

LE LYMPHOME B RICHE EN CELLULES T CHEZ LE CHAT : ETUDE CLINIQUE, HISTOLOGIQUE ET IMMUNOPHENOTYPIQUE DE 12 CAS

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2002
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Céline, Marie, Charlotte BERGEROT
Née, le 15 avril 1978 à SAINT-CLOUD (Hauts-de-Seine)

Directeur de thèse : M. le Professeur Maxence DELVERDIER

JURY

PRESIDENT :
M. Claude CARATERO

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :
M. Maxence DELVERDIER
Mlle Cathy TRUMEL

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

A NOTRE JURY DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR CARATERO

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

Histologie – Embryologie.

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

Hommage respectueux.

MONSIEUR LE PROFESSEUR MAXENCE DELVERDIER

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Anatomie pathologique

Qui nous a proposé ce sujet, nous a soutenu et conseillé tout au long de ce travail,

Qu'il trouve ici, le témoignage de notre plus profond respect.

MADemoiselle LE Docteur CATHY TRUMEL

Maître de Conférence de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Médecine interne

*Qui nous a fait l'honneur d'être membre du jury et d'examiner ce travail,
Qu'elle soit remerciée pour la patience et la bienveillance dont elle a fait preuve,
Qu'elle trouve ici le témoignage de notre sincère gratitude.*

A mes Parents,

*Pour leur soutien sans faille tout au long de ma scolarité.
Qu'ils trouvent dans ce travail le témoignage de ma reconnaissance et de mon amour.*

A ma Grand-Mère,

Pour tous les cierges que tu as allumés. Ils n'ont pas été vains !

A ma Tante Pierrette,

Pour m'avoir soutenu.

A Emmanuel, Marianne, Louise et Gabriel,

Merci d'être là et de votre soutien.

A Claude et Paul,

Pour m'avoir donné envie de faire ce métier. Sans vous je n'en serais pas là.

A toute ma famille.

A tous mes amis,

Claire, Laure, Benoît, Gaëlle et Sébastien et tous les autres.

A Marie-Odile et au personnel du laboratoire du service d'Anomie pathologique,

Grâce à qui ce travail a pu être effectué.

TABLE DES MATIERES

<u>TABLE DES ILLUSTRATIONS</u>	5
<u>INTRODUCTION</u>	6
<u>I- MATÉRIEL ET MÉTHODES</u>	8
I.1- Sélection des cas	8
I.2- Préparation histologique.....	8
I.3- Marquage immunohistochimique	8
I.4- Interprétation histologique et immunophénotypique.....	10
<u>II- RÉSULTATS</u>	11
II.1- Données cliniques.....	11
II.2- Données histologiques	13
II.3- Marquage immunohistochimique.....	14
<u>III- DISCUSSION</u>	17
<u>CONCLUSION</u>	23
<u>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</u>	24
<u>ANNEXES</u>	26
Annexe I. Protocole de Description Clinique	26
Annexe II	29
Fig.1. <i>Cellules de type L&H sur un fond de petits lymphocytes</i>	29
Fig.2. <i>Cellules de type RS sur un fond de petits lymphocytes</i>	29
Fig.3. <i>Cellules de type lacunaire sur un fond de petits lymphocytes</i>	30
Fig.4. <i>Prépondérance des lymphocytes T dans l'infiltration tumorale</i>	30
Fig.5. <i>Prépondérance des lymphocytes B dans l'infiltration tumorale</i>	31
Fig.6. <i>Expression du Ki 67 par les cellules atypiques</i>	31
Fig.7. <i>Expression du BLA36 par les cellules de type L&H</i>	32
Fig.8. <i>Expression du CD79 par les cellules de type L&H</i>	32

TABLE DES ILLUSTRATIONS

<u>Tableau 1. Ensemble des Ac utilisés dans l’immunomarquage du lymphome B riche en cellules T.</u>	9
<u>Tableau 2. Données cliniques de la population de chats étudiée.</u>	11
<u>Tableau 3. Description histologique : architecture et types cellulaires observés dans la population de chats étudiée.</u>	13
<u>Tableau 4. Expression des différents marqueurs par les populations de petits lymphocytes et de cellules atypiques.</u>	15
<u>Tableau 5. Principaux Ac utilisés en médecine humaine pour la caractérisation immunophénotypique du LBRCT et des lymphomes Hodgkiniens.</u>	18

INTRODUCTION

Les tumeurs hématopœïétiques sont les plus fréquemment rencontrées chez le chat et représentent environ un tiers de l'ensemble des tumeurs dans cette espèce. Parmi celles-ci, le lymphome est de loin la plus commune et compte pour plus de 90% des tumeurs hématopœïétiques [8].

Chez le chat, les lymphomes ont tout d'abord été classés selon la répartition anatomique des lésions. Plus récemment, les études menées ont abouti à leur caractérisation morphologique et immunophénotypique permettant ainsi une classification histologique [4]. Actuellement, les deux principaux systèmes utilisés sont inspirés des principes de la classification des lymphomes humains : le Working Formulation (WF) du National Cancer Institute (NCI) et la Revised European-American Lymphoma (REAL) classification. Le premier définit des types histologiques de lymphomes basés sur leur taux naturel de progression. Les catégories diagnostiques ont été réparties en trois grades : bas, intermédiaire et haut. Le système REAL est quant à lui, basé sur la morphologie et l'immunophénotypage des lymphomes permettant ainsi de différencier les lignées B et T [14].

Chez l'homme, le lymphome B riche en cellules T a longtemps été confondu avec les lymphomes Hodgkiniens [6, 9, 11, 12]. Il est actuellement considéré comme un lymphome de type non-Hodgkinien, de grade intermédiaire selon le système WF et appartenant aux lymphomes B diffus à grandes cellules selon la classification REAL [2, 14].

Ce lymphome a été décrit pour la première fois chez le chat en 1997 et une étude datant de 1999 relate l'existence de 8 autres cas [3, 13]. Les animaux atteints sont des chats adultes à âgés qui présentent une masse plus ou moins récurrente en région mandibulaire ou cervicale ventrale. L'aspect microscopique de cette lésion a révélé la présence de cellules géantes atypiques éparpillées sur un fond uniforme de petits lymphocytes. A l'examen immunohistochimique, la population de cellules atypiques (généralement < 10% de la population totale) exprime un marqueur de lymphocytes B (BLA 36+) tandis que les petits lymphocytes sont constitués d'une population mixte de lymphocytes T (CD3+) et B (BLA 36+) en proportion variable. Ces études mettent en évidence le caractère néoplasique des cellules B atypiques et considèrent la population de petits lymphocytes comme étant réactive. L'ensemble de ces données morphologiques et immunohistochimiques a permis de conclure à un lymphome B riche en cellules T [3, 13]. Néanmoins, ces conclusions semblent être remises en cause sur la base de la description morphologique des cellules néoplasiques. En effet, ces

dernières pourraient correspondre selon certains auteurs, à des cellules lymphocytaires et histiocytaires (cellules L&H) caractéristiques de certains sous-types de lymphomes Hodgkiniens. Ainsi les lymphomes B riches en cellules T décrits jusqu'alors chez le chat pourraient se révéler être en fait des lymphomes de type Hodgkinien [15].

Cette tumeur ne semble pas être associée au FeLV (Feline Leukemia Virus) contrairement à la majorité des lymphomes chez le chat [3, 13].

Cette étude rétrospective sur 12 cas a pour objectifs de définir les caractéristiques cliniques, histologiques et immunophénotypiques du lymphome B riche en cellules T chez le chat.

I- MATERIEL ET METHODES

I.1- Sélection des cas

Les cas inclus dans cette étude, ont été identifiés sur la base d'un examen histopathologique de pièces d'exérèse ou de biopsies réalisé par le Laboratoire d'Anatomie Pathologique Vétérinaire du Sud-Ouest (APVSO) durant l'année 2001. Le premier critère d'inclusion dans l'étude est l'existence d'un lymphome à savoir la présence de cellules tumorales possédant des caractéristiques cytologiques de cellules lymphoïdes. Habituellement, l'aspect microscopique des lymphomes félines est celui d'une infiltration par une population uniforme de lymphocytes B ou T. Ainsi le deuxième critère de sélection retenu dans notre étude, définit l'originalité de ces lymphomes puisqu'il implique la présence de deux populations cellulaires distinctes. Parmi les 12 cas retenus, 9 (cas n°1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 11 et 12) présentent une atteinte d'au moins un nœud lymphatique, 2 (cas n°6 et 10), une atteinte du tissu cutané et sous-cutané et le dernier (cas n°9), une infiltration de la paroi vésicale. Les informations concernant le signalement, les commémoratifs, le tableau clinique, la forme et le grade du lymphome, le traitement et le suivi ont été collectées pour chacun des animaux auprès des vétérinaires référents à partir d'un questionnaire standardisé (cf. annexe I).

