

40447

6608-2005-136



ANNEE 2005 THESE : 2005 – TOU 3 – 4136

LES LÉSIONS DU COMPLEXE FIBROSARCOME FÉLIN : ÉTUDE HISTOPATHOLOGIQUE ET IMMUNOHISTOCHIMIQUE

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLÔME D'ÉTAT

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

par

Marie-Odile, Estelle, Gaby SEMIN
Née, le 16 avril 1973 à LES-PAVILLONS-SOUS-BOIS (Seine-St-Denis)

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur Maxence DELVERDIER

JURY

PRESIDENT :
M. Claude CARATERO

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :
M. Maxence DELVERDIER
Mme Isabelle RAYMOND-LETRON

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Les lésions du complexe fibrosarcome
félin : étude histopathologique et
immunohistochimique
6608-2005-136



1

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

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

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

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

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

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

PROFESSEURS 2^e CLASSE

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

PROFESSEUR ASSOCIE

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

INGENIEUR DE RECHERCHES

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

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

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

MAÎTRE DE CONFERENCES HORS CLASSE

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

MAÎTRE DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

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

MAÎTRE DE CONFERENCES CONTRACTUELS

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

MAÎTRE DE CONFERENCES ASSOCIE

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

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

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

À NOTRE PRESIDENT DU JURY

Monsieur le Professeur CARATERO

Professeur des Universités

Histologie, Anatomie Pathologique

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse

À NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur DELVERDIER

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Histologie, Anatomie Pathologique

Qui nous a proposé le sujet de cette thèse et nous a guidée dans sa réalisation

Madame le Docteur RAYMOND-LETRON

Maître de conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Histologie, Anatomie Pathologique

Qui nous a fait l'honneur de faire partie de notre jury de thèse et pour son aide technique, particulièrement pour la réalisation des photographies

Hommage respectueux

À Madame FRECHOU-AMARDEILH et à Madame Céline BLEUART

Du laboratoire d'Anatomie Pathologique de l'Ecole Nationale Vétérinaire de
Toulouse

Sans lesquelles la technique immunohistochimique des prélèvements aurait
été laborieuse

Profonde gratitude

A Madame BOURGES-ABELLA

Maître de conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Histologie, Anatomie Pathologique

Pour ses trucs et astuces sur Word

Sincères remerciements

À Mesdames les Docteurs POUJADE et DEGORCE-RUBIALES

Du laboratoire d'Anatomie Pathologique Vétérinaire du Sud – Ouest

Qui ont mis à notre disposition les prélèvements utilisés dans cette étude

Sincères remerciements

Merci à :

- tous les compagnons avec ou sans pattes, premiers camarades de jeu, ayant suscité une vocation à ce jour intacte ;

Merci spécial à :

- toutes les personnes du service d'ana-path de l'ENVT (1998-2002), j'ai plus appris de vous que des livres plein d'étranges lésions, et c'est sans regrets que je suis peut-être aujourd'hui meilleure humaine que pathologiste ;
- Catherine Trumel, pour m'avoir transmis son goût de la cytologie, développé mon intérêt pour la cancérologie et pour ses qualités humaines ;
- Sandrine, amie d'enfance et modèle de courage dans sa lutte quotidienne contre la maladie ;
- Mes autres amis, d'ici et d'ailleurs, de quelques jours ou de presque une vie, une grande seconde famille, vous faites de ce monde un endroit où il fait bon vivre ;
- Mayli, ma filleule de cœur ;

Merci très spécial à :

- Cendy, pour m'avoir aidé à pousser la porte du jardin des délices,
- Mes parents, dont l'amour et la générosité m'ont portée malgré les doutes et certaines incompréhensions suscitées par les vicissitudes de la vie,
- Catherine, amie fidèle de tous les instants, il faudrait une encyclopédie 24 volumes rien que pour toi, mais vu le temps dont j'ai besoin pour rédiger une thèse...je vais demander plusieurs vies !
- Roland et Anne, petit frère et petite sœur, je vous aime plus que je ne sais le dire,
- Solenn, ma belle étoile que j'espère bien ne pas voire filer...

TABLE DES MATIERES

Table des matières	p 5
1. INTRODUCTION	p 7
2. MATERIEL ET METHODES	p 9
2.1 Collection des échantillons	p 9
2.2 Examen histologique	p 10
2.3 Examen immunohistochimique	p 11
2.3.1 Choix des anticorps	p 11
2.3.2 Techniques immunohistochimiques	p 12
2.3.3 Examen immunohistochimique	p 13
2.4 Statistiques	p 14
3. RESULTATS	p 16
3.1 Lésions non tumorales	p 16
3.2 Lésions tumorales et lésions associées	p 17
3.3 Types tumoraux	p 17
3.3.1 Fibrosarcomes	p 17
3.3.2 Neurofibrosarcomes (schwannomes)	p 18
3.3.3 Léiomyosarcomes	p 20
3.3.4 Liposarcomes	p 20
3.3.5 Sarcomes histiocytaires	p 21
3.3.6 Proliférations lymphoïdes	p 22

4. DISCUSSION	p 24
4.1 Variété des lésions	p 24
4.2 Apport de l'immunohistochimie	p 26
4.3 Perspectives	p 28
5. CONCLUSION	p 30
Bibliographie	p 31
Annexes	p 37
Tableau 1 : Détail des marqueurs immunohistochimiques utilisés	p 37
Figures 1 à 6	p 38
Figures 7 à 12	p 39
Figures 13 à 18	p 40
Figures 19 à 24	p 41
Figures 25 à 28	p 42

1. INTRODUCTION

Les sarcomes sont des tumeurs d'origine mésenchymateuse. Les fibrosarcomes sont des tumeurs malignes issues des fibroblastes. Suivant les études, ce type tumoral compte pour un quart à un tiers des tumeurs cutanées et sous-cutanées chez le chat. Auparavant, on décrivait essentiellement deux formes cliniques de fibrosarcomes dans cette espèce : une forme localisée chez des chats âgés (moyenne d'âge de 11 à 12 ans)^{7, 13}, non associée au virus du sarcome félin (FeSV), et une forme multicentrique chez des chats plus jeunes (habituellement moins de 5 ans), associée au FeSV.

Depuis les années 1990, on décrit des fibrosarcomes développés sur des sites de vaccination (travaux de Hendrick et coll. en 1991, suivis par d'autres). Leur incidence est estimée à 1 ou 2/1000 vaccinations, le sexe, la race et le statut immunitaire (pour le virus leucémogène félin et le virus d'immunodéficience féline) ne semblant pas jouer de rôle dans l'apparition de ces lésions^{13, 40, 41}. Leur fréquence et leur agressivité locale (forte tendance à l'infiltration des tissus environnants, taux très élevé de récives) en ont fait un sujet de préoccupation important des vétérinaires, au point que certains avaient remis en cause l'intérêt de la vaccination dans l'espèce féline¹². Il est aujourd'hui admis que le bénéfice d'une vaccination raisonnée est supérieur au risque de développer un fibrosarcome, à l'échelle de la population féline, bien que les praticiens soient confrontés quotidiennement à des sarcomes félines.

Ces sarcomes sont le plus souvent des fibrosarcomes, mais d'autres types tumoraux ont été identifiés : sarcomes d'origine musculaire, fibrohistiocytomes malins, sarcomes squelettogènes ou sarcomes anaplasiques en tête^{16,18,30}. Ils ont par ailleurs été détectés sur des sites ne correspondant pas à des sites vaccinaux, mais souvent siège d'un traumatisme préalable identifiable (injection autre que vaccinale, morsure, pénétration d'un corps étranger...). Le vocable de sarcomes post-traumatiques tend donc aujourd'hui à remplacer celui de sarcomes post-vaccinaux ou de fibrosarcome félin. Pour notre étude, nous avons retenu le terme de lésions appartenant au complexe fibrosarcome félin (CFF), qui peut être critiqué mais qui reflète la diversité de ces lésions et leur quasi-spécificité à l'espèce féline (même si des cas sporadiques ont été décrits dans d'autres espèces, chez le furet notamment).

De nombreuses études de différentes natures ont été menées sur ces sarcomes : cliniques, microscopiques (histologie conventionnelle, immunohistochimie et microscopie électronique), cytogénétiques. Plusieurs d'entre elles ont permis d'affirmer la contribution d'une réaction inflammatoire chronique et des processus de cicatrisation, possiblement stimulés dans nombre de cas par un composant vaccinal, à la tumorigénèse. La transformation néoplasique est toutefois supposée multifactorielle et surviendrait chez des chats prédisposés.

Malgré l'établissement d'un grading histologique par certains auteurs¹⁰, aucune corrélation avec un pronostic n'a été établie à ce jour. Une telle corrélation sera sans doute difficile à établir, car si certains sites de prédilection sont reconnus (région interscapulaire, flancs, i.e. sites fréquemment utilisés pour réaliser des injections), la durée d'évolution lors de la détection et les traitements entrepris sont très variables et rendent compliquée toute comparaison. Cependant, si des études comparatives à visée pronostique devaient être mises en oeuvre, il serait indispensable de pouvoir établir un diagnostic précis des lésions du CFF. La confrontation des données cliniques, de l'anamnèse, du diagnostic et de l'évolution avec ou sans traitement, permettrait éventuellement de dégager des classes pronostiques et d'établir en retour les critères diagnostiques pertinents à prendre en compte pour l'établissement d'un pronostic. À l'heure actuelle, les examens complémentaires accessibles en routine pour la diagnose des lésions tissulaires en médecine vétérinaire sont l'imagerie médicale (qui n'apporte que peu d'informations sur la nature des lésions du CFF), certains dosages biochimiques (inutiles pour ces lésions) et l'histologie (microscopie optique) utilement complétée par l'immunohistochimie. C'est pourquoi nous nous sommes attachés à l'étude histologique et immunohistochimique de 300 masses, suspectées cliniquement d'appartenir au CFF. Les différentes lésions sont décrites avec une précision reproductible dans les conditions habituelles du diagnostic histologique, et le diagnostic est complété le cas échéant par des marquages immunohistochimiques. Cette description, probablement non exhaustive mais mettant déjà en relief la diversité des lésions appartenant au CFF, nous a conduit à prendre en compte différents critères pour l'établissement d'une classification histologique de ces lésions. Cette classification pourrait servir de base de référence permettant d'homogénéiser les résultats pour d'éventuelles futures études pronostiques.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1 Collection des échantillons

Les prélèvements étudiés concernent tous des néoformations cutanées ou sous-cutanées dont l'exérèse a été pratiquée par des vétérinaires praticiens dans le cadre de leur exercice professionnel au cours de l'année 2001. Ces prélèvements ont été envoyés au laboratoire d'Anatomie Pathologique Vétérinaire du Sud-Ouest (129, route de Blagnac 31201 Toulouse cedex 2, France) pour analyse histologique, une suspicion de lésion du complexe fibrosarcome félin étant émise par le praticien. Chacun des échantillons a été plongé après exérèse chirurgicale dans du formol dilué à 10 % et tamponné à la neutralité, avant d'être acheminé vers le laboratoire. Une fois fixés, les prélèvements ont été traités par les techniques de laboratoire de routine et inclus en paraffine avant d'être coupés à 1-2 μm d'épaisseur et colorés à l'hémalun-éosine.

Sur près de 900 cas répondant à ces critères, 300 ont été sélectionnés pour notre étude. Les cas ont été retenus d'une part sur la base de leur qualité technique, chaque échantillon devant être d'assez grande taille pour permettre d'observer au moins en partie les tissus abritant la lésion principale et les marges d'exérèse, et d'autre part sur la nature même de la (des) lésion(s) principale(s). Sur ce dernier point, l'idée de départ était, à partir d'un nombre donné d'échantillons, non pas de donner une image précise de la proportion des différentes lésions composant le complexe fibrosarcome félin mais plutôt de donner une idée de la diversité des lésions observables au sein de ce complexe.

Une grande partie des cas ainsi retenus a été traitée en vue d'un examen immunohistochimique au Laboratoire d'Anatomie Pathologique de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (E.N.V.T., 23, chemin des Capelles, 31076 Toulouse Cedex, France), pour confirmer ou établir le diagnostic et/ou pour préciser certaines observations (marqueurs de différenciation, indice de prolifération, marqueur de l'apoptose).

2.2 Examen histologique

Un total de 300 prélèvements est examiné (la plupart faisant l'objet d'une première exérèse et certains concernant des lésions récidivantes). Les critères retenus pour établir le diagnostic histologique sont des critères simples, communément utilisés :

- Caractère inflammatoire ou tumoral : sont considérées comme tumorales des lésions comportant des plages de cellules présentant un monomorphisme et des critères cytologiques et/ou architecturaux de malignité (mode de croissance, densité cellulaire importante, anisocytose, anisocaryose, atypies nucléaires, présence de figures de mitose...), les plages prolifératives constituées de cellules d'allure fibroblastique, en nombre moins important que dans les plages tumorales, abritées dans un stroma collagénique, mais dépourvues de nettes atypies cytonucléaires sont considérées comme des lésions de fibromatose ; les plages constituées d'un stroma collagénique mais très peu ou pas cellulaires sont considérées comme des plages de fibroplasie (dans cette étude préliminaire, la distinction entre les deux types de lésions n'a pas été retenue et tous deux sont regroupés sous le terme de fibromatose, par souci de simplification, bien que des études ultérieures soient nécessaires pour juger de l'importance de faire cette distinction), les plages composées de granulocytes, de cellules de la lignée monocytes- macrophages ou de la lignée lymphoïde, bien différenciés et d'aspect mature (ou organisés en structures pseudofolliculaires) sont considérées comme inflammatoires ;
- Typage des lésions tumorales : le diagnostic des néoformations tumorales est basé sur la morphologie cellulaire (forme des cellules, caractéristiques du noyau), l'agencement des cellules (faisceaux, nappes, formations de structures spiralées ou festonnées), l'aspect du stroma venant étayer l'hypothèse fondée. Le cas échéant un marquage immunohistochimique vient conforter ou permet d'établir le diagnostic (voir les paragraphes suivants) ;
- Caractérisation des lésions inflammatoires (cellulite et/ou panniculite) : sont notées leur présence ou leur absence, l'association ou non avec des plages tumorales, le type d'infiltrat observé (lymphocytaire, granulomateux ou pyogranulomateux) et la présence ou non de plages nécrotiques associées à cet infiltrat, ainsi que la localisation des infiltrats (intra- et péri tumoraux ou à distance de la tumeur) ;

- Présence de plages de fibromatose associées aux lésions inflammatoires ou tumorales ;
- Aspect des marges des prélèvements examinés : seules des pièces d'exérèse ont été retenues pour l'examen histologique, les biopsies ne permettant pas une appréciation précise du tableau lésionnel d'ensemble. Les marges disponibles sont classées comme étant saines ou passant en zone lésionnelle (inflammatoire, fibromateuse ou tumorale).

