycles de congélation grâce à un dispositif permettant un contact continu avec des liquides cryogéniques. De nombreux thermocouples ont été placées à 4mm de profondeur au centre et à la périphérie des tissus traités afin de contrôler que la température ait atteint -30°C à l'issue de la congélation et 20°C après décongélation.

On a observé une régression tumorale complète pour 14/18 tumeurs soit une réussite de 78%, et aucune complication / effets secondaires notable n'a été relevée à l'issue du traitement, excepté un blanchiment permanent des poils chez cinq patients, ce probablement grâce au contrôle précis de la température via les thermocouples.

- Immunothérapie avec le vaccin bilié de Calmette et Guérin

Toutes les tumeurs péri-oculaires ont été traitées par cette stratégie anti-cancéreuse ainsi que celles non éligibles à la chirurgie ou cryothérapie. Elle a consisté en l'injection de vaccin vivant au sein des tissus tumoraux, en moyenne 3.9 fois à 15-20 jours d'intervalle. Cela a permis un succès thérapeutique pour 11/14 tumeurs (70%).

Dans l'ensemble, les résultats de cette étude sont plutôt satisfaisants avec une résolution observée de l'ordre de 80% soit une quatre tumeurs sur cinq après exérèse chirurgicale ou cryothérapie.

Annexe n°16 : Analyse d'article

Management of equine sarcoids: 1975–93(McConaghy et al. 1994)

Cette étude rétrospective s'est intéressée à l'efficacité comparée de l'exérèse chirurgicale large avec la cryothérapie et la vaccination locale antituberculeuse dans la prise en charge de sarcoïdes. Elle a inclus 63 chevaux présentés au centre vétérinaire rural de Camden en Australie entre 1975 et 1993 pour le traitement de sarcoïdes diagnostiquées à l'analyse histologique.

Après traitement, des nouvelles ont été obtenues par contact téléphonique sur une période de suivi de six mois à 10 ans après la prise en charge. Le succès thérapeutique était considéré comme une absence de récurrence tumorale lors des différentes réévaluations.

- Exérèse chirurgicale classique : 18 sarcoïdes

Elle s'est réalisée sous anesthésie générale, avec un retrait en bloc de la masse comprenant des marges de 0.5 à 1cm. La plaie était refermée si possible, ou cautérisée pour une cicatrisation de seconde intention.

Des récurrences très fréquentes ont été observées, avec un taux de non-récurrence de 28% seulement soit 5/18 sarcoïdes.

- Chirurgie cytoréductive et cryothérapie : 31 sarcoïdes en première intention + six sarcoïdes supplémentaires après échec des traitements initiaux

Précédée d'une chirurgie cytoréductive sous anesthésie générale, la cryothérapie s'est réalisée à l'aide d'un pistolet vaporisateur d'azote liquide en protégeant les tissus adjacents (dont la cornée en cas de traitement péri-oculaire). Les lésions étaient exposées à trois cycles successifs de congélation / décongélation, avec une température de -20°C atteinte au sein du volume tumoral (monitoring par thermocouples). Plusieurs sessions ont été nécessaires chez certains chevaux.

Lorsqu'il s'agissait d'un traitement de première intention, un succès thérapeutique a été obtenu pour 13/31 sarcoïdes soit un taux de non-récurrence de 42%. Elle a cependant permis une guérison pour 5/6 tumeurs en seconde intention.

Peu de séquelles ont été rapportées, exceptée une arthrite septique du tarse chez un des patients suite à la cryothérapie menant à une décision d'euthanasie.

- Chirurgie cytoréductive et immunothérapie avec des vaccins dérivés du vaccin bilié de Calmette et Guérin : 16 sarcoïdes en première intention + six sarcoïdes supplémentaires après échec des traitements initiaux

Elle a consisté en l'injection d'un vaccin atténué ou d'une préparation de paroi cellulaire dans les tissus restants après chirurgie cytoréductive, le tout sous anesthésie générale, jusqu'à quatre fois. Cela a permis une résolution des lésions pour 13/16 tumeurs (81%) en première intention, avec un échec chez 4/5 tumeurs en seconde intention.

Les résultats de cette étude montrent un grand nombre d'échec lors d'exérèse chirurgicale seule et de cryothérapie dans le traitement de sarcoïdes, reflétant les limites de ces traitements.

Elle insiste sur la nécessité de réaliser un suivi précis de la température ainsi que des examens rapprochés après le traitement, afin de réaliser de nouvelles sessions si nécessaire.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LE FONCTIONNEMENT ET L'EFFICACITE DES THERAPIES LOCALES NON CHIRURGICALES DES PRINCIPALES TUMEURS CUTANEES DES EQUIDES

Auteur

FRASSETO Chloé

Résumé

Les tumeurs cutanées chez les équidés, comme les sarcoïdes ou les carcinomes épidermoïdes, sont courantes et peuvent entraîner un inconfort significatif, affectant la qualité de vie de l'animal. De nombreuses stratégies anticancéreuses, souvent inspirées de la médecine humaine, existent mais sont peu documentées en médecine vétérinaire équine. Cette thèse se penche sur les modes d'action des thérapies cytotoxiques locales et leurs preuves d'efficacité issues de la littérature récente, afin de réaliser des décisions thérapeutiques éclairées.
L'exérèse chirurgicale reste le traitement de choix pour les tumeurs solides, mais de meilleurs résultats sont obtenus en association avec des thérapies adjuvantes. Les méthodes cytotoxiques reposent essentiellement sur la perturbation du cycle cellulaire et l'induction d'un stress oxydatif, menant la cellule à se détruire par apoptose ou nécrose. Un diagnostic précoce et un traitement de première ligne efficace sont essentiels pour maximiser les chances de succès thérapeutique.
Parmi les traitements, l'électrochimiothérapie **(92-100%),** et la brachythérapie **(63-100%)** offrent les meilleurs **taux de rémission** sur le long terme, suivis de la chimiothérapie intra-lésionnelle aux sels de platine **(87-93%)** et de la plésiothérapie **(83-87%).** La photothérapie dynamique, bien qu'encourageante **(14-100%),** souffre d'un coût élevé et d'un manque de protocoles standardisés. La cryothérapie, bien que simple et peu coûteuse, présente des résultats moins durables avec des récidives fréquentes **(22-78%).** Finalement, la décision thérapeutique doit tenir compte de la nature de la tumeur, des options disponibles, des coûts et des préférences du propriétaire.

Mots-clés

Tumeur, Peau, Sarcoïde, Carcinome, Oncologie, Chimiothérapie, Radiothérapie, Cryothérapie

Jury

Président du jury	:	**Professeur BERNY Philippe**
Directeur de thèse	:	**Professeure PONCE Frédérique**
2ème assesseur	:	**Professeur CADORE Jean-Luc**
Membre invité	:	**Docteure BARRETT Laura**