I.2- Préparation histologique

Les tissus destinés à un examen histologique ont été fixés dans une solution de formol neutre à 10% pendant 24h à température ambiante et inclus dans la paraffine de manière classique. Des coupes de 2 µm ont été réalisées puis colorées à l'hémalun-éosine (HE).

I.3- Marquage immunohistochimique

L'ensemble des cas de cette étude a subi un marquage immunohistochimique. Les différents anticorps (Ac) utilisés sont répertoriés dans le tableau 1.

Tableau 1. Ensemble des Ac utilisés dans l'immunomarquage du lymphome B riche en cellules T.

Description ¹	Spécificité	Fournisseur	Dilution ²
Lapin anti-humain CD3. PC	Lymphocytes T	DAKO	1/50 ^e
Souris anti-BLA36. MC	Lymphocytes B activés et cellules dendritiques	MENARINI DIAGNOSTIC	1/300 ^e
Souris anti-humain CD79 α . MC	Lymphocytes B et cellules plasmatiques	DAKO	1/25 ^e
Souris anti-humain CD68. MC	Macrophages et cellules dendritiques	ARGENE SA (Serotec)	1/200 ^e
Souris anti-humain CD57. MC	Cellules Natural Killer (NK)	DAKO	1/50 ^e
Souris anti-humain Ki 67. MC. Clone MIB-1	Cellules en prolifération	DAKO	1/50 ^e

¹ : CD : Cluster of Differentiation ; BLA36 : human B-Lymphocyte Antigen 36 ; MC : monoclonal ; PC : polyclonal.

² : La dilution se fait dans une solution de PBS additionnée d'1% de BSA.

Le marquage est réalisé sur des coupes de tissu de 2 μ m préalablement fixé par le formol puis inclus dans la paraffine. Les coupes sont placées sur des lames silanées (Superfrost Plus, CML, Nemours, France) et séchée à 56°C pendant une nuit. L'étape de pré-traitement est la même quel que soit l'Ac utilisé. Elle consiste en un déparaffinage dans des solutions de toluène et d'acétone. Les lames destinées au marquage du Ki67, CD3, BLA36 et CD57 subissent un traitement de trypsination ayant pour objectif de démasquer les Antigènes (Ag). Elles sont immergées dans une solution saline de phosphate tamponné (PBS) à pH 7,6 et contenant 0,1% de trypsine (Merck, Darmstadt, Allemagne) pendant 6 min à 37°C puis rincées pendant 5 min à l'eau courante. Puis les lames sont placées dans 2 bacs remplis avec 250 mL de solution tampon de citrate (10 mmol/L) à pH 6 pour celles destinées au marquage du Ki67, CD3, BLA36 et CD57, et dans 2 bacs remplis avec 250 mL de solution tampon d'EDTA (0,1 mol/L) à pH 8 pour celles destinées au marquage du CD79 et CD68. Les récipients sont chauffés dans un four à micro-ondes à 700 W pendant 10 min. Puis, le niveau du fluide est vérifié et la solution tampon évaporée est complétée. Deux autres cycles de chauffage de 5 min sont réalisés de la même manière. On laisse ensuite refroidir les récipients pendant 30 min à température ambiante. La surface de traitement des lames est ensuite délimitée au Dako pen (Dako SA, Trappes, France). L'activité des peroxydases endogènes est inhibée par immersion des lames dans du méthanol contenant 2% de peroxyde d'hydrogène pendant 30 min. Ce traitement est suivi d'un rinçage à l'eau courante pendant 5 min. Les protéines non spécifiques sont bloquées par l'action pendant 5 min du PBS lacté (2g/L de tampon) additionné de Tween. L'étape suivante a pour objectif de limiter la fixation non spécifique des Ac secondaires. Elle consiste en l'incubation des lames dans du sérum normal de chèvre (Dako) dilué (1 :10) dans une solution de PBS contenant 1% d'albumine (Bovin

Serum Albumin (BSA)) pendant 20 min. L'Ac primaire (Cf. tableau 1) est ensuite appliqué pendant 60 min à température ambiante. Les coupes sont rincées dans une solution de PBS lacté additionnée de Tween et mises à incuber avec les Ac secondaires de chèvre anti-souris et anti-lapin biotinylés (Dako) dilués au 1 :100 dans une solution de PBS contenant 1% d'albumine pendant 35 min. Après un lavage avec la solution de PBS lacté additionnée de Tween, la streptavidine-biotine-péroxydase (Dako) diluée au 1 :100 dans une solution de PBS contenant 1% d'albumine est appliquée pendant 35 min. Les complexes immuns sont mis en évidence avec la diaminobenzidine (Sigma). Les coupes sont ensuite colorées à l'hématoxyline pendant 10 à 15 sec, puis rincées à l'eau courante, enfin, séchées et montées.

I.4- Interprétation histologique et immunophénotypique

Chacun des cas sélectionnés a été examiné et interprété selon les critères présentés dans les précédentes publications pour décrire le lymphome B riche en cellules T et les lymphomes de type Hodgkinien chez le chat [3, 15]. Nous avons défini dans un premier temps l'architecture de l'infiltration tumorale. Nous avons pu en différencier quatre formes : diffuse, nodulaire à diffuse, nodulaire et sclérose nodulaire, cette dernière se caractérisant par la présence de sclérose. Au sein de la population tumorale, nous avons distingué trois types de cellules atypiques : les cellules de type lymphocytaire et histiocytaire (L&H), les cellules de type Reed-Sternberg (RS) et les cellules de type lacunaire. Les cellules de type L&H se définissent comme de grandes cellules au noyau vésiculeux avec une chromatine peu abondante formant des agrégats en périphérie. Le cytoplasme éosinophilique est en quantité variable. Il existe également des formes bi ou plurinucléées. Ces cellules sont parfois qualifiées de cellules « popcorn » du fait de leur apparence. Les cellules de type Reed-Sternberg (RS) sont de grandes cellules binucléées ou au noyau bilobé avec un grand nucléole. Il existe des variants de cellules de type RS mono ou plurinucléées. Enfin, la troisième catégorie de cellules atypiques est représentée par les cellules de type lacunaire. Ce sont des variants des cellules de type RS caractérisés par un noyau replié ou multilobé et un espace lacunaire. La lacune résulte de la rétraction du cytoplasme lors de la fixation par le formol [15].

II- RESULTATS

II.1- Données cliniques

Les données cliniques disponibles concernant les 12 cas de cette étude sont résumées dans le tableau 2.

Tableau 2. Données cliniques de la population de chats étudiée.

CAS	AGE	RACE ¹	SEXE ²	TABLEAU CLINIQUE ³	DUREE DE SURVIE ⁴	STATUT DE L'ANIMAL ⁵	TRAITEMENT
1	10	Eu	MC	Néof ormation au niveau du NL rétro-mandibulaire gauche	ND	ND	ND
2	10	Eu	FC	Hypertrophie des NL mandibulaires +++, poplités +/- depuis 1 an et amaigrissement	1 mois	MDM	Corticothérapie (2mg/kg/j pendant 1 mois)
3	10	Ch	M	Adénomégalie généralisée	ND	ND	ND
4	11	Per	MC	Hypertrophie des NL sous maxillaires (+++) et axillaires	2 mois	Euthanasié	Absence de traitement
5	8	Eu	MC	Néof ormation rétro-mandibulaire droite + masse à l'entrée de la poitrine	ND	ND	ND
6	10	× Ch	MC	Masse interscapulaire	10 mois	VBS	Exérèse large
7	8	Eu	F	Polyadénomégalie	ND	ND	ND
8	1	Eu	MC	Néof ormation rétro-pharyngienne évoluant depuis 6 mois	8 mois	VBS	Exérèse
9	6	Eu	FC	Paroi vésicale très épaisse, hématurie depuis un mois	ND	Euthanasié	ND
10	9	Eu	MC	Ulcère éosinophilique région temporale	5 semaines	Euthanasié	Corticothérapie
11	1	Eu	F	ND	ND	ND	ND
12	10	FN	FC	Hypertrophie NL axillaire accessoire droit	18 mois	VBS	Exérèse + corticothérapie (0.5 mg/kg 2 fois/semaines)

¹ : **Eu** : Européen, **Ch** : Chartreux, **Per** : Persan, **FN** : Forêts norvégiennes

² : **M** : mâle, **MC** : mâle castré, **F** : femelle, **FC** : femelle castrée

³ : **NL** : nœud lymphatique

⁴ : après présentation initiale ; **ND** : non disponible

⁵ : **MDM** : mort de maladie, **VBS** : vivant en bonne santé.