2.3 Examen immunohistochimique

2.3.1 Choix des anticorps

Tous les anticorps utilisés sont récapitulés dans le tableau 1 (page 37). Tous les anticorps choisis sont opérationnels sur coupes en paraffine. Sur la base de la diversité des lésions observées, nous avons choisi des anticorps permettant : un marquage de l'actine musculaire, de la protéine S100, de la Protéine Fibrillaire Gliale Acide (GFAP), des cellules épithéliales, de la lignée monocytes- macrophages ; un phénotypage des lymphocytes selon leur appartenance au groupe des lymphocytes T (LT) ou des lymphocytes B (LB) ; un marquage des cellules du système mélanogène, des cellules en prolifération et de la protéine p53 mutée :

- Actine : anticorps monoclonal dirigé contre les isotypes α et γ de l'actine musculaire squelettique, cardiaque et lisse ;
- S100 : anticorps polyclonal dirigé contre la protéine S100 A et B bovine ;
- GFAP : anticorps monoclonal dirigé contre la Protéine Fibrillaire Gliale Acide ;
- Cytokératines : anticorps monoclonal réagissant avec les cytokératines de type 5, 6, 8, 17 et probablement 19, présentes dans de nombreux tissus épithéliaux.
- CD68 : anticorps monoclonal dirigé contre l'antigène CD68, épitope intracytoplasmique lié aux lysosomes ;
- CD3 : anticorps polyclonal dirigé contre la portion intra-cytoplasmique de l'antigène CD3 humain exprimé par les LT ;
- CD79 : anticorps monoclonal dirigé contre la portion intra-cytoplasmique C-terminale de la protéine mb-1 humaine exprimée par les LB ;

- BLA36 : anticorps monoclonal dirigé contre la portion intra-cytoplasmique de la protéine BLA36 humaine exprimée par les LB ;
- Melan A : anticorps dirigé contre l'antigène Melan A/MART-1, protéine transmembranaire exprimée dans la majorité des mélanomes humains et canins dans les mélanocytes ;
- Ki-67 : anticorps monoclonal dirigé contre l'épitope Ki-67, protéine intranucléaire exprimée pendant les phases actives du cycle cellulaire;
- p53 : anticorps polyclonal dirigé contre un épitope de la protéine p53 mutée, présent dans certains tissus tumoraux.

Tous les anticorps sont répertoriés par leur fournisseur comme produisant une réactivité croisée chez le chat sur des coupes en paraffine et/ou ont été l'objet d'essais préliminaires à l'ENVT dans le but d'obtenir le meilleur marquage compatible avec une détérioration minimale des tissus.

2.3.2 Techniques immunohistochimiques

Les procédures utilisées en immunohistochimie sont les suivantes : déparaffinage des lames blanches par un passage de 12 heures à l'étuve (56°C), passages dans 4 bains de toluène d'une durée de 5 minutes chacun, puis dans 2 bains d'acétone de 5 minutes chacun, avant rinçage à l'eau courante. Les lames traitées par les anticorps dirigés contre la GFAP, le BLA36, le CD3, le Ki67, les cytokératines et la p53 sont prétraitées avec une solution de trypsine diluée à 0,1 % dans du tampon phosphate salé (PBS) et étuvées dans ce milieu pendant 6 minutes à 37°C. Après rinçage, les lames sont passées au four micro-ondes à la puissance de 700W pendant 20 minutes dans du tampon citrate 10mM, pH 6-6,5. Les lames traitées avec les anticorps dirigés contre le CD79, le CD68 et le Melan A subissent un passage au four micro-ondes pendant 20 minutes dans un tampon EDTA 0,001 molaire, pH8. Les lames traitées avec l'anticorps dirigé contre la protéine S100 sont prétraitées avec une solution de trypsine diluée à 0,1% dans du PBS et étuvées dans ce milieu pendant 30 minutes à 37°C. Les lames traitées par l'anticorps dirigé contre l'actine ne subissent aucun prétraitement.

Toutes les lames sont ensuite incubées dans une solution de méthanol à 3 % de peroxyde d'hydrogène, à température ambiante, pendant 15 minutes, puis rincées

dans plusieurs bains de PBS lacté. La fixation non spécifique des anticorps est bloquée par une incubation, à température ambiante, dans du sérum normal de chèvre dilué au dixième, pendant 20 minutes.

Les lames sont ensuite incubées de façon séquentielle avec leur anticorps primaire (à la dilution indiquée dans le tableau 1 en annexe) à température ambiante, en chambre inox, pendant 60 minutes, puis rincées avec du PBS lacté additionné de tween 20 (4 bains de 5 minutes chacun). L'anticorps secondaire utilisé est un kit DAKO chèvre anti-souris et anti-lapin dans lequel les lames sont incubées pendant 35 minutes à température ambiante en chambre inox, avant d'être incubées dans les mêmes conditions dans un complexe streptavidine-biotine-peroxydase (kit DAKO K0492) dilué au 1/100 et rincées dans du PBS lacté additionné de tween 20.

La révélation est effectuée par addition du chromogène 3,3'-diaminobenzidine tetrachloride (DAB, réf. D-4293, Sigma-Aldrich, France). La DAB est diluée à 0,05 % et additionnée de peroxyde d'hydrogène à 0,01 %. L'incubation dans ce substrat est également effectuée à température ambiante pendant 10 minutes et est suivie d'un rinçage à l'eau courante.

Les lames sont enfin contre-colorées à l'hématoxyline de Harris (réf. 1.09253.0500, Merck, France), rincées à l'eau courante, puis déshydratées avant d'être montées à l'aide d'un baume synthétique suivant les procédures usuelles.

Les témoins négatifs sont obtenus d'une part en omettant l'anticorps primaire et d'autre part, à partir de coupes tissulaires traitées avec un anticorps de même isotype pour les anticorps monoclonaux ou avec un sérum normal de l'espèce ayant servi à produire l'anticorps pour les anticorps polyclonaux. Les témoins positifs sont des témoins intrinsèques (muscles lisses vasculaires et muscles arrecteurs pour l'actine, structures nerveuses cutanées pour la S100 et la GFAP, mélanocytes intra-épidermiques pour le Melan A, noyaux des cellules des couches basales épidermiques et des gaines folliculaires pour le Ki-67) ou extrinsèques (nœud lymphatique réactionnel pour le CD3, le CD79, le BLA36 et le CD68 ; prélèvement cutané atteint de kératose actinique pour la p53).

2.3.3 Examen immunohistochimique

La positivité des cellules est jugée suivant les critères de marquage propres à chaque anticorps en usage au laboratoire d'anatomie pathologique de l'ENVT :

cytoplasmique et homogène pour l'actine, la S100, la GFAP, le CD68 et les cytokératines ; cytoplasmique et granuleux pour le Melan A ; cytoplasmique et membranaire, homogène, pour le CD79 et le BLA36, membranaire pour le CD3 ; nucléaire, y compris nucléolaire pour le Ki-67 ; nucléaire à l'exception des nucléoles, homogène, pour la p53. Pour tous les marqueurs, sauf le Ki-67 et la p53, l'appréciation de l'intensité de marquage est semi-quantitative (absente, minime, légère, modérée, marquée). Pour le Ki-67 et la p53, l'intensité est exprimée en pourcentage de cellules marquées dans la population étudiée. Cette intensité n'est pas observée globalement, mais par plages (l'intensité pouvant nettement varier au sein d'un prélèvement, en particulier entre les plages tumorales et les plages non tumorales). L'intensité d'expression et la répartition des différents marqueurs utilisés au sein des différentes populations cellulaires observées ont donné lieu à une synthèse venant confirmer ou affiner le diagnostic posé à l'examen histologique conventionnel.

A l'issue de l'ensemble de ces examens, un diagnostic de la lésion principale a été établi pour chacun des prélèvements. Par ailleurs, un relevé systématique des lésions (autres qu'artéfactuelles) accompagnant la lésion principale a été effectué. Pour les cas concernés, les informations complémentaires apportées par l'immunohistochimie ont été notées.

2.4 Statistiques

Aucune exploitation statistique n'est entreprise à partir des résultats observés. En effet, l'importance accordée à la qualité technique des prélèvements nous a conduit à éliminer un certain nombre de prélèvements, sur la base de ce critère, sans tenir compte de l'influence que ce choix pouvait occasionner sur la répartition numérique des différents types de lésions examinées. Par ailleurs, nous tenons à rendre compte de toute la diversité lésionnelle rencontrée et n'affectons pas de coefficient de pondération à chaque catégorie de lésions, en fonction de sa fréquence initiale dans l'ensemble de la population féline ayant fait l'objet d'une analyse histologique au LAPVSO au cours de l'année 2001 (de façon à conserver des résultats exprimés en nombres entiers).

Conscients des biais que ces choix introduiraient pour une exploitation statistique, nous préférons nous limiter à une étude descriptive la plus complète possible, rendant compte de la diversité lésionnelle rencontrée, en vue de proposer une classification personnelle, sur la base de notre échantillonnage, des lésions appartenant au Complexe Fibrosarcome Félin. Cette classification pourrait par la suite servir d'outil, complétée par un suivi clinique ou une étude rétrospective pour les chats concernés, à l'établissement d'une échelle pronostique plus précise en fonction du type exact de chaque lésion.

3. RESULTATS

300 prélèvements sont retenus, chacun d'eux correspondant à une masse cutanée ou sous-cutanée, les localisations aux muqueuses ou internes étant exclues.

Sur ces 300 cas, 259 lésions sont tumorales et 41 non tumorales.

3.1 Lésions non tumorales

Parmi les lésions non tumorales, 4 concernent des lésions de fibromatose n'étant associées à aucune autre lésion, 37 concernent des lésions de panniculite dont 13 sont associées à des lésions de fibromatose. Au sein des lésions de panniculite, seules 3 d'entre elles sont purement lymphocytiques, la plupart des lésions de panniculite lymphocytaire étant associées à d'autres lésions de panniculite. Ces dernières se répartissent en 7 panniculites granulomateuses, 9 granulomateuses et nécrosantes, 8 granulomateuses et fibrosantes, 10 granulomateuses, nécrosantes et fibrosantes. 25 de celles-ci sont accompagnées d'infiltrats lymphocytiques situés au contact des autres lésions de panniculite ou de fibromatose et 18 d'entre elles sont accompagnées d'infiltrats lymphocytiques situés à distance des autres lésions.

Les foyers de panniculite lymphocytaire se présentent sous la forme de manchons périvasculaires de taille variable, infiltrant parfois largement le tissu adipeux. Les foyers de panniculite granulomateuse sont des foyers souvent nodulaires, de forme et de taille néanmoins variables, dont le centre peut être nécrosé. Ils sont constitués de macrophages spumeux ou au cytoplasme gris-bleu granuleux, dont certains peuvent être dégénérés. Les foyers pyogranulomateux associent des granulocytes neutrophiles, parfois dégénérés, et des macrophages. Les neutrophiles sont soit mêlés aléatoirement aux macrophages, soit en position centrale, associés à une zone optiquement vide ou à un matériel nécrotique. Les zones de fibromatose sont généralement développées au contact des autres zones de panniculite, qu'elles tendent à encercler, mais forment également des ramifications infiltrant le pannicule adipeux alentour.

Pour les 4 prélèvements concernant des lésions de fibromatose, 2 possèdent des marges saines et 2 comportent des marges passant au sein de lésions de fibromatose. Pour les prélèvements concernant des lésions de panniculite, 6 possèdent des marges indemnes, tandis que 27 comportent des marges passant au sein de lésions de panniculite et 5 comportent des marges passant au sein de lésions de fibromatose. Ces cas font l'objet de marquages immunohistochimiques

complémentaires. L'anticorps dirigé contre le CD68 est fortement exprimé dans la composante granulomateuse. La protéine p53 n'est que faiblement exprimée ou pas exprimée dans les zones de fibromatose suivant les cas. En revanche l'expression de l'épitope Ki-67 dans les zones identifiées initialement comme des plages de fibromatose fait apparaître deux groupes : un groupe pour lequel l'expression de cet épitope est faible (quelques %) et un groupe pour lequel cette expression est forte (supérieure ou égale à 25 %).

3.2 Lésions tumorales et lésions associées

Les 259 tumeurs exploitées sont réparties comme suit : 180 fibrosarcomes, 21 fibrosarcomes métaplasiques ou sarcomes squelettogènes, 33 neurofibrosarcomes (schwannomes), 5 léiomyosarcomes, 5 sarcomes histiocytaires, 2 liposarcomes et 13 proliférations lymphoïdes (hyperplasies ou tumeurs). Seules 20 ne sont accompagnées d'aucune lésion annexe dans les limites des plans de recoupe examinés. 238 d'entre elles sont accompagnées de lésions annexes dans et/ou autour de la tumeur et 105 sont accompagnées de lésions à distance de la tumeur. Pour 34 prélèvements, les marges d'exérèse apparaissent saines contre 75 passant au sein de lésions de panniculite, 101 passant au sein de lésions de fibromatose et 165 passant au sein du tissu tumoral. Les lésions annexes accompagnant les tumeurs se répartissent comme suit : 9 panniculites fibrosantes, 13 panniculites nécrosantes, 81 panniculites granulomateuses, 235 panniculites/ infiltrations lymphocytiques, 147 fibromatoses.

3.3 Types tumoraux

3.3.1 Fibrosarcomes

En histologie conventionnelle, ces tumeurs se présentent généralement sous la forme de nodules sous-cutanés et / ou dermiques (dans ce cas, la portion profonde du derme est la plupart du temps impliquée), aux contours irréguliers, localement infiltrants ou très infiltrants. Le tissu tumoral est constitué de faisceaux de cellules fusiformes variablement enchevêtrés, sans disposition particulière le plus souvent, mais adoptant quelquefois un aspect chevronné. Le stroma de soutien est collagène

ou mucineux, son importance varie entre les prélèvements, voire entre les différentes plages d'un même prélèvement. Cytologiquement, lorsque les contours cytoplasmiques sont distinguables, ils apparaissent effilés à leurs extrémités, le cytoplasme étant d'une éosinophilie faible à soutenue. Le noyau est fusiforme, allongé voire globuleux, hyperchromatique à vésiculeux, peu ou fortement nucléolé (nucléoles uniques ou plusieurs nucléoles, discrets ou bien visibles). Dans les tumeurs les moins différenciées, des cellules rondes à polyédriques et des cellules géantes multinucléées sont présentes. L'index mitotique est variable, son augmentation allant en général de pair avec celle des atypies cytologiques.

Dans ce groupe, la protéine S100 n'est jamais exprimée par la population tumorale. L'actine n'est pas exprimée la plupart du temps, mais, pour certaines tumeurs, elle est soit faiblement exprimée par un grand nombre de cellules tumorales, soit assez fortement exprimée par quelques cellules tumorales d'allure fibroblastique ; ces cellules correspondent peut-être à des cellules myofibroblastiques. Dans notre étude, l'expression du CD68 est cantonnée aux cellules macrophagiques appartenant à des lésions de panniculite granulomateuse ou bordant des foyers nécrotiques, ou à des cellules dendritiques, mais elle est nulle, à l'exception d'un cas, au sein des cellules tumorales, en particulier dans les contingents de cellules géantes multinucléées tumorales. En revanche, les cellules géantes multinucléées rencontrées dans certaines plages inflammatoires expriment fortement le CD68. L'expression de la protéine p53 est très variable, rarement négative, le plus souvent faible (exprimée par quelques % des cellules tumorales), quelquefois forte. Dans les plages de fibromatose, son expression est le plus souvent faible ou nulle, mais elle peut avoisiner celle observée pour les plages nettement tumorales. L'expression du Ki67 varie de 25 % à plus de 50 % dans la population néoplasique. Elle est souvent inférieure à 5 % dans les plages identifiées en hémalun-éosine comme étant de la fibromatose, mais avoisine dans certains cas celle des plages sarcomateuses.

3.3.2 Neurofibrosarcomes (schwannomes)

Ces tumeurs se présentent également sous la forme de néoformations nodulaires ou plurinodulaires, sous-cutanées et/ ou dermiques, infiltrantes, emprisonnant occasionnellement des sections nerveuses dont l'enveloppe peut être en continuité avec la tumeur. Le tissu tumoral est composé de cellules fusiformes pouvant adopter

une disposition en faisceaux parfois ondulés, en strates festonnées, en structures storiformes ou concentriques (centrées ou non sur des structures vasculaires). La densité cellulaire est parfois plus variable qu'au sein des autres types tumoraux (alternance de plages denses avec un stroma collagène peu ou moyennement abondant et de plages peu cellulaires où ce stroma devient oedémateux ou mucineux et très abondant, correspondant aux zones Antoni A et B observées chez l'homme). Les cytoplasmes sont éosinophiles, aux contours indistincts, fusiformes quelquefois très effilés (voire polyédriques à arrondis dans les plages les moins différenciées). Les noyaux sont allongés, ovalaires ou globuleux, hyperchromatiques à vésiculeux, variablement nucléolés. L'anisocytose et l'anisocaryose sont inconstantes d'une tumeur à l'autre. Le nombre de mitoses varie également suivant les prélèvements, voire au sein d'un même prélèvement.

Dans ce groupe, le Melan A, le CD31 et les cytokératines ne sont jamais exprimés par les cellules tumorales. L'expression du CD68 est réduite aux seules cellules dendritiques et macrophagiques. Dans la plupart des cas, l'actine n'est pas exprimée, mais pour l'un des prélèvements, ce marqueur est exprimé fortement par des cellules myofibroblastiques à topographie périvasculaire et péritumorale. Pour deux prélèvements, ce marqueur est exprimé très légèrement par quelques cellules tumorales. L'expression de la S100 n'est pas équivalente pour tous les prélèvements : dans une grande proportion de cas, elle est exprimée par une majorité des cellules tumorales, avec une intensité variant de modérée à très marquée ; mais, dans quelques cas, son expression n'est intense que pour des sections nerveuses emprisonnées dans la néoformation et dont l'enveloppe est en continuité avec le tissu tumoral, l'expression dans les cellules tumorales étant faible ou réduite à quelques petits groupes de cellules. L'expression de la GFAP au sein des cellules tumorales est nulle le plus souvent ; quand elle est présente, sa répartition suit celle de la S100 et son intensité varie de faible à marquée. L'expression du Ki67 varie, au sein des plages néoplasiques, de 25 à 50 %, tandis qu'au sein des lésions de fibromatose, elle oscille entre moins de 5 % et un pourcentage avoisinant celui des plages tumorales considérées. L'expression de la protéine p53 dans les plages de fibromatose se révèle toujours inférieure à celle observée dans les plages néoplasiques.

3.3.3 Léiomyosarcomes

Ces tumeurs se présentent sous la forme de néoformations nodulaires ou plurinodulaires, cutanées ou sous-cutanées, infiltrantes, le degré d'infiltration étant très variable d'un prélèvement à l'autre. Le tissu néoplasique est composé de faisceaux de cellules fusiformes enchevêtrés, sans disposition particulière, soutenus par un stroma collagène modérément abondant. Les cellules possèdent un cytoplasme éosinophile aux contours indistincts, homogène. Le noyau, dans les plages les mieux différenciées, est allongé, à bords mousses (en forme de cigare), euchromatique ou hypochromatique, comportant souvent plusieurs petits nucléoles. L'anisocaryose et l'index mitotique varient de faibles à élevés selon les prélèvements.

Dans ce groupe, la protéine S100, le CD31 et le CD68 ne sont pas exprimés par les cellules tumorales, seules sont positives des structures tissulaires normales comme les sections nerveuses (S100), l'assise endothéliale des structures vasculaires (CD31), les cellules dendritiques et macrophagiques (CD68). L'expression de l'actine est intense dans un grand nombre de cellules tumorales pour 2 des 3 cas observés et variable pour le troisième, avec des plages d'expression intense, notamment dans un foyer d'expansion à partir d'une média artériolaire. L'expression du Ki67 est comparable à celle observée pour les précédents types.

3.3.4 Liposarcomes

Ces tumeurs sont des néoformations sous-cutanées, nodulaires mais à contour irrégulier, infiltrantes. Le tissu sarcomateux s'agence en nappes, éventuellement en faisceaux. Au sein de ces plages, les cellules possèdent un cytoplasme aux contours indistincts, éventuellement fusiforme au sein des faisceaux, éosinophile pâle, légèrement fibrillaire ou vacuolisé. Les noyaux sont ronds, ovalaires ou oblongs, euchromatiques ou hypochromatiques, la plupart du temps mononucléolés. La tumeur est parsemée de cellules isolées, rondes, à large cytoplasme spumeux ou macrovacuolaire, repoussant en périphérie un noyau volumineux, rond ou légèrement aplati, hypochromatique et nucléolé. L'anisocaryose est marquée mais l'index mitotique bas.

Pour ce type tumoral, la S100 et l'actine ne sont pas exprimées par les cellules tumorales. Le CD68 n'est exprimé que par des cellules dendritiques ou macrophagiques.

3.3.5 Sarcomes histiocytaires

Chaque tumeur se présente sous la forme d'une néoformation nodulaire irrégulière, sous-cutanée, bien délimitée. Le tissu tumoral s'agence en nappes de cellules rondes ou aux contours indistincts, occasionnellement en courts faisceaux étroits de cellules fusiformes. Le cytoplasme est éosinophile pâle, d'abondance variable, parfois spumeux. Le noyau, excentré ou non, est rond, ovalaire, occasionnellement indenté, à chromatine fine, mono- ou parfois plurinucléolé. L'anisocaryose est marquée, quelques cellules monstrueuses et de très nombreuses cellules géantes multinucléées sont présentes. L'index mitotique est variable, avec alternance de plages sans mitose et de plages avec plusieurs mitoses. Les tumeurs sont associées à des agrégats lymphoïdes (également à distance pour une des lésions). Dans deux cas, la tumeur est accompagnée de lésions de fibromatose.

Pour ce type tumoral, la protéine S100, la GFAP et l'actine ne sont jamais exprimées par les cellules tumorales. L'expression du CD3 et du CD79 est cantonnée à des cellules lymphocytiques d'aspect mature, dispersées au sein de la lésion. Le BLA36 est toujours fortement exprimé par un grand nombre de cellules tumorales voire par la quasi-totalité de ces cellules, y compris les cellules géantes multinucléées (distinguées des cellules géantes réactionnelles par leurs atypies nucléaires, leur localisation à l'écart de tout foyer nécrotique et l'intensité du marquage éventuel par le Ki-67 venant étayer la distinction entre les deux types de cellules). L'expression du CD68 est également intense au sein des cellules tumorales sauf dans un cas où son expression est modérée et restreinte à quelques groupes de cellules néoplasiques. L'indice de prolifération est toujours élevé dans les zones tumorales. Dans un cas, il l'est également dans la population lymphocytaire et dans un autre son expression est importante dans des plages de fibromatose. Le seul prélèvement marqué avec la protéine p53 révèle une forte expression tant dans les plages tumorales que dans les plages de fibromatose.

3.3.6 Proliférations lymphoïdes

- Dans le groupe des proliférations lymphoïdes, plusieurs sous-groupes se détachent :

- Trois des prélèvements intéressent des hyperplasies lymphoïdes. Il s'agit de lésions mal délimitées de nécrose, associées à une réaction lymphocytaire, sous la forme de manchons périvasculaires, certains ayant une dimension considérable. Une réaction phagocytaire macrophagique est présente, mais est grandement masquée par une hyperplasie lymphoïde multifocale, donnant parfois l'impression de ceinturer le tissu nécrotique. Cette composante lymphoïde se présente sous la forme d'une population densément cellulaire de cellules de petite dimension d'aspect mature et de cellules blastiques en nombre plus réduit. Les cellules lymphoïdes s'ordonnent autour de structures vasculaires qui paraissent parfois hyperplasiques. D'autres infiltrats lymphocytiques, périvasculaires, de dimension plus modeste sont présents au sein du tissu adipeux. Des plages de fibrose sont observées pour l'un des prélèvements. En immunohistochimie, le CD3 est exprimé par des lymphocytes formant des manchons périvasculaires ou participant à des lésions de panniculite. Le CD79 et le BLA36 marquent des lymphocytes B dans des foyers d'aspect folliculaire ou des cellules lymphocytes B panachés avec des lymphocytes T dans les lésions de panniculite. Le BLA36 est par ailleurs exprimé par les populations dendritiques et macrophagiques, tout comme le CD68. L'expression du Ki67 est plus importante dans le contingent B que dans les autres types cellulaires, pour deux des prélèvements, laissant présager d'une expansion B pré-tumorale.
- Un prélèvement concerne un lymphome T débutant dans le contexte d'une panniculite fibrosante. En histologie conventionnelle, il s'agit d'une lésion multilobulée, de panniculite nécrosante et fibrosante, comportant des agrégats lymphoïdes périvasculaires, avec, au centre de la lésion, une infiltration monomorphe de cellules rondes, de taille petite à moyenne, à fort rapport nucléocytoplasmique, à noyau dense ou hypochromatique et nucléolé. L'index mitotique est important. En immunohistochimie, l'expression du CD3 est de faible intensité mais répartie à un grand nombre de cellules blastiques. Le CD68 et le BLA36 sont exprimés par des cellules dendritiques. Le CD79 n'est

exprimé que par quelques lymphocytes matures dans le tissu péri-tumoral. L'expression du Ki67 est supérieure à 80 %.