Les animaux sont âgés de 1 à 11 ans (moyenne : 7,8 ans), 10 des 12 chats ont 6 ans ou plus. Cette population est composée de 7 mâles dont 6 castrés et de 5 femelles dont 3 castrées. Diverses races sont représentées dans les proportions suivantes : Européens : 8/12, Chartreux et croisé Chartreux : 2/12, Persan : 1/12, chat des Forêts norvégiennes : 1/12. Les tableaux cliniques nous ont été communiqués pour 11 des 12 cas. Seul celui du chat n°11 demeure indisponible. Néanmoins, nous connaissons la nature du prélèvement correspondant. Il s'agit d'un nœud lymphatique intestinal biopsié en région colique. Les tableaux cliniques disponibles, présentent une certaine homogénéité pour la moitié d'entre eux (5/11 : cas n°1, 2, 4, 5 et 8). Ils sont caractérisés par une hypertrophie des nœuds lymphatiques rétro-mandibulaires ou sous-maxillaires, atteinte pouvant être unilatérale (3/5 : cas n°1, 5 et 8) ou bilatérale (2/5 : cas n°2 et 4). Parmi ces animaux, 3 d'entre eux présentent en outre une hypertrophie des nœuds lymphatiques poplités (cas n°2), des nœuds lymphatiques axillaires (cas n°4), ou une masse à l'entrée de la poitrine (cas n°5). Deux des animaux étudiés (cas n°3 et 7) ont une polyadénomégalie généralisée. Le cas n°12 présente une hypertrophie limitée au nœud lymphatique axillaire accessoire. Des formes diverses ont été également rapportées (3/11) : une masse interscapulaire (cas n°6), un ulcère en région temporale (cas n°10) et une infiltration de la paroi vésicale (cas n°9).

Pour l'un des chats (n°2), divers examens complémentaires ont été réalisés juste avant le diagnostic histologique : une cytoponction à l'aiguille fine ayant conclu à une tumeur à cellules rondes, des radiographies du thorax ainsi qu'un dosage de la calcémie qui n'ont rien révélé d'anormal. Durant la période de suivi, un myélogramme et une échographie abdominale n'ont mis en évidence aucune infiltration métastatique.

Les informations concernant le suivi des animaux sont disponibles pour 6 d'entre eux (n°2, 4, 6, 8, 10 et 12). Trois chats (n°6, 8 et 12) ont subi un traitement chirurgical associé à une corticothérapie pour le cas n°12. Une corticothérapie seule a été entreprise pour les cas n°2 et 10. Aucun autre protocole de chimiothérapie n'a été réalisé.

La survie s'étend de 1 (chat n°2) à 18 mois (chat n°12). Bien que le cas n°2 soit mort 1 mois après le diagnostic, le vétérinaire référent rapporte la présence de la masse un an avant la réalisation de la biopsie. Trois des animaux étudiés (n°4, 9 et 10) ont été euthanasiés à la demande de leur propriétaire. Trois chats sont encore vivants et en bonne santé (n°6, 8 et 12) respectivement à 10, 8 et 18 mois après le diagnostic, sans récurrence après exérèse chirurgicale de la masse pour biopsie.

Le statut FeLV (Feline Leukemia Virus) a été testé pour deux des chats (n°8 et 10) par méthode ELISA et s'est révélé être négatif.

II.2- Données histologiques

L'ensemble des données histologiques est résumé dans le tableau 3.

Nous nous attarderons dans un premier temps sur les cas présentant une atteinte des nœuds lymphatiques (9/12 : n°1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 11 et 12). Pour chacun de ces prélèvements, l'architecture du tissu nodal est très largement remaniée. La prolifération des cellules lymphoïdes revêt une forme diffuse dans 3 cas sur 9 (n°7, 11 et 12), nodulaire à diffuse dans 3 cas sur 9 (n°2, 3 et 8), nodulaire dans un cas (n°1) et présente une forme de sclérose nodulaire dans un cas (n°5). L'architecture histologique n'a pu être déterminée pour l'un des prélèvements (n°4) réalisé par biopsie et comprenant trop peu de matériel pour pouvoir qualifier avec certitude le type d'infiltration.

Tableau 3. Description histologique : architecture et types cellulaires observés dans la population de chats étudiée.

Cas n°	Architecture ¹				Types cellulaires ²			
	SN	N	N à D	D	Lymphocytes	C type L+H	C type RS	C type lacunaire
1		×			++/+++	+++	++	++
2			×		++/+++	+++	++	++
3			×		++++	++	+	++
4		Non déterminée			+ / ++	+++ / +++++	+ / -	+++
5	×				+ / ++	++++	++++	++++
6 ³		Non déterminée			+ / ++ L matures ++++ C blastiques	++ / +++	+ / -	+ / -
7				×	+++ / +++++	++	+ / -	++
8			×		++++	+++	-	++
9 ³		Non déterminée			+ / ++	++++	+	+ / ++
10 ³		Non déterminée			+ / ++	++++	++	+
11				×	+++	+++	+	+
12				×	++++	+++	++	+++

¹ : **SN** : Sclérose Nodulaire – **N** : Nodulaire – **D** : Diffus

² : **C type L+H** : cellules de type Lymphocytaire et Histiocytaire - **C type RS** : cellules de type Reed-Sternberg - **C type lacunaire** : cellules de type lacunaire.

³ : cas correspondant à une atteinte extra-nodale.

La prolifération de cellules lymphoïdes est constituée de deux populations cellulaires distinctes en proportion variable selon les cas. La première est représentée par de petites cellules rondes bien différenciées, à fort rapport nucléo-cytoplasmique correspondant à des lymphocytes matures parfois associées à des lymphoblastes. Cette population est plus ou

moins abondante selon les cas. Elle constitue moins de 50% de la population cellulaire totale pour 3 cas sur 9 (cas n°4, 5 et 11) et plus de 50% de la population totale pour 6 cas sur 9 (cas n°1, 2, 3, 7, 8 et 12). La deuxième population est constituée de cellules atypiques revêtant diverses formes mais ayant comme caractéristiques communes d'être de grande taille et de présenter des atypies nucléaires (mitoses anormales, chromatine en amas, nucléoles...). Les cellules de type L&H ont été observées sur l'ensemble des prélèvements en proportion variable (Cf. annexe II, fig.1). Les cellules de type RS (Cf. annexe II, fig.2) sont absentes dans un des cas (n°8) et rares dans 2 autres cas (n°4 et 7). Elles sont en général moins abondantes que les cellules de type L&H excepté pour le cas n°5 où elles se rencontrent en proportion égale. Des cellules de type lacunaire ont été systématiquement observées (Cf. annexe II, fig.3), généralement en quantité moindre que les cellules de type L&H et en proportion équivalente aux cellules de type RS excepté dans 3 cas (n°4, 7 et 8) où elles sont plus abondantes. Il est à noter que le cas n°3 présente des cellules atypiques de plus petite taille que celles observées sur les autres prélèvements.

Les populations cellulaires rencontrées lors d'atteinte extra-nodale (cas n°6, 9 et 10) présentent certaines caractéristiques. La population de petits lymphocytes est relativement peu abondante (<50% de la population cellulaire totale). Le cas n°6 possède en outre une population de cellules blastiques très importante. Les cellules atypiques sont largement dominées par les cellules de types L&H tandis que les cellules de type RS et lacunaire sont rares.

II.3- Marquage immunohistochimique

Les résultats de l'immunomarquage sont résumés dans le tableau 4.

La population de petits lymphocytes est constituée d'un mélange de lymphocytes T (LT) CD3+ associés à des lymphocytes B (LB) CD79+. Dans 8 cas (n°1, 2, 3, 5, 6, 7, 8 et 12), la population de petits LB exprime également le BLA 36. Les proportions relatives de LB et de LT sont variables selon les cas. La population de LT est majoritaire dans 8 cas (n°1, 2, 3, 5, 7, 8, 9 et 12) (Cf. annexe II, fig.4) et minoritaire dans les 4 autres cas (n°4, 6, 10 et 11) (Cf. annexe II, fig.5). L'expression du CD57 par la population des petits lymphocytes est faible, voire absente, dans 2 cas (n°4 et 7). La répartition de ce marquage paraît hétérogène et semble parfois se cantonner au tissu lymphoïde vestigial (cas n°8). L'expression du Ki 67 par cette

population cellulaire n'a été observée que dans 4 cas (n°3, 4, 5 et 7). Elle y est particulièrement intense pour deux d'entre eux (cas n°3 et 7).

Tableau 4. Expression des différents marqueurs par les populations de petits lymphocytes et de cellules atypiques.

CAS	PETITS LYMPHOCYTES						CELLULES ATYPIQUES ¹					
	CD3	CD79	BLA36	CD68	CD57	Ki 67	CD3	CD79	BLA36	CD68	CD57	Ki 67
1	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+
2	+	+	+	-	+/-	-	-	+	+	-	-	+
3	+	+	+	-	+/-	+	+/-	+	+	-	-	+
4	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+
5	+	+/-	+	-	+/-	+	-	-	+	+	-	+
6	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+
7	+	+	+	-	+	+	-	+/-	+	-	-	+
8	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+
9	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+
10	+	+	-	-	+/-	-	-	+	+	-	-	+
11	+	+	-	-	+/-	-	-	+	+	-	-	+
12	+	+	+	-	+/-	-	-	+	+	-	-	+

¹ : sans distinction des différents types morphologiques.

Les grandes cellules atypiques sont uniformément négatives à l'immunomarquage du CD3 excepté le cas n°3 pour lequel certaines de ces cellules semblent exprimer ce marqueur. L'expression du BLA 36 est présente sur l'ensemble des prélèvements mais la proportion de cellules marquées est, quant à elle, variable. Son expression associée à celle du CD79 est observée dans 10 cas (n°1, 2, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 11 et 12). Au sein de la population de cellules atypiques, l'expression du Ki 67 est constante et d'intensité marquée (Cf. annexe II, fig.6). En outre, aucune des cellules n'exprime de marqueur CD57. Parmi la population de cellules atypiques, les trois sous-types distingués lors de l'examen histologique diffèrent quant à l'expression des marqueurs testés. Les cellules de type L&H expriment de manière constante, au moins pour une part d'entre elles, le BLA 36 (Cf. annexe II, fig.7). Ce marquage est le plus souvent associé à celui du CD79 (10 cas sur 12 : n°1, 2, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 11 et 12) (Cf. annexe II, fig.8). Les cellules de type RS et de type lacunaire n'expriment aucun des marqueurs utilisés dans cette étude.

L'expression du CD68 s'est révélée constante sur l'ensemble des cas et restreinte aux cellules dendritiques et macrophagiques excepté pour le cas n°5. En effet, ce dernier possède

une certaine proportion de cellules atypiques exprimant le CD68. Ces cellules présentent en outre, un aspect histiocytö de marqué. Ce critère morphologique associé à leur tableau immunophénotypique (CD68+, BLA36+ et CD79-) oriente notre diagnostic vers un sarcome histiocytaire.

III- DISCUSSION

Outre les marqueurs des lignées B et T (CD79, BLA36 et CD3) couramment employés dans l'analyse immunohistochimique des lymphomes félines, nous avons dans notre étude inclus trois autres marqueurs d'utilisation plus récente en médecine vétérinaire : le CD68, le CD57 et le Ki 67. L'usage systématique du CD68 nous a permis de faire un diagnostic de sarcome histiocytaire bien que l'aspect histologique du cas concerné (n°5) fût relativement proche de celui des onze autres cas. Le Ki 67 s'est révélé être ces dernières années un outils diagnostique et pronostique de plus en plus utilisé en médecine vétérinaire. Cependant son emploi dans l'analyse immunohistochimique des lymphomes félines n'a jusqu'à ce jour jamais été réalisé. Le Ki 67 a révélé chez le chien une corrélation entre l'intensité de son expression et le caractère péjoratif de la tumeur [7]. Une telle corrélation n'a pu être mise en évidence dans notre étude. En effet, ce marqueur a été fortement exprimé dans la population cellulaire tumorale et cela de manière homogène dans l'ensemble des douze cas. Cependant, les durées de survie rapportées sont extrêmement variables (1 à 18 mois). Ainsi, malgré un aspect immunophénotypique constant, les six chats pour lesquels nous disposons d'un suivi clinique présentent une grande hétérogénéité dans l'évolution de leur processus tumoral. L'intérêt du Ki 67 dans l'analyse immunohistochimique des lymphomes félines nécessite de plus amples investigations notamment des études sur des populations plus importantes permettant ainsi de confirmer ou non, une éventuelle corrélation entre l'intensité de son expression dans les cellules tumorales et le caractère péjoratif de la tumeur.

Chez l'homme, le lymphome B riche en cellules T (LBRCT) se définit par la présence d'une population minoritaire de cellules B monoclonales éparpillées sur un fond uniforme de lymphocytes T polyclonaux prépondérants [9]. L'examen histologique bien qu'insuffisant pour le diagnostic, apporte des éléments de suspicion. En effet, trois critères suggèrent un LBRCT : (1) une architecture diffuse, (2) une population minoritaire de grandes cellules atypiques et (3) la prépondérance de petits lymphocytes matures [9]. A l'examen immunohistochimique, les grandes cellules présentent un phénotype CD20+, MB2+, CD45+, CD15- et CD30-, reflétant leur appartenance à la lignée B (Cf. Tableau 5). Les petits lymphocytes sont majoritairement des lymphocytes T exprimant au moins l'un des marqueurs suivants : le CD45RO, le CD3 ou le CD43 (Cf. Tableau 5) [6]. La qualification de LBRCT implique une proportion de lymphocytes T supérieure à 50% de la population cellulaire totale [6, 9].

Tableau 5. Principaux Ac utilisés en médecine humaine pour la caractérisation immunophénotypique du LBRCT et des lymphomes Hodgkiniens.

Dénomination ¹	Spécificité ²
CD45 (Anti-LCA)	Antigène commun aux leucocytes
CD45RO (UCHL-1)	Cellules T
CD 43 (MT-1)	Cellules T
CD45 RA (MB1)	Cellules B et une sous-population de cellules T
CD45 R (4KB5)	Cellules B et une sous-population de cellules T
CD20 (L26)	Cellules B
MB2	Cellules B
CD 30 (Ber-H2)	Cellules de RS
CD 15 (Leu-M1)	Cellules de RS

¹ : CD : cluster of differentiation ; LCA : leucocyte common antigen.

² : RS : Reed-Sternberg.

Un certain nombre de cas dans notre étude sont conformes aux critères histomorphologiques du LBRCT, tels qu'ils ont été élaborés en médecine humaine. En effet, 6 de nos 12 cas (n°1, 2, 3, 7, 8 et 12) révèlent la présence de cellules atypiques éparpillées sur un fond de petits lymphocytes représentant plus de 50% de la population cellulaire totale (Cf. annexe II, fig.4). A l'examen immunohistochimique, la population de cellules atypiques exprime deux marqueurs de lymphocytes B : le BLA 36 et le CD79, tandis que la population de petits lymphocytes exprime soit le CD3, marqueur des lymphocytes T, soit le CD79 plus ou moins associé au BLA 36. Les cellules néoplasiques sont représentées par la population de grandes cellules de phénotype B. En effet, ces dernières ont révélé de nombreuses atypies : un noyau de grande taille, vésiculeux, à la chromatine en amas ainsi que la présence de figures de mitose restreintes à cette population cellulaire. L'expression du Ki 67, marqueur de prolifération, y est constante et d'intensité marquée (Cf. annexe II, fig.6). En revanche, les petits lymphocytes semblent réactionnels plutôt que néoplasiques. Ainsi, ces résultats sont compatibles avec le LBRCT tel qu'il a été décrit chez l'homme [6, 9]. Néanmoins, le chat présente certaines spécificités, notamment la présence du phénotype B en proportion variable dans la population de petits lymphocytes matures. Cette observation avait déjà été rapportée lors des précédentes études sur le LBRCT félin [3, 13]. De même, l'architecture diffuse de l'infiltration cellulaire classiquement décrite lors de LBRCT humain ne se révèle pas systématique chez le chat. En effet dans notre étude, les formes diffuses représentent un tiers des cas (2 cas sur 6 : n°7 et 12), les formes nodulaires à diffuses constituent la moitié des cas (3 sur 6 : n°2, 3 et 8), enfin le dernier cas (n°1) présente une architecture nodulaire. Ce dernier type d'infiltration avait été rapporté dans la moitié des cas dans une précédente étude [3].

Le tableau clinique, quant à lui, se caractérise chez l'homme par une lymphadénopathie périphérique dans 80% des cas. Les formes extra-nodales sont constituées par des atteintes

des tissus mous ou des lésions cutanées [6, 9, 12]. Dans la plupart des cas, les patients présentent un stade clinique III ou IV [6]. Dans notre étude, le tableau clinique présente certaines similitudes avec celui décrit en médecine humaine. En effet, l'ensemble des cas entrant dans le diagnostic de LBRCT est caractérisé par une atteinte nodale périphérique. Elle est localisée aux nœuds lymphatiques cervicaux dans la moitié des cas (3/6 : n°1, 2 et 8) et associée à une atteinte des nœuds lymphatiques poplités pour le cas n°2. L'un des chats présente une atteinte limitée au nœud lymphatique axillaire accessoire (n°12). Enfin, les deux derniers cas (n°3 et 7) révèlent une adénomégalie généralisée. Le stade du lymphome selon la classification de l'OMS a pu être déterminé pour trois de ces chats. Deux d'entre eux (n°8 et 12) présentent un stade I A alors que le cas n°2 est qualifié par un stade III B. Ces résultats diffèrent quelque peu de ceux précédemment publiés dans l'espèce féline [3, 13]. En effet, jusqu'à présent, seules des atteintes des nœuds lymphatiques localisés en région cervicale avaient été décrites. De plus, le comportement de ce type de lymphome paraissait peu agressif chez le chat ce qui n'a pas été le cas dans notre étude.