- Un prélèvement correspond probablement un plasmocytome. En histologie conventionnelle, il se présente comme une néoformation de siège hypodermique, grossièrement nodulaire, se composant de plages confluentes de grandes cellules rondes, indépendantes. Les cellules néoplasiques possèdent en général un noyau central, parfois excentré, souvent dense mais parfois vésiculeux. Le cytoplasme est moyennement abondant et acidophile. L'index mitotique est modéré. Quelques cellules bi et trinuéclées sont présentes. Par endroits, les cellules forment des petits nids ou de fins cordons séparés par de très minces cloisons conjonctives. La tumeur est associée à un infiltrat lymphocytaire et à des lésions de fibromatose, en son sein ou à sa périphérie. Aucune expression n'est notée pour le CD3 et le BLA36. Celle du CD68 est cantonnée aux populations macrophagique et dendritique. Celle du CD79 est intense dans la population de cellules rondes, y compris celles d'aspect plasmocytoïde. L'expression du Ki67 est supérieure à 50 %.
- Tous les autres prélèvements concernent des lymphomes B. Ceux-ci se présentent sous forme de lésions nodulaires ou de nappes confluentes, infiltrant le pannicule adipeux et, parfois, le tissu musculaire adhérent. Les plages tumorales, denses, sont assez souvent remaniées par de la nécrose. Les cellules sont rondes, indépendantes, de taille moyenne à grande, à rapport nucléocytoplasmique élevé, à noyau plus ou moins dense laissant parfois apparaître un ou plusieurs nucléoles. L'anisocaryose est variable. L'index mitotique est toujours élevé. Certaines lésions tumorales sont accompagnées de lésions de panniculite lymphocytaire ou granulomateuse. Pour l'un des prélèvements, les cellules sont rondes mais totalement anaplasiques. L'expression du CD3 est alors cantonnée à des petits lymphocytes matures appartenant à la réaction stromale ou à des lésions de panniculite périphériques. L'expression du CD68 et du BLA36 est légère à modérée dans les populations dendritique et macrophagique. Celle du BLA36 et du CD79 est variable, tant dans le nombre de cellules tumorales marquées que dans l'intensité même du marquage, mais dans tous les cas, au moins l'un des deux marqueurs se trouve fortement exprimé par les cellules atypiques. Pour l'ensemble des prélèvements concernés, l'indice de prolifération est élevé (supérieur à 50 %, et jusqu'à 80 %).

4. DISCUSSION

4.1. Variété des lésions

Dans notre étude nous avons pris en compte aussi bien des lésions tumorales que des lésions de « réactions post-vaccinales » inflammatoires. Sur les 41 lésions inflammatoires, 37 sont des lésions de panniculite, 34 étant des lésions de panniculite granulomateuse. 19 des lésions granulomateuses sont associées à une zone de nécrose centrale comme cela a déjà été décrit²⁷, mais 15 d'entre elles ne le sont pas. Si la lésion principale est relativement bien circonscrite, les agrégats lymphoïdes les accompagnant, avec ou sans formation de follicules, le sont bien moins, ces agrégats se trouvant à distance de la lésion principale dans 18 cas et les marges de résection étant infiltrées par des foyers de panniculite pour 27 cas. 13 des lésions de panniculite sont associées à des lésions de fibromatose et 4 lésions sont constituées seulement de foyers de fibromatose. Certains de ces foyers expriment fortement l'épitope Ki-67 (indice de prolifération supérieur ou égal à 30 %), malgré l'absence d'atypies cytonucléaires franches permettant de les catégoriser sans équivoque comme sarcomateux à l'histologie conventionnelle. Ces foyers peuvent représenter des foyers sarcomateux « débutants », issus d'une transformation de foyers fibromateux. Cette observation serait en accord avec l'idée déjà répandue d'une transition existant entre des lésions de panniculite et des lésions sarcomateuses du Complexe Fibrosarcome Félin (CFF)²⁹. Autrement dit, les lésions de fibromatose peuvent bien constituer un stade précancéreux.

La variété des lésions tumorales rencontrées, avec une prédominance des fibrosarcomes, est tout à fait en accord avec d'autres résultats déjà publiés^{13, 16, 18, 28, 30, 39}, de même que la localisation préférentiellement sous-cutanée, la présence fréquente de zones de nécrose souvent associées à des macrophages, la prédominance des infiltrats inflammatoires lymphoïdes avec cependant présence, dans un certain nombre de cas, de foyers granulomateux^{13, 33}. Dans certains cas, des foyers de fibromatose ou des foyers sarcomateux sont observés à distance de la lésion principale, associés à des foyers inflammatoires, ce qui tendrait à renforcer l'hypothèse de l'existence d'un continuum entre les lésions inflammatoires et les lésions tumorales²⁹. Malgré tout il se pourrait que certains foyers sarcomateux ne représentent que des extensions de tumeurs particulièrement infiltrantes, l'aspect apparemment indépendant de ces foyers étant alors la conséquence du plan de recoupe choisi.

Par ailleurs, nous observons, en plus des sarcomes à cellules fusiformes, bien qu'en nombre plus réduit, d'autres types lésionnels : 3 hyperplasies lymphoïdes, 1 lymphome T et 8 B, 1 plasmocytome, 5 proliférations histiocytaires malignes, ce qui, à notre connaissance, n'a pas été publié. La présence d'agrégats lymphoïdes et / ou de foyers de fibromatose associés à ces tumeurs, comparables à ceux observés dans les sarcomes à cellules fusiformes du CFF, ou un historique d'injection en lieu et place de la tumeur, nous incitent à assimiler ces tumeurs à celles du CFF. Si nos observations venaient à être corroborées par d'autres études, la notion de CFF, restreinte actuellement aux sarcomes à cellules fusiformes, pourrait être conduite à s'élargir.

En outre, 10 des tumeurs de notre étude ne sont pas localisées à des sites habituels d'injection (oreille, jarret, face, extrémité des membres, mamelle), 3 d'entre elles n'étant accompagnées d'aucune autre lésion (tumeurs probablement spontanées), mais 7 présentant le même type de lésions que celles accompagnant les lésions du CFF. Ces observations sont en accord avec celles de certains auteurs¹² pour qui les lésions du CFF ne feraient pas seulement suite à des injections vaccinales mais potentiellement suite à tout type d'injection ou de trauma du tissu sous-cutané entraînant une inflammation chronique, chez des chats possiblement prédisposés.

Le terme de Fibrohistiocytome Malin (FHM) est appliqué à certaines tumeurs sarcomateuses ressemblant morphologiquement aux tumeurs portant ce nom en pathologie humaine. Elles associent des cellules tumorales fusiformes d'allure fibroblastique, souvent agencées en structures storiformes, à des cellules rondes ou polygonales, histiocytoïdes. Certaines de ces tumeurs renferment un nombre important de cellules géantes multinucléées. Pour autant, la nature de la ou des cellules tumorales en cause est incertaine et les profils morphologique, ultrastructural et immunohistochimique de ces tumeurs sont éminemment variables^{8, 48, 64, 76}. Chez le chat, les FHM à cellules géantes seraient les plus nombreux (Gleiser et al 1979, Confer et al 1981, Rendlund et Pritzker 1984, Allen et Duncan 1988). Dans de nombreux cas, la tumeur renferme un nombre plus ou moins important de cellules indifférenciées et la distinction entre les cellules géantes réactionnelles et tumorales n'est pas aisée, tant à l'histologie classique qu'à la microscopie électronique^{8, 48}.

Dans notre étude, 19 cas peuvent correspondre morphologiquement à des FHM à cellules géantes. Tous sont pourvus de nettes atypies nucléaires et d'un contingent important de cellules géantes. Dans un certain nombre de cas, les cellules géantes

sont principalement regroupées autour de foyers nécrotiques et sont associées à une réaction granulomateuse. Sur les 4 cas traités en immunohistochimie, un seul démontre une positivité des cellules clairement tumorales pour le CD68, cette positivité étant faible et cantonnée à de très rares cellules. Pour tous les autres cas, le marquage est confiné aux cellules des foyers macrophagiques périnécrotiques (y compris pour les cellules géantes), à des cellules intra-tumorales d'allure dendritique et aux foyers de panniculite granulomateuse éventuellement associés. Ces résultats concordent avec ceux d'autres études⁶⁴ qui n'ont pas conforté que les FHM dérivent de vrais histiocytes. Ce fait et l'absence de positivité des cellules tumorales pour les autres marqueurs de différenciation ou, pour un cas, la positivité pour l'actine de quelques cellules tumorales d'allure fibroblastique, nous incitent à reclasser ces tumeurs en fibrosarcomes peu différenciés avec réaction stromale gigantomacrophagique.

Comme d'autres auteurs l'ont constaté⁹, la présence de cellules géantes atypiques, d'aspect tumoral, va de pair avec des atypies nucléaires marquées et un index mitotique élevé, ce qui peut concorder avec l'hypothèse que ces FHM représentent un stade avancé de dédifférenciation, quelle que soit la nature des cellules tumorales d'origine. Chez l'homme, la présence de telles cellules géantes tumorales dans les FHM est d'ailleurs associée à un pronostic sombre, contrairement aux FHM associés à des cellules géantes réactionnelles ou ostéoclaste-like³⁷. Ce type de corrélation entre la nature des cellules géantes et le pronostic n'est pas, à notre connaissance, démontrée chez le chat.

4.2 Apport de l'immunohistochimie

Outre le typage tumoral, l'immunohistochimie nous renseigne d'une part sur l'index de prolifération des populations cellulaires tumorales et non tumorales (marquage de l'épitope Ki-67) et d'autre part sur une possible altération de la protéine p53, phénomène souvent impliqué dans la tumorigénèse de nombreuses tumeurs (marquage de la protéine p53).

L'épitope Ki-67 est exprimé par les noyaux des cellules en cycle, quelle que soit la phase du cycle cellulaire dans laquelle ces cellules sont engagées, pourvu qu'elles ne soient pas en phase de repos. C'est donc un indice plus précis de l'activité

cellulaire que le dénombrement des mitoses qui ne représentent, elles, qu'un stade précis du cycle cellulaire. La valeur pronostique de l'index de prolifération a été démontrée pour plusieurs types de tumeurs cutanées chez le chien^{1, 43}. Dans une étude³⁸, le comptage d'AgNOR (Nucleolar Organizer Regions) et l'indice PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) ont démontré leur supériorité sur l'index mitotique quant à leur corrélation avec la malignité des tumeurs fibroblastiques. Dans notre étude, l'index de prolifération est très variable, tant dans les plages tumorales (20 à 80 %) que dans les plages supposées être de la fibromatose à l'histologie classique (de quelques % à plus de 30 %). Aucune corrélation n'est établie avec la variation d'agressivité des lésions en l'absence de données sur l'évolution post-chirurgicale des chats de l'étude, mais il pourrait être intéressant de s'assurer ou non de l'existence d'une telle corrélation. En particulier, l'existence d'un rapport entre la valeur de l'index de prolifération et le risque ou la rapidité de survenue des récurrences locales, voire entre cet index et le risque de dissémination métastatique (bien que celui-ci soit habituellement faible) pourrait permettre d'affiner le pronostic et peut-être d'orienter les choix thérapeutiques. A ce titre, Couto et al⁹ mentionnent qu'en pathologie humaine, l'activité mitotique des aires à croissance rapide à la périphérie des tumeurs (qualifiées de hot spots) est un facteur pronostique plus utile que l'activité mitotique de champs pris au hasard. Il serait à notre sens intéressant de vérifier s'il en va de même chez le chat, au besoin en couplant les informations données par le comptage des mitoses et par l'estimation de l'index de prolifération des zones périphériques des prélèvements, et ce, non seulement pour les bords de la tumeurs mais également pour les plages de fibromatose éventuellement associées à la périphérie des prélèvements. Cela nécessiterait pour l'histopathologiste de disposer de l'intégralité des pièces d'exérèse ou, pour le moins, de fragments orientés indiquant les marges de résection.

La protéine p53 intervient dans la mise à l'arrêt des cellules pour lesquelles une anomalie chromosomique est détectée, afin de permettre la réparation de l'ADN ou d'induire l'apoptose des cellules concernées si les réparations sont impossibles, de sorte que les cellules dont l'ADN est endommagé ne puissent se répliquer. C'est pourquoi cette protéine est quelquefois qualifiée de gardienne du génome. Cette protéine, à l'état normal (ou sauvage), a un temps de demi-vie très court (15 à 20 minutes) qui la rend quasiment indétectable à l'immunohistochimie. Certaines mutations du gène codant pour cette protéine induisent une stabilisation de la p53, augmentant son temps de demi-vie et la rendant détectable à l'immunohistochimie.

Dans une étude⁶², les fibrosarcomes de chat n'ont pas pris le marquage pour la p53. Mais dans plusieurs études^{52, 55, 56, 60, 61}, des mutations de cette protéine ont pu soit être supposées du fait de sa surexpression à l'immunohistochimie, soit mises en évidence par technique d'amplification génique (PCR). De façon intéressante, sur l'ensemble des chats pour qui cela a été recherché, les mutations de p53 étaient présentes dans le tissu tumoral mais pas dans les tissus histologiquement sains alentour ni dans les cellules sanguines. Les mutations de p53 sont donc somatiques et non germinales dans les cas étudiés. En d'autres termes, elles n'ont pas constitué un facteur prédisposant au développement du cancer mais ont probablement contribué à sa progression. Dans notre étude, l'expression du marquage de la p53 est variable, tant au sein des tumeurs qu'au sein des plages de fibromatose, cette expression étant parfois équivalente dans la tumeur et dans les plages de fibromatose du même prélèvement. Ces observations confirment l'idée que des altérations de la protéine p53 interviennent, au moins dans un certain nombre de cas, dans la pathogénie des tumeurs du CFF, sans qu'aucun lien ne soit confirmé ou infirmé entre le niveau d'expression de la p53 et l'évolution post-chirurgicale. Chez le chat, le marquage de la p53 est un outil parfois utilisé dans le diagnostic de kératose actinique. Il pourrait donc être utile d'évaluer la possibilité d'une corrélation entre le niveau d'expression de la p53 dans les plages de fibromatose et le risque de transformation sarcomateuse.