Ainsi les données histologiques, immunophénotypiques et cliniques nous ont permis de déterminer un premier groupe d'animaux comprenant six chats et répondant aux critères du LBRCT tels qu'ils ont été décrits chez l'homme puis chez le chat. Néanmoins, l'espèce féline présente certaines particularités notamment l'existence de lymphocytes B parmi la population de petits lymphocytes. Quant à notre étude, elle révèle une hétérogénéité dans le tableau clinique non décrite jusqu'alors.

Le deuxième groupe mis en évidence dans notre étude, se caractérise par la présence d'une population majoritaire de cellules de phénotype B (cas n°4, 6, 9, 10 et 11) (Cf. annexe II, fig.5). Les cellules néoplasiques sont de grande taille et positives au marquage du BLA 36 et du CD 79. Ces données sont compatibles avec un lymphome B diffus à grandes cellules qui présente dans notre étude, la particularité d'être associé à un contingent minoritaire de petits lymphocytes exprimant pour la plupart un phénotype B. seul le cas n°9 présente parmi sa population de petits lymphocytes, une majorité de lymphocytes T.

Ce deuxième groupe révèle le problème du diagnostic différentiel entre le LBRCT et le lymphome B diffus à grandes cellules. En effet, ces deux types de lymphomes sont extrêmement proches dans la classification. Selon la classification REAL établie chez l'homme, le LBRCT n'est qu'un sous-type de lymphome B diffus à grandes cellules, caractérisé par une population importante de lymphocytes T [2]. Ces données ont également été confirmées chez le chat [14]. Ainsi la signification clinique de la prépondérance des lymphocytes T dans le LBRCT reste encore mal connue. Plusieurs hypothèses en médecine

humaine ont été formulées sur l'origine de ce contingent de cellules T [6, 9]. L'une d'entre elles fait état d'une réponse immunitaire de l'hôte contre les cellules néoplasiques. En effet, il a été rapporté dans plusieurs études une tendance à la diminution de la réaction cellulaire T au fur et à mesure de la progression de la maladie et par conséquent, l'évolution d'un LBRCT en lymphome B diffus à grandes cellules [9]. Ces données ont également été observées en médecine vétérinaire [1, 13]. Ces deux lymphomes extrêmement proches dans la classification, le sont aussi dans leur comportement clinique. Chez l'homme, aucune différence concernant l'expression clinique n'a pu être mise en évidence entre le LBRCT et le lymphome B diffus à grandes cellules [6, 9]. Dans l'espèce féline, le LBRCT semble limitée à une atteinte nodale [3, 13], particularité que nous avons également observée dans notre étude. En revanche, le lymphome B diffus à grandes cellules est classiquement décrit lors d'atteintes extra-nodales [14]. De même, parmi les cinq chats entrant dans le diagnostic de lymphome B diffus à grandes cellules, trois présentent une atteinte extra-nodale (cas n°6, 9 et 10). Ainsi l'ensemble de nos cas se répartissent en deux groupes. L'un pour lequel le diagnostic de LBRCT semble le plus probable et le second répondant aux critères morphologiques et immunohistochimiques du lymphome B diffus à grandes cellules.

Cependant, nous devons également prendre en considération le lymphome Hodgkinien à prédominance lymphocytaire (LHPL), entité entrant dans le diagnostic différentiel du LBRCT. D'une manière générale chez l'homme, les lymphomes Hodgkiniens se caractérisent par une population hétérogène de cellules lymphoïdes comprenant une minorité de cellules tumorales dont la forme classique est la cellule de RS [10]. Le LHPL est un sous-type de lymphome Hodgkinien présentant des cellules tumorales de type L&H au sein d'une population prédominante de petits lymphocytes. Les cellules de RS sont généralement absentes de ce type de lymphome [2, 10]. Les confusions entre le LBRCT et LHPL sont nombreuses tant en médecine humaine [6, 9, 10], qu'en médecine vétérinaire [3, 15]. Or la distinction de ces deux entités est extrêmement importante car la conduite thérapeutique diffère selon les cas. En effet, un protocole de chimiothérapie adaptée à un lymphome Hodgkinien s'avère totalement inefficace dans le cas d'un LBRCT [6, 9]. Malheureusement, le diagnostic de certitude du LBRCT ou du LHPL est souvent difficile voire impossible sans l'aide de l'immunophénotypage et du génotypage. Malgré ces outils diagnostiques, la limite entre ces deux entités semble rester incertaine [10]. Chez l'homme, la présence de cellules L&H, bien que caractéristique du LHPL, a également été observée lors de LBRCT et le phénotype CD45+ et CD20+ des grandes cellules atypiques est commun aux deux lymphomes [6, 12]. Lors de LBRCT, des cellules possédant des critères morphologiques compatibles avec

des cellules de RS peuvent être observées. Néanmoins le diagnostic immunophénotypique des cellules de RS est absent dans les cas décrits de LBRCT [10, 11, 12]. Ces deux lymphomes extrêmement proches morphologiquement semblent étroitement liés. En effet, plusieurs cas de LBRCT ayant évolués à partir d'un LHPL ont été décrits en médecine humaine [12]. Cependant, il semble que ces deux entités présentent certains critères immunophénotypiques spécifiques. Les cellules de type L&H rencontrées lors de LBRCT sont positives au marquage du MB1 (CD45RA) et du 4KB5 (CD45R) contrairement à celles rencontrées lors de LHPL. Toutefois, ces résultats sont à nuancer du fait de l'existence de cas présentant le même phénotype immunologique tout en appartenant à des entités cliniques différentes [11]. Ainsi, il est probable que le principal secours dans la distinction du LBRCT et du LHPL provienne non pas du phénotype des grandes cellules mais de celui des petits lymphocytes. En effet, le marquage des petits lymphocytes par le CD57 apporte un élément immunophénotypique supplémentaire dans la distinction du LBRCT et du LHPL. Lors de LHPL, près de 20% des petits lymphocytes expriment le CD57 alors qu'ils ne sont que 4% dans le LBRCT. En outre dans le LHPL, les lymphocytes CD57+ ont tendance à se regrouper autour des cellules L&H [5]. Quant à la signification biologique de ces résultats, elle demeure encore inconnue. Ces données confirment la difficulté du diagnostic du LBRCT ainsi que l'existence d'une zone de flou entre les lymphomes Hodgkiniens et non Hodgkiniens.

En médecine vétérinaire, la distinction entre le LBRCT et le LHPL reste très approximative et les confusions entre ces deux lymphomes sont nombreuses [3, 15]. Ce diagnostic différentiel est confronté à deux principaux problèmes : la transposition à l'animal de données établies chez l'homme et l'existence d'un panel de marqueurs immunohistochimiques beaucoup moins vaste qu'en médecine humaine. Ainsi dans l'espèce féline, l'immunophénotypage ne permet guère d'aller au-delà de la distinction des lignées B et T, ce qui semble tout à fait insuffisant au diagnostic d'un LBRCT ou d'un LHPL. Les études concernant ces deux types de lymphomes chez le chat aboutissent à la mise en évidence d'un phénotype identique pour les cellules atypiques du LBRCT et pour les cellules L&H du LHPL [3, 15]. Pourtant, ces travaux concluent pour l'un à un LBRCT et pour l'autre à un lymphome de type Hodgkinien en s'appuyant uniquement sur les critères morphologiques des cellules observées. Dans le premier cas, les auteurs excluent le diagnostic de lymphome Hodgkinien sur l'absence de cellules présentant des critères morphologiques compatibles avec des cellules de RS. Or ce type de cellules n'est pas systématiquement présent lors de LHPL [11,12]. Dans le second cas, les auteurs concluent à des lymphomes de type Hodgkinien du fait de la présence de cellules ayant les aspects morphologiques de cellules L&H, de cellules de RS et

de cellules lacunaires. Cependant, la reconnaissance de telles cellules sur les seuls critères cytologiques est illusoire et source de nombreuses confusions [6]. En outre, la présence de cellules L&H ne permet en aucun cas d'exclure un LBRCT puisqu'elles sont classiquement décrites dans ce type d'affection [6, 12].

Dans notre étude, nous avons systématiquement observé des cellules possédant les critères morphologiques de cellules L&H. Des cellules de type RS sont également présentes chez les individus entrant dans le diagnostic de LBRCT. Néanmoins, en l'absence d'immunophénotypage précis de ces cellules, leur existence réelle ne peut être certifiée. Nos résultats confirment l'insuffisance des critères cytologiques dans la reconnaissance de ces types cellulaires. Quant au marquage des petits lymphocytes par le CD57, il s'est avéré faible ce qui, si les données de médecine humaine sont transposables au chat, est en faveur d'un LBRCT. Néanmoins, nous disposons de trop peu de recul sur l'utilisation de ce marqueur dans le cadre des LBRCT et des LHPL pour pouvoir accorder beaucoup de valeur à cette observation. Ce marqueur semble présenter des intérêts dans l'analyse immunohistochimique des lymphomes félines mais nécessite de plus amples investigations. Quoiqu'il en soit, notre conclusion de LBRCT n'est en aucun cas un diagnostic de certitude. Il s'agirait davantage dans notre étude, d'un critère descriptif que d'une entité clinique ou immunohistochimique définie.

CONCLUSION

Cette étude s'est attachée à décrire douze cas de lymphomes félines dont l'aspect histologique présentait de nombreuses similitudes. Cependant, l'emploi systématique de l'immunophénotypage nous a permis de distinguer trois formes de lymphomes : le sarcome histiocytaire, le LBRCT et le lymphome B diffus à grandes cellules. Ces résultats sont néanmoins à nuancer dans la mesure où nous ne disposons pas à ce jour des moyens nécessaires au diagnostic de certitude du LBRCT. Les confusions avec le LHPL, si cette entité existe chez le chat, sont certainement nombreuses, comme cela a été longtemps le cas en médecine humaine. Ainsi, l'immunohistochimie, d'utilisation récente en médecine vétérinaire, nécessite d'être plus largement approfondie pour offrir un outils diagnostique de premier ordre dans la différenciation des lymphomes félines.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- AQUINO S.M., HAMOR R.E., VALLI V.E., *et al.*
Progression of an orbital T-cell Rich B-cell Lymphoma to a B-cell Lymphoma in a dog.
Vet. Pathol., 2000, **37** : 465-469.
- 2- CHAN J.K.C., BANKS P.M., CLEARY M.L., *et al.*
A Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms Proposed by the International Lymphoma Study Group.
Am. J. Clin. Pathol., 1995, **103** : 543-560.
- 3- DAY M.J., KYAW-TANNER M., SILKSTONE M.A., *et al.*
T-cell-rich B-cell Lymphoma in the Cat.
J. Comp. Path., 1999, **120** : 155-167.
- 4- JACKSON M.L., WOOD S.L., MISRA V., *et al.*
Immunohistochemical Identification of B and T lymphocytes in Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded Feline Lymphosarcomas : Relation to Feline Leukemia Virus Status, Tumor Site, and Patient Age.
Can. J. Vet. Res., 1996, **60** : 199-204.
- 5- KAMEL O.W., GELB A.B., SHIBUYA R.B., *et al.*
Leu 7 (CD57) Reactivity Distinguishes Nodular Lymphocyte Predominance Hodgkin's Disease from Nodular Sclerosing Hodgkin's Disease, T-Cell-Rich B-Cell Lymphoma and Follicular Lymphoma.
Am. J. Pathol., 1993, **142** : 541-546.
- 6- KRISHNAN J., WALLBERG K., FRIZZERA G.
T-Cell-Rich Large B-Cell Lymphoma
Am. J. Surg. Pathol., 1994, **18** : 455-465.
- 7- LAPRIE C., ABADIE J., AMARDEILH M.F., *et al.*
MIB-1 immunoreactivity correlates with biologic behaviour in canine cutaneous melanoma.
Vet. Dermatol., 2001, **12** : 139-147
- 8- MORRISSON W.B.
Cancer in Dogs and Cats.
Baltimore : Williams & Wilkins, 1998. 550p.
- 9- RODRIGUEZ J., PUGH W.C., CABANILLAS F.
T-cell-rich B-cell Lymphoma.
Blood, 1993, **82** : 1586-1589.
- 10- RÜDIGER T., OTT G., OTT M.M., *et al.*
Differential diagnosis between classic Hodgkin's Lymphoma, T-Cell-Rich B-Cell Lymphoma, and Paragranuloma by paraffin immunohistochemistry.
Am. J. Surg. Pathol., 1998, **22** : 1184-1191.

- 11- SCHMIDT U., HERBST J., METZ K.A., *et al.*
How to differentiate between T-cell-rich B-cell Lymphoma and lymphocyte-predominant Hodgkin's disease. Evidence for the value of MB1 and 4KB5 immunostaining.
J. Pathol., 1996, **179** : 138-144.
- 12- SCHMIDT U., METZ K.A., LEDER L.-D.
T-cell-rich B-cell lymphoma and lymphocyte-predominance Hodgkin's disease : two closely related entities?
Br. J. Haematol., 1995, **90** : 398-403.
- 13- STEELE K.E., SAUNDERS G.K., COLEMAN G.D.
T-cell-rich B-cell Lymphoma in a Cat.
Vet. Pathol., 1997, **34** : 47-49.
- 14- VALLI V.E., JACOBS R.M., NORRIS A., *et al.*
The histologic classification of 602 cases of feline lymphoproliferative disease using the National Cancer Institute working formulation.
J. Vet. Diagn. Invest. , 2000, **12** : 295-306.
- 15- WALTON R.M., HENDRICK M. J.
Feline Hodgkin's-like Lymphoma : 20 cases (1992-1999).
Vet. Pathol., 2001, **38** : 504-511.

ANNEXES

ANNEXE I. Protocole de Description Clinique

IDENTIFICATION DE L'ANIMAL	
Nom	
Race	
Sexe (1)	Mâle - Mâle castré - Femelle - Femelle castrée
Date de naissance	

COMMÉMORATIFS	
Mode de vie (1)	Extérieur - Intérieur
Vaccination FeLV	
Tests	Résultats
FeLV / FIV	Type de test

TABLEAU CLINIQUE		
Date et motif de consultation		
Anomalies de l'examen clinique		
Examens complémentaires	Type d'examens effectués	
	Anomalies observées	

FORME DU LYMPHOME (2)	

LYMPHOME DE FORME NODALE (3)	
Nombre de nœuds lymphatiques (NL) atteints	
Nom du (des) NL atteint(s)	
Taille (1)	Normale (N) - $N < \text{taille} \leq N \times 2$ - $N \times 2 \leq \text{taille}$
Vitesse de développement de l'hypertrophie (1)	Lente et progressive - rapide - inconnue
Aspect à la palpation	

STADE CLINIQUE DU LYMPHOME (4)

TRAITEMENT (protocole)	
Chirurgie	
Chimiothérapie	
Corticothérapie seule	
Autres (1)	Radiothérapie - absence de traitement
Résultats	

EVOLUTION		
Modalité de réponse au traitement initial (1)(5)	RC - RP - absence de réponse	
Durée de rémission (6)		
Nombre de récurrences		
Modalité de réponse aux traitements suivants et durée de rémission		
Durée du suivi après présentation initiale (7)		
Examens complémentaires réalisés pendant la période de suivi	Type d'examens + délai après présentation initiale	
	Anomalies observées	
Durée de survie après présentation initiale		
Cause du décès		

Annexe du protocole de description clinique

(1) : Entourer la bonne proposition.

(2) : Correspondance entre le tableau clinique et la forme du lymphome :

TABLEAU CLINIQUE	FORME DU LYMPHOME
Infiltration focale , multifocale ou diffuse du tractus digestif, +/- atteinte des NL mésentériques, +/- infiltration hépatique et/ou rénale.	LYMPHOME DIGESTIF
Infiltration des NL médiastinaux avec épanchement pleural.	LYMPHOME MEDIASTINAL
Atteinte (hypertrophie) uni ou bilatérale des reins	LYMPHOME RENAL
Infiltration de plusieurs NL périphériques, +/- infiltration hépatique et/ou splénique, +/- infiltration médullaire tardive	LYMPHOME MULTICENTRIQUE
Infiltration d'un ou plusieurs NL périphériques.	LYMPHOME NODAL
Atteinte du système nerveux central ou périphérique, atteinte oculaire, nasale...	LYMPHOME EXTRA-GANGLIONNAIRE

(3) : A remplir si lymphome nodal.

(4) : Stade clinique du lymphome selon classification de l'OMS :

Atteinte d'un NL ou du tissu lymphoïde de d'un seul organe (moelle non comprise).	STADE I
Atteinte des NL d'une région anatomique avec ou sans atteinte d'un site extra-ganglionnaire.	STADE II
Atteinte ganglionnaire généralisée.	STADE III
Infiltration splénique et/ou hépatique avec ou sans les stades I à III.	STADE IV
Infiltration sanguine et médullaire avec ou sans les stades I à IV.	STADE V

Pour chacun des stades, il existe un **sous-stade A** ou **B**. Le **sous-stade A** correspond à une absence de signes systémiques alors que le **sous-stade B** correspond à la présence de signes systémiques.