4.3 Perspectives

Depuis le début des années 1990, il a été mis en évidence un lien entre la vaccination et l'apparition de lésions sarcomateuses chez certains chats (Hendrick). De nombreuses études ont été publiées sur le sujet mais la pathogénie de ces lésions est encore incertaine. Par ailleurs, les études prospectives à visée pronostique sont quasiment inexistantes. Cela provient probablement en grande partie de la difficulté à collecter des informations précises sur l'historique des animaux (certaines tumeurs peuvent avoir évolué des années après une injection) mais aussi de la difficulté d'homogénéiser les informations quant à l'évolution post-opératoire. Cette dernière embûche est liée d'abord à l'hétérogénéité des soins prodigués en complément de la chirurgie (rendant difficile la comparaison des évolutions), ensuite de la difficulté à collecter des données sur plusieurs années

suivant la chirurgie et enfin d'un manque d'homogénéité sur la dénomination des lésions appartenant au CFF. Un grading adapté de l'histopathologie humaine a été proposé⁹, mais sa corrélation avec le pronostic n'a pu être établie à ce jour. Il nous apparaît en outre qu'en plus des caractéristiques cytologiques, qui ont une place prépondérante dans ce grading, d'autres critères mériteraient d'être pris en compte. A commencer par la taille de la lésion au moment de la chirurgie et le degré d'infiltration tissulaire, facteurs semblant déterminants pour la qualité de la chirurgie et donc pour l'évolution post-chirurgicale. Ensuite, la nature exacte (ou la plus exacte possible) des lésions tumorales devrait être précisée, si besoin à l'aide de marqueurs de différenciation, pour pouvoir déterminer s'il existe des différences significatives de comportement entre des tumeurs de natures différentes. Ce point est sans doute l'un des plus difficile à mettre en oeuvre, les diagnostics pouvant s'avérer différents d'un pathologiste à l'autre, notamment pour certaines catégories de tumeurs (sarcomes peu différenciés, FHM, sarcomes squelettogènes ou métaplasiques...). Les marqueurs de différenciation, s'ils n'apportent pas toujours la garantie du diagnostic final, peuvent aider dans un certain nombre de cas à préciser ce diagnostic et à homogénéiser les réponses des différents pathologistes. Par ailleurs, la nature et la distribution des lésions non tumorales fréquemment associées aux tumeurs du CFF pourraient avoir autant d'importance que leur simple quantification et, plus précisément, l'infiltration des marges d'exérèse par de telles lésions devrait être systématiquement signalée. Un autre critère (de bonne valeur pronostique en pathologie humaine) qui pourrait être évalué, est la nature des cellules géantes multinucléées intra-tumorales lorsqu'elles sont présentes, à l'aide d'un marqueur de prolifération et du marquage de la tartrate phosphatase acido-résistante (TRAP, présente dans le cytoplasme des cellules ostéoclaste-like³⁷). Enfin, la valeur pronostique de l'index de prolifération (Ki-67) et de l'expression de la p53, dans les hot spots, mais aussi dans les lésions de fibromatose associées à la tumeur (et notamment celles situées sur les marges d'exérèse) pourrait être évaluée.

5 . CONCLUSION

Cette étude préliminaire nous a permis de relever la grande diversité des lésions du CFF et les difficultés inhérentes à la fois à la clinique, à la thérapeutique et l'anatomo-pathologie pour comparer ces tumeurs, notamment sur le plan de leur comportement. Nous avons également pu souligner l'intérêt potentiel de l'immunohistochimie pour préciser le diagnostic (marqueurs de différenciation) et / ou le pronostic (marqueur de prolifération, marqueur d'un facteur de l'apoptose) en complément de l'histologie de routine.

En tenant compte de tous ces critères, il semble indispensable d'homogénéiser le diagnostic histopathologique en vue d'études comparatives ultérieures à visée pronostique ou thérapeutique. Une classification systématique des lésions du CFF pourrait donc être proposée, faisant mention des informations suivantes :

- nature tumorale et localisation,
- taille de la tumeur et degré d'infiltration (mentionnant les plans tissulaires concernés),
- critères cytologiques de différenciation,
- nature des cellules géantes multinucléées le cas échéant,
- présence ou non d'embolies,
- index de prolifération, expression de la p53,
- nature et distribution des lésions non tumorales associées (fibroplasie, fibromatose, panniculite en précisant de quel type),
- examen des marges d'exérèse.

Pour ce dernier point, il convient de souligner la difficulté d'affirmer le caractère sain des marges, en raison de la distribution parfois très hétérogène et très étendue des lésions élémentaires non tumorales associées, à distance parfois importante des plages tumorales.

Parallèlement, l'étude de la nature et de la distribution des différentes lésions élémentaires des réactions post-injection en fonction de la diffusion du produit injecté pourrait être menée, de manière à établir une « cartographie lésionnelle » sur laquelle pourraient s'appuyer d'autres études pronostiques.

BIBLIOGRAPHIE

1. Abadie J, Armadeilh MF, Delverdier M : **Prognosis relevance of Ki-67 and PCNA as cell proliferation marker for canine cutaneous mast cell tumors : special consideration of moderately differentiated neoplasms.** *Journal of the American Veterinary Medical Association, Volume 215, Issue 1, 1999, Pages 1629-1634.*
2. Al-Sarraf R : **Update on feline vaccine-associated fibrosarcomas.** *Veterinary Medicine, August 1998, Pages 729-735.*
3. Baker RJ : **Feline fibrosarcomas in vaccination sites.** *Feline Practice, Volume 26, Issue 5, September-October 1998, Pages 18-20.*
4. Bergman PJ : **Etiology of feline vaccine-associated sarcomas : history and update.** *Journal of the American Veterinary Medical Association, Volume 213, Issue 10, November 15, 1998, Pages 1424-1425.*
5. Brearley MJ : **Vaccine-associated feline sarcomas.** *The Veterinary Record, Volume 148, Issue 18, May 5, 2001, page 580.*
6. BSAVA congres : **Vaccination and fibrosarcomas in cats.** *The Veterinary Record, Volume 148, Issue 16, April 21, 2001, page 493.*
7. Burton G, Mason KV : **Do postvaccinal sarcomas occur in Australian cats?** *Australian Veterinary Journal, Volume 75, Issue 2, February 1997, Pages 102-106.*
8. Confer AW, Enright FM, Beard GB : **Ultrastructure of a feline extraskelatal giant cell tumor (malignant fibrous histiocytoma).** *Veterinary Pathology, Volume 18, Issue 6, 1981, Pages 738-744.*
9. Couto SS, Griffey SM, Duarte PC, Madewell BR : **Feline vaccine-associated fibrosarcoma : morphologic distinctions.** *Veterinary Pathology, Volume 39, Issue 1, January 2002, Pages 33-41.*
10. Couto CG, Macy DW : **Review of treatment options for vaccine-associated feline sarcoma.** *Journal of the American Veterinary Medical Association, Volume 213, Issue 10, November 15, 1998, Pages 1426-1427.*
11. Coyne MJ, Postorino Reeves NC, Rosen DK : **Estimated prevalence of injection-site sarcomas in cats during 1992.** *Journal of the American Veterinary Medical Association, Volume 210, Issue 2, January 15, 1997, Pages 249-251.*
12. Devauchelle P, Delisle F, Doliger S : **Les fibrosarcomes dits « post-vaccinaux » chez le chat : mise au point.** *Point Vétérinaire, Volume 28, Numero 186, Octobre-Novembre 1997, Pages 1702-1703.*
13. Doddy FD, Glickman LT, Glickman NW, Janovitz EB : **Feline fibrosarcomas at vaccination sites and non-vaccination sites.** *Journal of Comparative Pathology, Volume 114, Issue 2, February 1996, Pages 165-174.*
14. Dubielzig RR : **Ocular sarcoma following trauma in three cats.** *Journal of the American Veterinary Medical Association, Volume 184, Issue 5, March 1, 1984, Pages 578-581.*
15. Dubielzig RR, Everitt J, Shaddock JA, Albert DM : **Clinical and morphological features of post-traumatic ocular sarcomas in cats.** *Veterinary Pathology, Volume 27, Issue 1, January 1990, Pages 62-65.*
16. Dubielzig RR, Hawkins KL, Miller PE : **Myofibroblastic sarcoma originating at the site of rabies vaccination in a cat.** *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, Volume 5, Issue 4, October 1993, Pages 637-638.*
17. Ellis JA, Jackson ML, Bartsch RC, McGill LG, Martin KM, Trask BR, Haines DM : **Use of immunohistochemistry and polymerase chain reaction for detection**

- of oncornaviruses in formalin-fixed, paraffin-embedded fibrosarcomas from cats.** *Journal of the American Veterinary Medical Association, Volume 209, Issue 4, August 15, 1996, Pages 767-771.*
18. Esplin DG, McGill LD, Meininger AC, Wilson SR : **Postvaccination sarcomas in cats.** *Journal of the American Veterinary Medical Association, Volume 202, Issue 8, April 15, 1993, Pages 1245-1247.*
 19. Esplin DG, Campbell R : **Widespread metastasis of a fibrosarcoma associated with a vaccination site in a cat.** *Feline Practice, Volume 23, Issue 1, January/ February 1995, Pages 13-16.*
 20. Gardner MB, Rongey RW, Arnstein P, Estes JD, Sarma P, Huebner RJ, Rickard CG : **Experimental transmission of feline fibrosarcoma to cats and dogs.** *Nature, Volume 226, May 30, 1970, Pages 807-809.*
 21. Gemmill LT : **Vaccine induced fibrosarcomas.** *Feline Practice, Volume 25, Issue 1, January-February 1997, Pages 4-5, 8.*
 22. Gemmill LT Jr : **Injection-site sarcomas in cats.** *Journal of the American Veterinary Medical Association, Volume 213, Issue 7, October 1, 1998, Page 955.*
 23. Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ : **Fibrocytic tumors.** *Veterinary Dermatopathology, Mosby-Year Book, INC., St Louis, Pages 413-415.*
 24. Gruffydd-Jones TJ, Sparkes AH : **Vaccination and fibrosarcomas in cats.** *The Veterinary Record, Volume 134, Issue 12, March 19, 1994, Page 310.*
 25. Hakanson N, Shively JN, Reed RE, Merideth RE : **Intraocular spindle cell sarcoma following trauma in a cat : case report and literature revue.** *Journal of the American Animal Hospital Association, Volume 26, Issue 1, January/February 1990, Pages 63-66.*
 26. Hayden DW, Ghobrial HK, Johnson KH, Buoen LC : **Feline mammary sarcoma composed of cells resembling myofibroblasts.** *Veterinary Pathology, Volume 23, 1986, Pages 118-124.*
 27. Hendrick MJ, Dunagan CA : **Focal necrotizing granulomatous panniculitis associated with subcutaneous injection of rabies vaccine in cats and dogs : 10 cases (1988-1989).** *Journal of the American Veterinary Medical Association, Volume 198, Issue 2, January 15, 1991, Pages 304-305.*
 28. Hendrick MJ, Goldschmidt MH : **Do injection site reactions induce fibrosarcomas in cats ?** *Journal of the American Veterinary Medical Association, Volume 199, Issue 8, October 15, 1991, Page 968.*
 29. Hendrick MJ, Goldschmidt MH, Shofer FS, Wang YY, Somlyo AP : **Postvaccinal sarcomas in the cat : epidemiology and electron probe microanalytical identification of aluminum.** *Cancer Research, Volume 52, Issue 19, October 1, 1992, Pages 5391-5394.*
 30. Hendrick MJ, Brooks JJ : **Postvaccinal sarcomas in the cat : histology and immunohistochemistry.** *Veterinary Pathology, Volume 31, Issue 1, 1994, Pages 126-129.*
 31. Hendrick MJ, Kass PH, McGill LD, Tizard IR : **Postvaccinal sarcomas in cats.** *Journal of the National Cancer Institute, Volume 86, Issue 5, March 2, 1994, Pages 341-343.*
 32. Hendrick MJ, Shofer FS, Goldschmidt MH, Haviland JC, Schelling SH, Engler SJ, Gliatto JM : **Comparison of fibrosarcomas that developed at vaccination sites and at nonvaccination sites in cats : 239 cases (1991-1992).** *Journal of the American Veterinary Medical Association, Volume 205, Issue 10, November 15, 1994, Pages 1425-1429.*
 33. Hendrick MJ : **Historical review and current knowledge of risk factors involved in feline vaccine-associated sarcomas.** *Journal of the American*