(5) : Modalités de réponse au traitement :

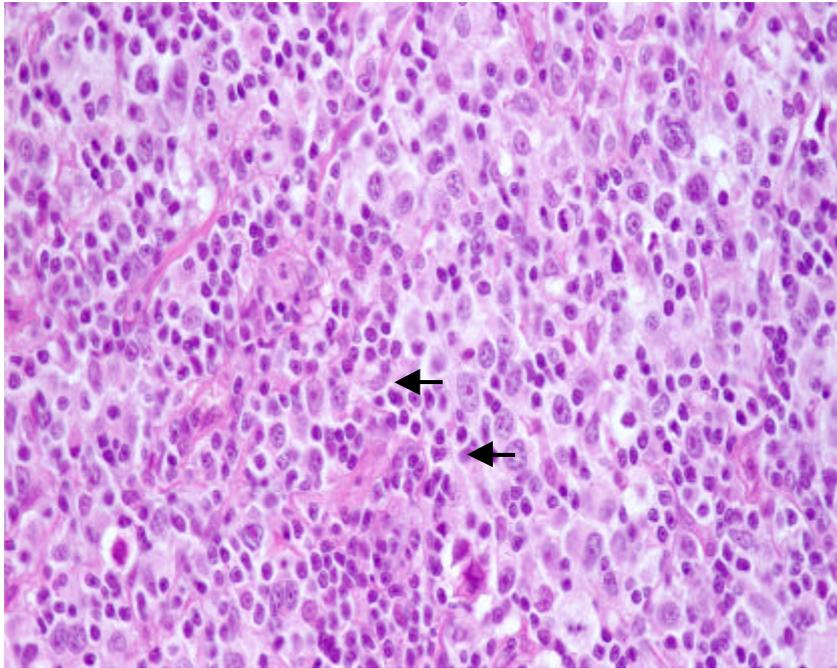
- * Rémission complète (RC) : disparition complète de tous les signes cliniquement visibles attribués au lymphome pendant au moins 3 semaines.
- * Rémission partielle (RP) : réduction d'au moins 50 % de la taille des tumeurs et des signes cliniques attribués au lymphome pendant au moins 3 semaines.
- * Absence de réponse : réduction de la taille des tumeurs < 50% ou augmentation de la taille des tumeurs ou rémission de durée < 3 semaines.

(6) : Durée de rémission : durée mesurée à partir du moment où l'on atteint la meilleure réponse jusqu'à la récurrence ou la progression cliniquement détectable de la maladie.

(7) : Présentation initiale : 1^{ère} consultation ayant amené à une suspicion de lymphome.

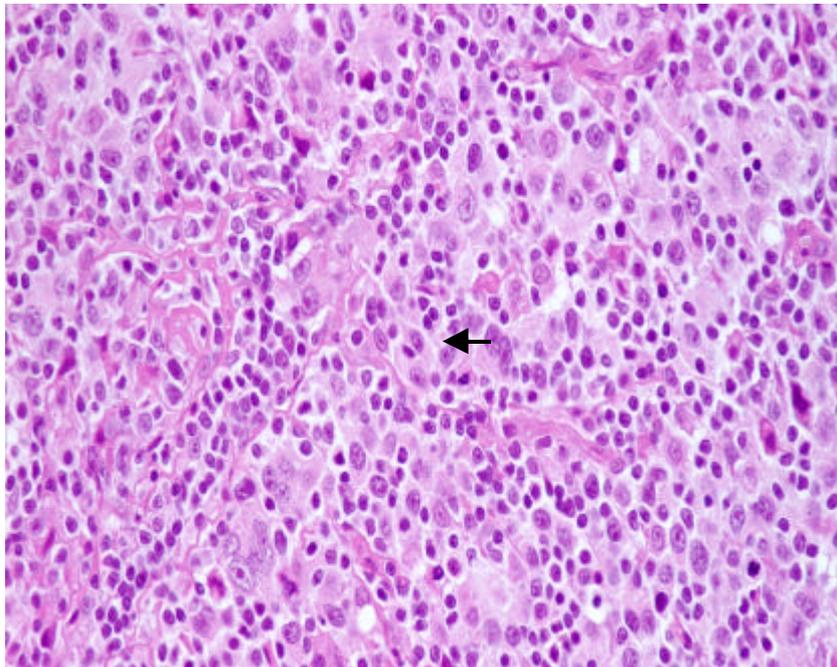
ANNEXE II

Figure 1. Cellules de type L&H sur un fond de petits lymphocytes.



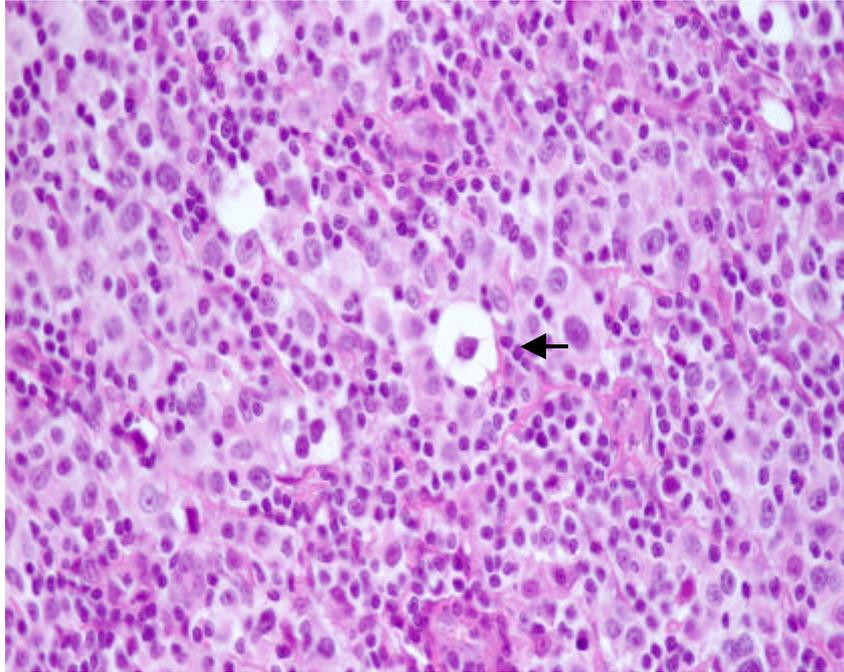
Section d'un nœud lymphatique provenant du cas n°1. Les cellules de type L&H (flèches) se caractérisent par leur noyau vésiculeux à la chromatine peu abondante formant des agrégats en périphérie. HE. $\times 400$.

Figure 2. Cellules de type RS sur un fond de petits lymphocytes.



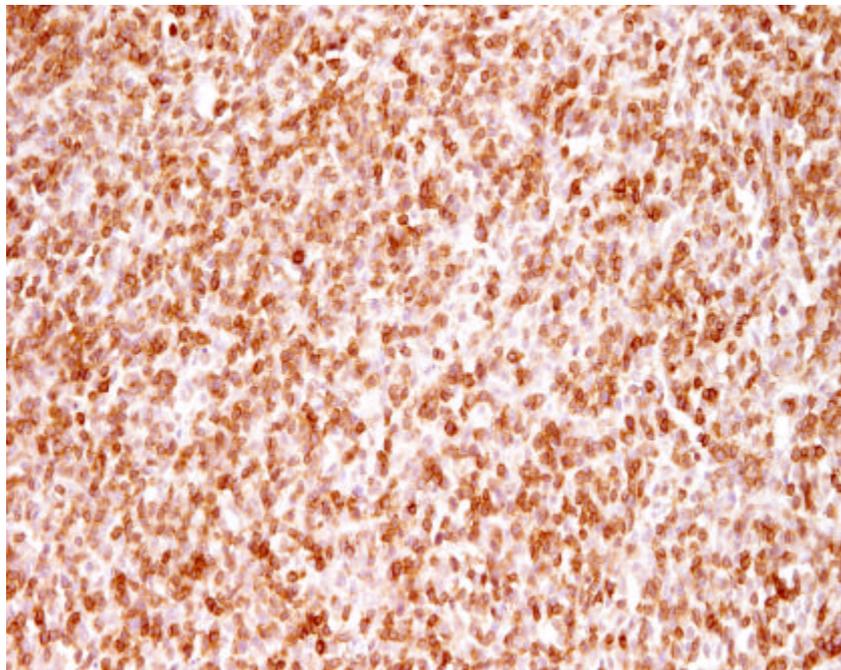
Section d'un nœud lymphatique provenant du cas n°1. Les cellules de type RS (flèche) sont des cellules binucléées avec un grand nucléole. HE. $\times 400$.

Figure 3. Cellules de type lacunaire sur un fond de petits lymphocytes.