- Veterinary Medical Association, Volume 213, Issue 10, November 15, 1998, Pages 1422-1423.*
34. Hendrick MJ : **Feline vaccine-associated sarcomas : current studies on pathogenesis.** *Journal of the American Veterinary Medical Association, Volume 213, Issue 10, November 15, 1998, Pages 1425-1426.*
 35. Hershey AE, Sorenmo KU, Hendrick MJ, Shofer FS, Vail DM : **Prognosis for presumed feline vaccine-associated sarcoma after excision : 61 cases (1986-1996).** *Journal of the American Veterinary Association, Volume 216, Issue 1, January 1, 2000, Pages 58-61.*
 36. Heyden DW, Ghobrial HK, Johnson KH, Buoen LC : **Feline mammary sarcoma composed of cells resembling myofibroblasts.** *Veterinary Pathology, Volume 23, Issue 2, March 1986, Pages 118-124.*
 37. Jösten M, Rudolph R : **Methods for the differentiation of giant cells in canine and feline neoplasias in paraffin sections.** *Zentralblatt Für Veterinarmedizin. Reihe A, Volume 44, Issue 3, May 1997, Pages 159-166.*
 38. Karademir N, Güvenç T, Yarim M : **Comparison of argyrophil nucleolar organizer region counts, proliferating cell nuclear antigen (PCNA) indices and mitotic indices in fibromas and fibrosarcomas.** *Folia Veterinaria, Volume 42, Issue 2, 1998, Pages 67-71.*
 39. Kass PH, Barnes WG Jr, Spangler WL, Chomel BB, Culbertson MR : **Epidemiologic evidence for a causal relation between vaccination and fibrosarcoma tumorigenesis in cats.** *Journal of the American Veterinary Association, Volume 203, Issue 3, August 1, 1993, Pages 396-405.*
 40. Kidney BA, Ellis JA, Haines DM, Jackson ML : **Evaluation of formalin-fixed paraffin-embedded tissues obtained from vaccine site-associated sarcomas of cats for DNA of feline immunodeficiency virus.** *American Journal of Veterinary Research, Volume 61, Issue 9, September 2000, Pages 1037-1041.*
 41. Kidney BA, Ellis JA, Haines DM, Jackson ML : **Comparison of endogenous feline leukemia virus RNA content in feline vaccine and nonvaccine site-associated sarcomas.** *American Journal of Veterinary Research, Volume 62, Issue 12, December 2001, pages 1990-1994.*
 42. King GK, Yates KM, Greenlee PG, Pierce KR, Ford CR, McAnalley BH, Tizard IR : **The effect of Acemannan immunostimulant in combination with surgery and radiation therapy on spontaneous canine and feline fibrosarcomas.** *Journal of the American Animal Hospital Association, Volume 31, Issue 5, September-October 1995, Pages 439-447.*
 43. Laprie C, Abadie J, Amardeilh MF, Lagadic M, Delverdier M : **Ki-67 epitope immunoreactivity correlates with biologic behavior in canine cutaneous melanoma.** *Veterinary Dermatology, 2001, 12, 139-147.*
 44. Lester S, Clemett T, Burt A : **Vaccine site-associated sarcomas in cats : clinical experience and a laboratory review (1982-1993).** *Journal of the American Animal Hospital Association, Volume 32, Issue 2, March/April 1996, Pages 91-95.*
 45. Leveque NW : **Symposium devoted to vaccine-associated feline sarcomas.** *Journal of the American Veterinary Medical Association, Volume 213, Issue 6, September 15, 1998, Page 785.*
 46. Macy DW, Hendrick MJ : **The potential role of inflammation in the development of postvaccinal sarcomas in cats.** *The Veterinary Clinics of North America : Small Animal Practice Controversies in Clinical Oncology, Volume 26, Issue 1, January 1996, Pages 103-109.*
 47. Macy DW, Bergman PJ : **Vaccine-associated sarcomas in cats.** *Feline Practice, Volume 23, Issue 4, July/August 1995, Pages 24-27.*

48. Madewell BR, Griffey SM, McEntee MC, Leppert VJ, Munn, RJ : **Feline vaccine-associated fibrosarcoma : an ultrastructural study of 20 tumors (1996-1999).** *Veterinary Pathology, Volume 38, Issue 2, March 2001, Pages 196-202.*
49. Martin de las Mulas J, Espinosa de los Monteros A, Carrasco L, van Niel M, Fernandez A : **Immunohistochemical distribution pattern of intermediate filament proteins in 50 feline neoplasms.** *Veterinary Pathology, Volume 32, Issue 6, November 1995, Pages 692-701.*
50. Martins-Green M, Boudreau N, Bissell MJ : **Inflammation is responsible for the development of wound-induced tumors in chickens infected with Rous sarcoma virus.** *Cancer Research, Volume 54, Issue 16, August 15, 1994, Pages 4334-4341.*
51. Mayr B, Eschborn U, Kalat M : **Near triploidy in a feline fibrosarcoma.** *Zentralblatt Für Veterinärmedizin. Reihe A, Volume 38, Issue 8, October 1991, Pages 617-620.*
52. Mayr B, Schaffner G, Kurzbauer R, Schneider A, Reifinger M, Loupal G : **Mutations in tumour suppressor gene p53 in two feline fibrosarcomas.** *The British Veterinary Journal, Volume 151, Issue 6, November-December 1995, Pages 707-713.*
53. Mayr B, Bockstahler B, Loupal G, Reifinger M, Schleger W : **Cytogenetic variation between four cases of feline fibrosarcoma.** *Research in Veterinary Science, Volume 61, Issue 3, November 1996, Pages 268-270.*
54. Mayr B, Wegscheider H, Reifinger M, Jugl T : **Cytogenetic alterations in four feline soft-tissue tumours.** *Veterinary Research Communications, Volume 22, Issue 1, January 1998, Pages 21-29.*
55. Mayr B, Reifinger M, Alton K, Schaffner G : **Novel p53 tumour suppressor mutations in cases of spindle cell sarcoma, pleomorphic sarcoma and fibrosarcoma in cats.** *Veterinary Research Communications, Volume 22, Issue 4, June 1998, Pages 249-255.*
56. Mayr B, Blauensteiner J, Edlinger A, Reifinger M, Alton K, Schaffner G, Brem G : **Presence of p53 mutations in feline neoplasms.** *Research in Veterinary Science, Volume 68, Issue 1, February 2000, Pages 63-69.*
57. Mayr B : **Cytogenetic and tumour suppressor gene studies on feline soft tissue tumours.** *Vet. Med.-Czech, Volume 45, 2000 (10-11), Pages 327-330.*
58. Moore AS, Madewell BR, Lund JK : **Immunohistochemical evaluation of intermediate filament expression in canine and feline neoplasms.** *American Journal of Veterinary Research, Volume 50, Issue 1, January 1989, Pages 88-92.*
59. Moulton JE : *Tumors in domestic animals, 3rd edition, university of California press, Berkeley CA, 1990, Pages 323-324.*
60. Nambiar PR, Haines DM, Ellis JA, Kidney BA, Jackson ML : **Mutational analysis of tumor suppressor gene p53 in feline vaccine site-associated sarcomas.** *American Journal of Veterinary Research, Volume 61, Issue 10, October 2000, Pages 1277-1281.*
61. Nambiar PR, Jackson ML, Ellis JA, Chelack BJ, Kidney BA, Haines DM : **Immunohistochemical detection of tumor suppressor gene p53 protein in feline injection site-associated sarcomas.** *Veterinary Pathology, Volume 38, Issue 2, March 2001, Pages 236-238.*
62. Nasir L, Krasner H, Argyle DJ, Williams A : **Immunocytochemical analysis of the tumor suppressor protein (p53) in feline neoplasia.** *Cancer Letters, Volume 155, Issue 1, July 3, 2000, Pages 1-7.*
63. De Noronha F, Grant CK, Lutz H, Keyes A, Rowston W : **Circulating levels of feline leukemia and sarcoma viruses and fibrosarcoma regression in**

- persistently viremic cats.** *Cancer Research*, Volume 43, Issue 4, April 1983, Pages 1663-1668.
64. Pace LW, Kreeger JM, Miller MA, Turk JR, Fischer JR : **Immunohistochemical staining of feline malignant fibrous histiocytomas.** *Veterinary Pathology*, Volume 31, Issue 2, March 1994, Pages 168-172.
 65. Pérez J, Bautista M, Rollon E, Chacon-M. de Lara F, Carrasco L, Martin de las Mulas J : **Immunohistochemical characterization of hemangiopericytomas and other spindle cell tumors in the dog.** *Veterinary Pathology*, Volume 33, Issue 4, July 1996, Pages 391-397.
 66. Quintin-Colonna F, Devauchelle P, Fradelizi D, Mourot B, Faure T, Kourilsky P, Roth C, Mehtali M : **Gene therapy of spontaneous canine melanoma and feline fibrosarcoma by intratumoral administration of histocompatible cells expressing human interleukin-2.** *Gene Therapy*, Volume 3, Issue 12, December 1996, Pages 1104-1112.
 67. Richards JR : **Education/communication : history and current status.** *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Volume 213, Issue 10, November 15, 1998, Pages 1429-1430.
 68. Romatowski J : **Recommendations of the vaccine-Associated Feline Sarcoma Task Force.** *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Volume 210, Issue 7, April 1, 1997, Page 890.
 69. Rosen DK, Coyne M, Postorino Reeves N : **An epidemiologic survey to determine the rate of injection-site fibrosarcomas in cats, 1992.** *Feline Practice*, Volume 24, Issue 2, March-April 1996, Page 34.
 70. Rudmann DG, Van Alstine WG, Doddy F, Sandusky GE, Barkdull T, Janovitz EB : **Pulmonary and mediastinal metastases of a vaccination-site sarcoma in a cat.** *Veterinary Pathology*, Volume 33, Issue 4, July 1996, Pages 466-469.
 71. Schultze AE, Frank LA, Hahn KA : **Repeated physical and cytologic characterizations of subcutaneous postvaccinal reactions in cats.** *American Journal of Veterinary Research*, Volume 58, Issue 7, July 1997, Pages 719-724.
 72. Sinibaldi K, Rosen H, Liu SK, DeAngelis M : **Tumors associated with metallic implants in animals.** *Clinical Orthopaedics and Related Research*, Issue 118, July-August 1976, Pages 257-266.
 73. Starr RM : **Vaccine-Associated Feline Sarcoma Task Force : A new model for problem solving in veterinary medicine.** *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Volume 213, Issue 10, November 15, 1998, Pages 1428-1429.
 74. Stiller D, Katenkamp D : **Cellular features in desmoid fibromatosis and well-differentiated fibrosarcomas. An electron microscopic study.** *Virchows Archiv A Pathological Anatomy and Histology*, Volume 369, 1975, Pages 155-164.
 75. Tennant B : **Feline injection-site fibrosarcomas : results of BSAVA survey.** *The Journal of Small Animal Practice*, Volume 41, Issue 4, April 2000, Pages 181-182.
 76. Thoolen RJMM, Vos JH, Van der Linde-Sipman JS, De Weger RA, Van Unnik JAM, Misdorp W, Van Dijk JE : **Malignant fibrous histiocytomas in dogs and cats : an immunohistochemical study.** *Research in Veterinary Science*, Volume 53, Issue 2, September 1992, Pages 198-204.
 77. Thornburg LP : **Postvaccination sarcomas in cats.** *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Volume 203, Issue 2, July 15, 1993, Pages 193-194.

78. Weigand CM, Brewer WG : **Vaccination-site sarcomas in cats.** *Compendium of Continuing Education, Volume 18, Issue 8, August 1996, Pages 869-875.*

ANNEXES

Tableau 1 : Détail des marqueurs immunohistochimiques utilisés

Anticorps primaires				Anticorps secondaires		
Spécificité	Description	Dilution	Référence	Description	Dilution	Référence
Actine musculaire	Souris anti-isotypes α et γ de l'actine, MC, Ig G1 kappa	1/25	Clone HHF35 Dako France M0635	Chèvre anti-souris + anti-lapin, PC biotinylé	1/100	Kit DAKO K0492
LB	Souris anti-BLA36 MC, Ig G3	1/300	Biogenex MU231 UC			
LB	Souris anti-humain CD79 α , MC, Ig G1 kappa	1/25	Clone HM57 Dako France M7051			
LT	Lapin anti-humain CD3, PC	1/50	Dako France A0452			
S100	Lapin anti-bovin S100 A et B, PC	1/200	Dako France Z0311			
GFAP	Souris anti-humain GFAP, MC, Ig G1 kappa	1/25	Clone 6F2 Dako France M0761			
Cellules du système mélanogène	Souris anti-humain Melan A/MART-1, MC, Ig G1	1/100	Clone A103 Dako France M7196			
Cytokératines 5, 6, 8, 17 +/- 19	Souris anti-humain cytokératines, MC, Ig G1, kappa	1/300	Clone MNF116 Dako France M821			
Monocytes/macrophages	Souris anti-humain CD68, MC, Ig G1	1/200	Clone Ki-M6 Serotec MCA759			
Protéine p53 mutée	Souris anti-humain épitope entre les a.a. 156-214 de p53 mutée, MC,	1/1000	Clone Pab240 Serotec MCA909			
Cellules en cycle	Souris anti-humain Ki-67. MC, Ig G1	1/50	Clone MIB-1 Dako France M7240			

MC : monoclonal ; PC : polyclonal.

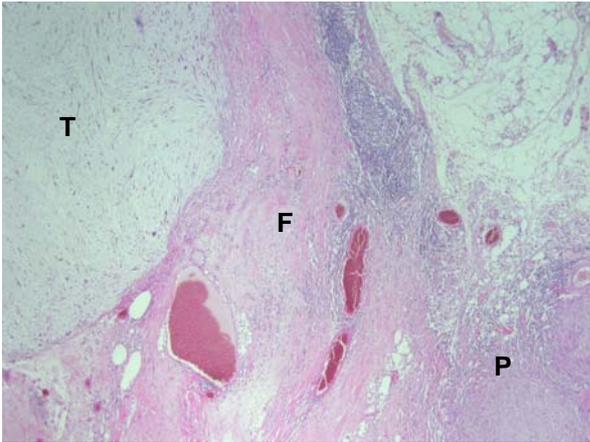


Fig. 1 : tumeur à cellules fusiformes (T), bordée par des lésions de fibromatose (F) et de panniculite (P). HE x 40.



Fig. 2 : tumeur à cellules fusiformes (T) développée dans un plan musculaire et bordée par un infiltrat lymphocytaire (L) et un foyer de fibromatose (F). HE x 40.

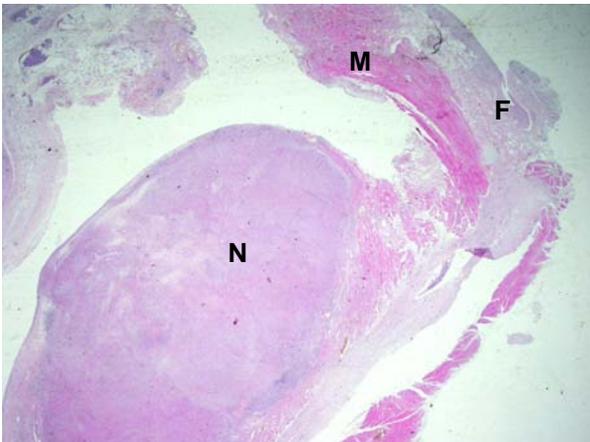


Fig. 3 : Nodule sarcomateux (N) avec lésions de fibromatose (F) infiltrant un muscle (M). HE x 10.

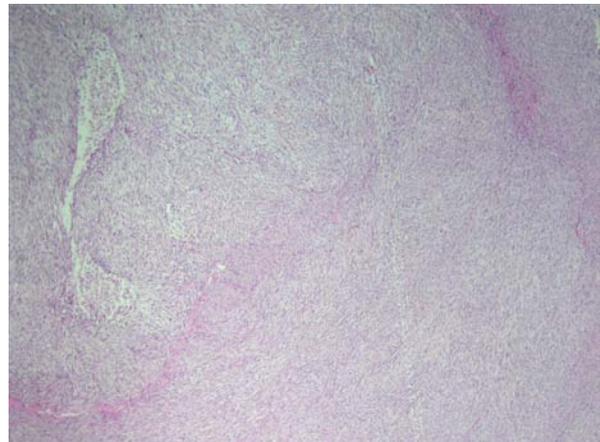


Fig. 4 : sarcome à cellules fusiformes. HE x 40.

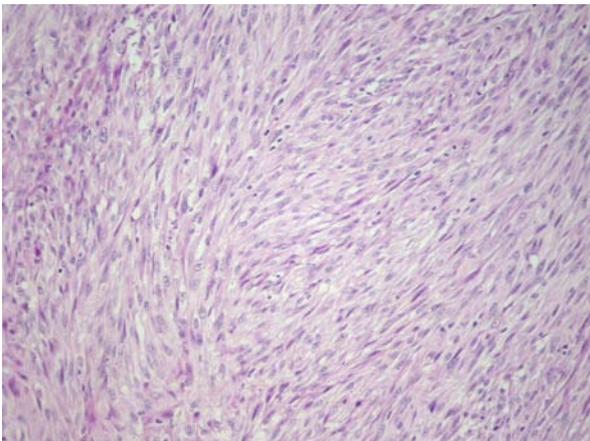


Fig. 5 : sarcome à cellules fusiformes, faisceaux de cellules. HE x 200.

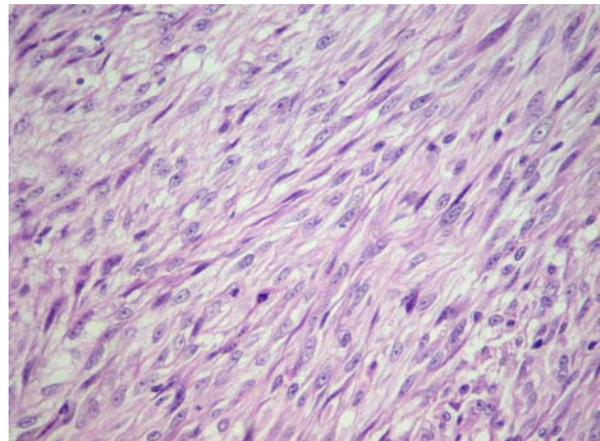


Fig. 6 : sarcome à cellules fusiformes, atypies nucléaires (anisocaryose, nucléolation) et figures de mitose. HE x 400.

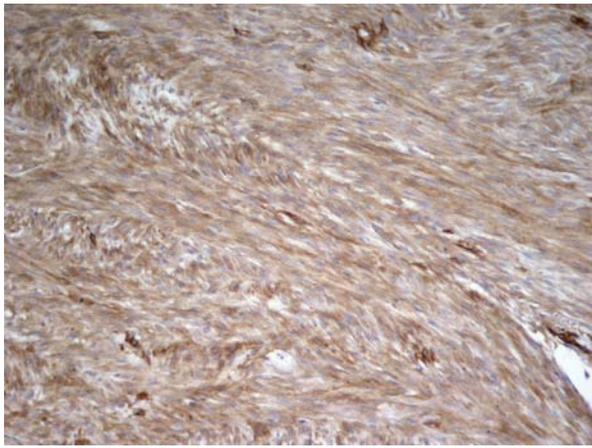


Fig. 7 : léiomyosarcome. Marquage des cellules tumorales par l'anticorps dirigé contre l'actine x 200.

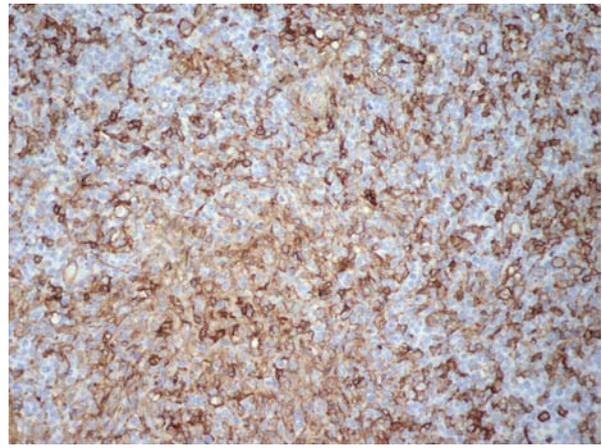


Fig. 8 : lymphome B. Marquage des cellules tumorales par l'anticorps dirigé contre la protéine BLA 36 x 200.

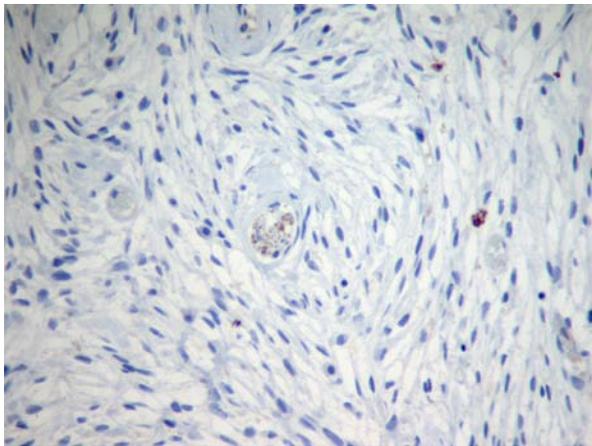


Fig. 9 : neurofibrosarcome. Marquage de section de nerfs par l'anticorps dirigé contre la GFAP x 40.

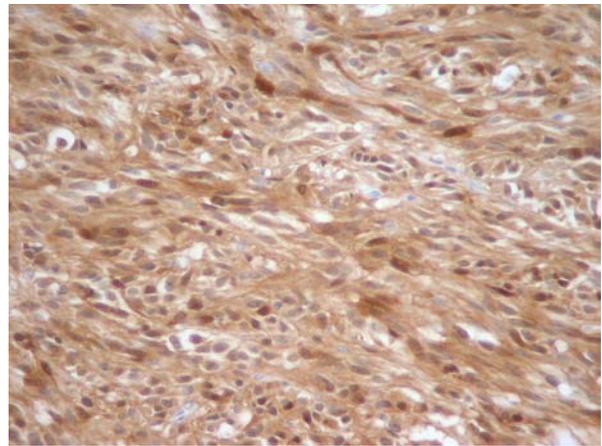


Fig. 10 : neurofibrosarcome. Marquage des cellules tumorales par l'anticorps dirigé contre la protéine S100 x400.

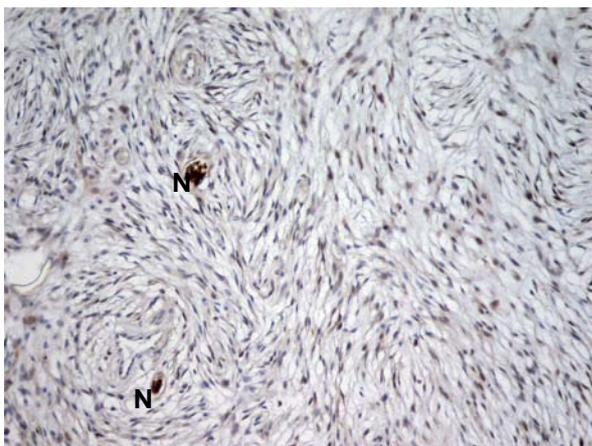


Fig. 11 : neurofibrosarcome. Marquage de sections de nerfs (N) et de cellules tumorales par l'anticorps dirigé contre la protéine S100 x 200.

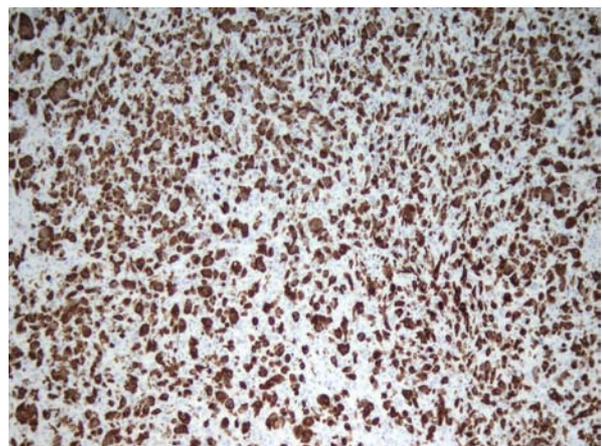


Fig. 12 : sarcome histiocytaire. Marquage des cellules tumorales par l'anticorps dirigé contre l'antigène CD68 x 100.

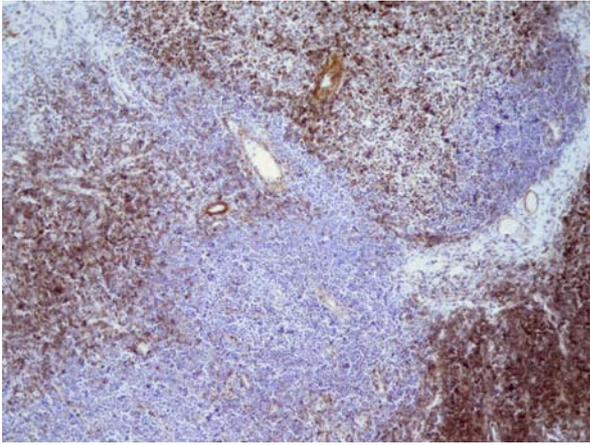


Fig. 13 : transition hyperplasie lymphoïde vers lymphome B. Marquage par l'anticorps dirigé contre la protéine mb-1 (CD79) x 100.

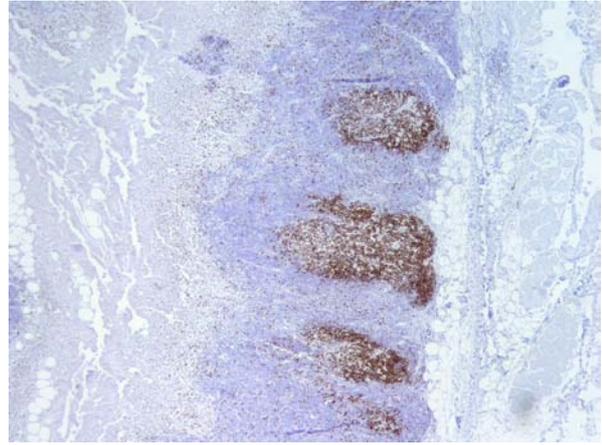


Fig. 14 : zone d'hyperplasie lymphoïde. Marquage du centre germinatif des formations folliculaires par un marqueur de prolifération dirigé contre l'épitope Ki-67 x 40.

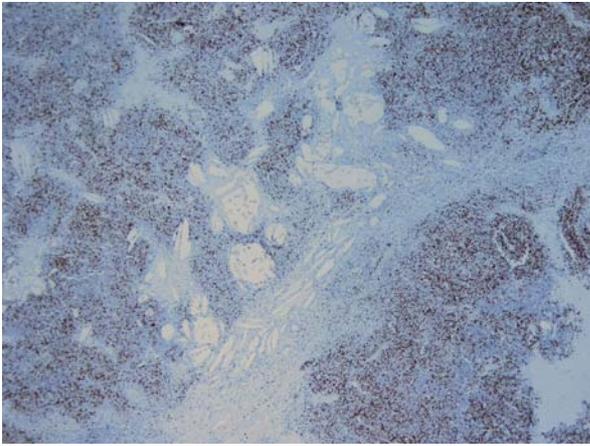


Fig. 15 : lymphome B développé dans le contexte d'une panniculite granulomateuse. Marquage des cellules tumorales par un marqueur de prolifération dirigé contre l'épitope Ki-67 x 40.

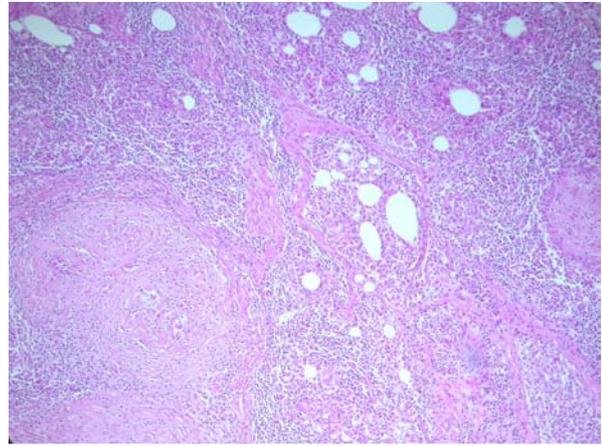


Fig. 16 : panniculite granulomateuse. HE x 100.

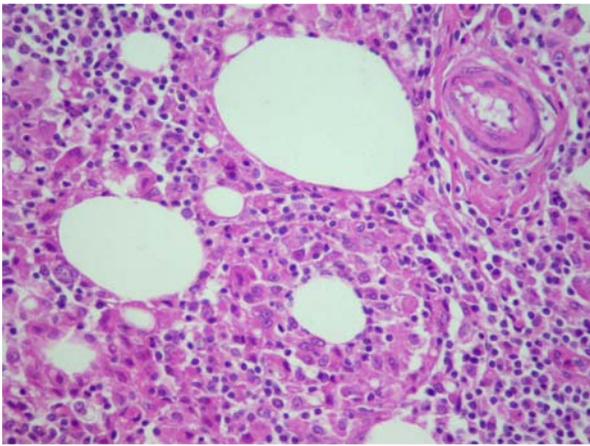


Fig. 17 : panniculite granulomateuse. Vacuoles optiquement vides cerclées par des couronnes de macrophages, elles-mêmes entourées de petits lymphocytes. HE x 400.

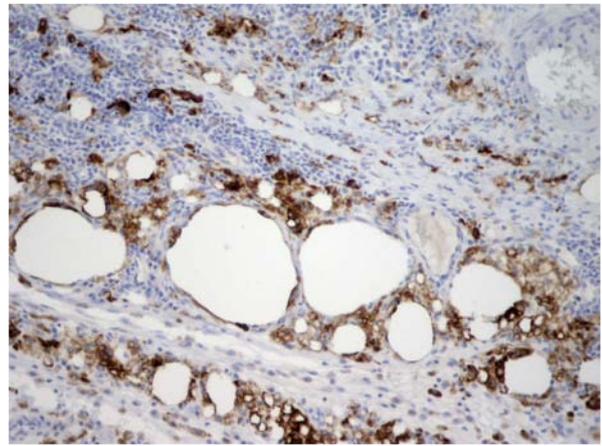


Fig. 18 : panniculite. Marquage des macrophages par un anticorps dirigé contre l'épitope CD68. x 200.

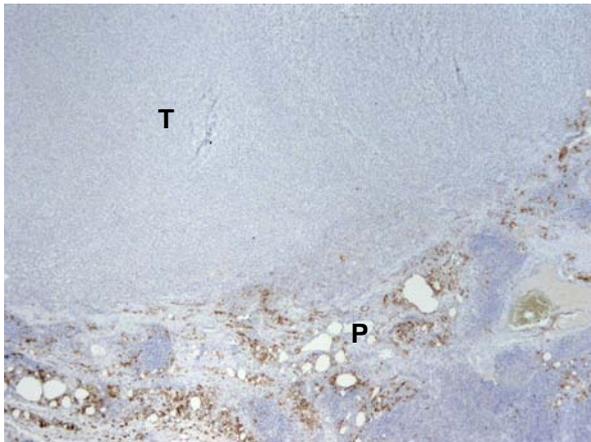


Fig. 19 : marquage de la réaction macrophagique et dendritique au sein de lésions de panniculite (P) périphérique à une tumeur du CFF (T). CD68 x 40.

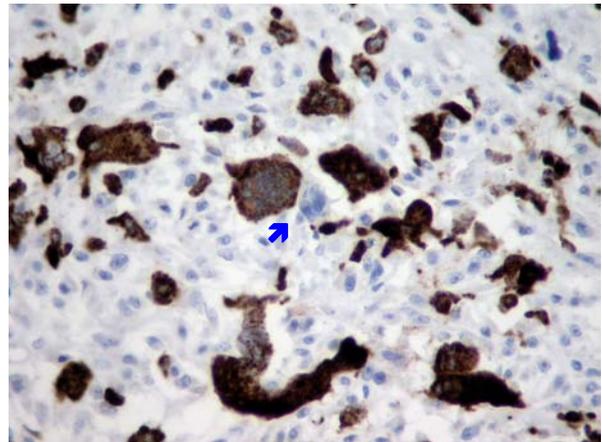


Fig. 20 : tumeur du CFF. Marquage de la réaction dendritique et géantocellulaire intra-tumorale, mais pas des cellules tumorales, y compris multinucléées (flèche). CD68 x 400.

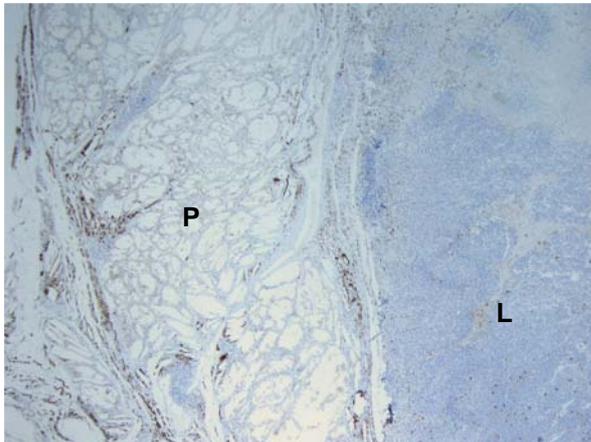


Fig. 21 : lymphome (L) développé dans le contexte d'une panniculite (P). Marquage des populations macrophagique et dendritique. CD68 x 40.

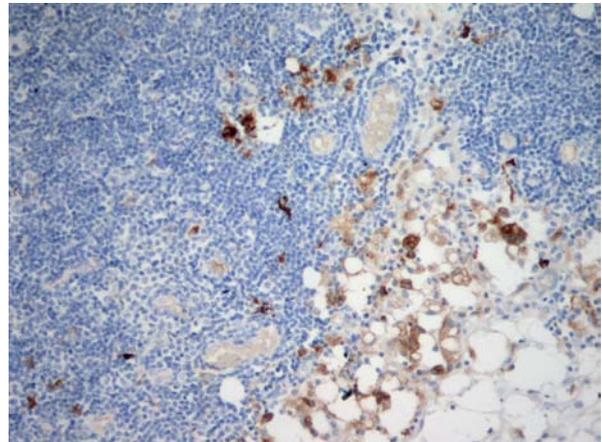


Fig. 22 : lymphome développé dans le contexte d'une panniculite. Marquage des populations macrophagique et dendritique. CD68 x 400.

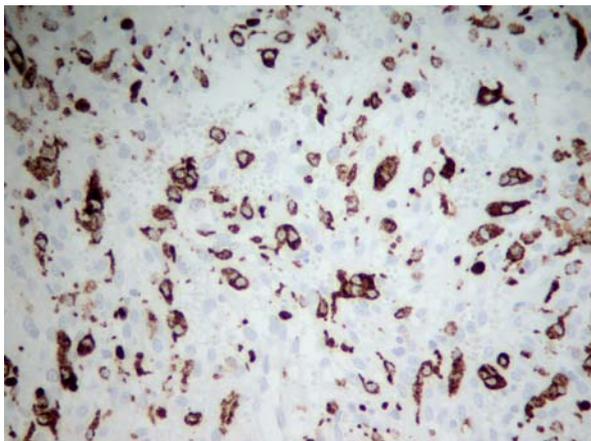


Fig. 23 : « fibrohistiocytome malin » : marquage de cellules d'allure dendritique. CD68 x 400.

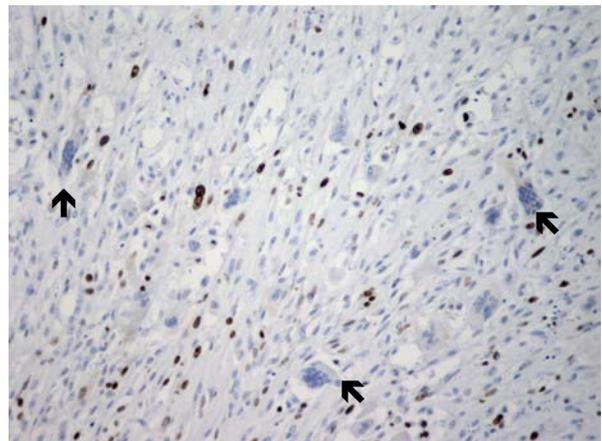


Fig. 24 : « fibrohistiocytome malin » : marquage des cellules tumorales, y compris géantes, par le marqueur de prolifération. Absence de marquage des cellules de la stroma réaction géantocellulaire (flèches). Ki-67 x 400.

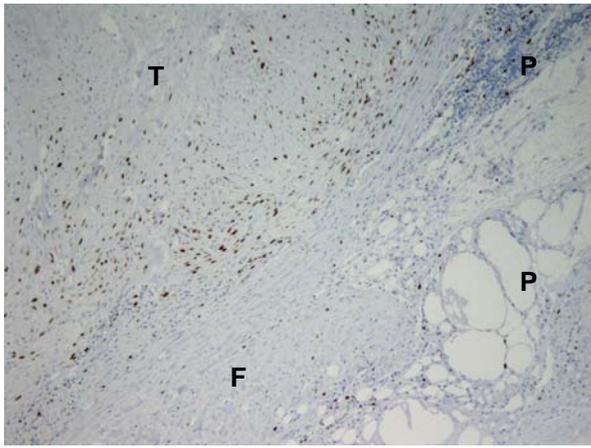


Fig. 25 : marqueur de prolifération. Différence d'intensité de marquage entre la zone tumorale (T) et les lésions de fibromatose (F) ou de panniculite (P). Ki-67 x 100.

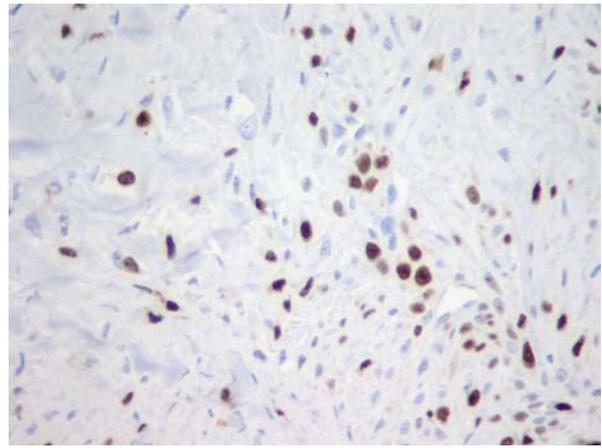


Fig. 26 : marquage de la zone tumorale par le marqueur de prolifération. Marquage nucléaire, y compris nucléolaire. Ki-67 x 400.

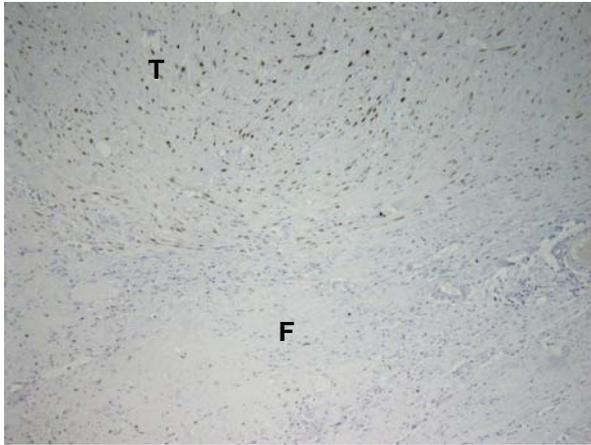


Fig. 27 : marquage par un anticorps dirigé contre un épitope de la protéine p53. Différence d'intensité de marquage entre les zones tumorale (T) et de fibromatose (F). x 100.

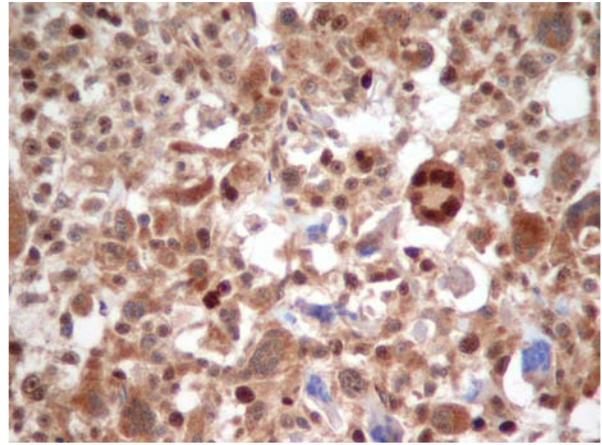


Fig. 28 : sarcome histiocytaire. Marquage nucléaire des cellules tumorales par un anticorps dirigé contre un épitope de la protéine p53 (et marquage cytoplasmique non spécifique). X 400.

Toulouse 2005

NOM : SEMIN

PRENOM : MARIE-ODILE

TITRE : LES LESIONS DU COMPLEXE FIBROSARCOME FELIN : ETUDE HISTOPATHOLOGIQUE ET IMMUNOHISTOCHEMIE

RESUME :

L'étude histologique et immunohistochimique de 300 néoformations du complexe fibrosarcome félin (CFF) révèle une grande diversité lésionnelle tumorale (type tumoral, degré de différenciation, nature des cellules géantes multinucléées parfois présentes et expression des marqueurs Ki-67 et p53), l'association fréquente de tumeurs et de lésions non tumorales (panniculite, fibromatose) et l'existence d'une progression de certaines lésions non tumorales vers la tumoralisation. La notion de CFF pourrait être reconsidérée et inclure d'autres tumeurs que les sarcomes à cellules fusiformes. Par ailleurs, l'homogénéisation du diagnostic histologique des lésions du CFF, mentionnant nature, localisation et taille de la tumeur, degré d'infiltration, critères histologiques, cytologiques et immunohistochimiques de différenciation, nature des cellules géantes, lésions associées, index de prolifération, expression de p53 et examen des marges, semble indispensable pour toute étude ultérieure à visée comparative.

MOTS CLES : FIBROSARCOME – CHAT – LESION – HISTOPATHOLOGIE – CARNIVORE

TITLE : FELINE VACCINE ASSOCIATED OR POST-TRAUMATIC SARCOMAS : HISTOPATHOLOGIC AND IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY

SUMMARY :

The study of 300 feline vaccine associated sarcomas (VAS) by histology and immunochemistry shows great variety in tumor type, frequent association between tumors and non tumoral lesions and a progression of some non tumoral lesions into tumors. So the notion of feline VAS may include other types of tumors than spindle cell tumors. Further comparative studies should mention type, localisation and size of the tumor, growth and tissues concerned, histologic, cytologic and immunohistochemical differentiation criteria, type of giant cells if present, associated lesions, proliferation index, p53 expression and examination of the margins.

KEY-WORDS : FIBROSARCOMA – CAT – LESION – HISTOPATHOLOGY – CARNIVORA