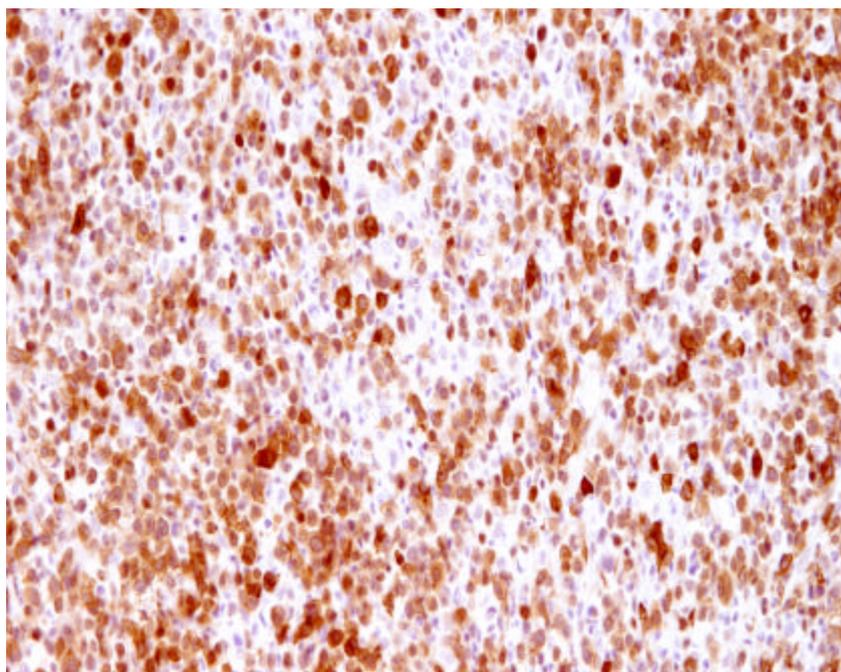
Section d'un nœud lymphatique provenant du cas n°1. Les cellules de type lacunaire (flèche) sont des variants des cellules de type RS caractérisés par un espace lacunaire. HE. ×400.

Figure 4. Prépondérance des lymphocytes T dans l'infiltration tumorale.



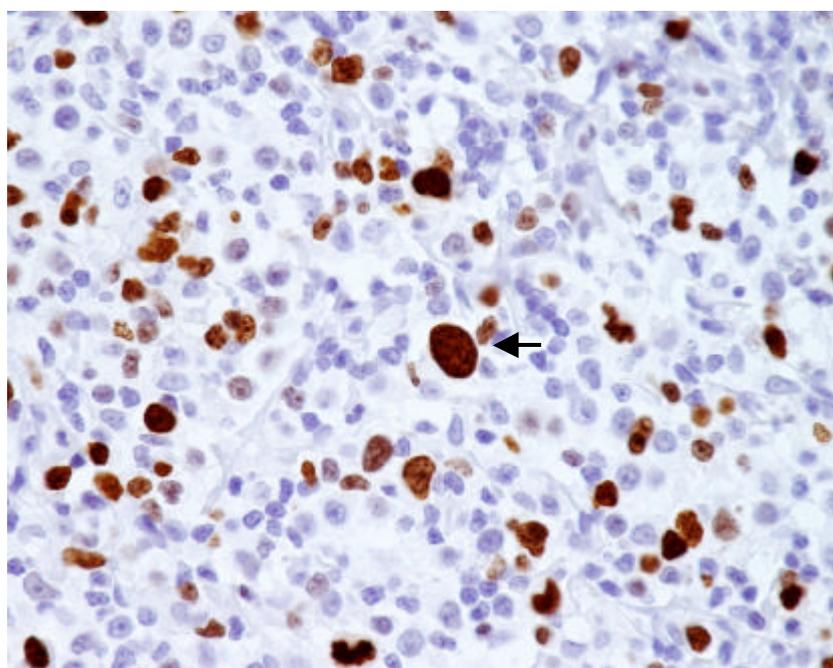
Section d'un nœud lymphatique provenant du cas n°12. Mise en évidence des lymphocytes T par l'utilisation de l'Ac anti-CD3. La majorité des petits lymphocytes exprime ce marqueur tandis que la population de cellules atypiques demeure non marquée. Anti-CD3. ×200.

Figure 5. Prépondérance des lymphocytes B dans l'infiltration tumorale.



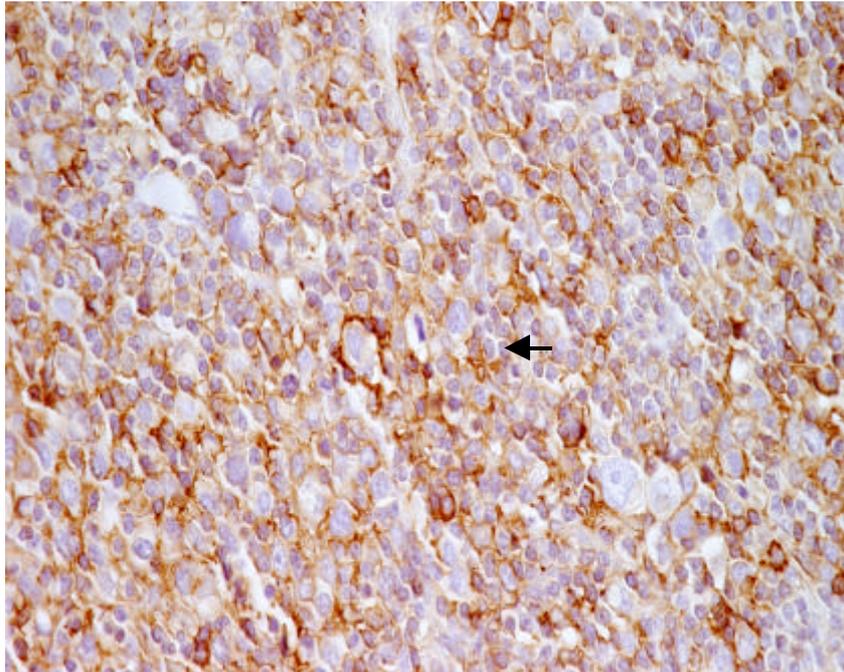
Section d'un nœud lymphatique provenant du cas n°6. Mise en évidence des lymphocytes B par l'utilisation de l'Ac anti-CD79. La majorité des petits lymphocytes exprime ce marqueur démontrant leur appartenance à la lignée B. Anti-CD79. $\times 200$.

Figure 6. Expression du Ki 67 par les cellules atypiques.



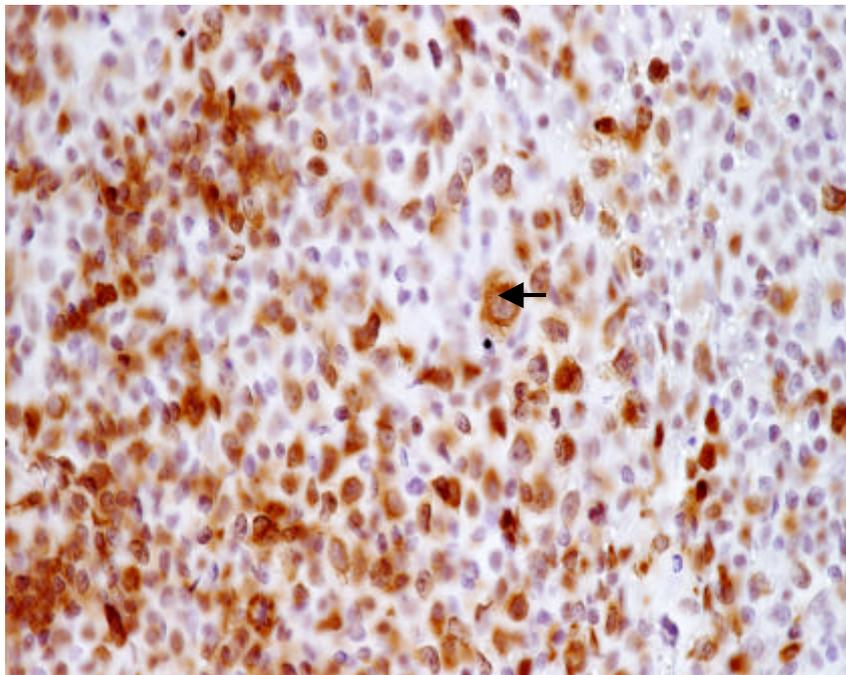
Section d'un nœud lymphatique provenant du cas n°1. Mise en évidence de la prolifération cellulaire par l'utilisation de l'Ac anti-Ki 67. L'expression de ce marqueur est marquée dans les grandes cellules atypiques (flèche). Anti-Ki 67. $\times 400$.

Figure 7. Expression du BLA36 par les cellules L&H.



Section d'un nœud lymphatique provenant du cas n°1. Mise en évidence du phénotype B par l'utilisation de l'Ac anti-BLA36. Une certaine proportion de cellules de type L&H révèle une expression membranaire de ce marqueur (flèche). Anti-BLA36. $\times 400$.

Figure 8. Expression du CD79 par les cellules L&H.



Section d'un nœud lymphatique provenant du cas n°1. Mise en évidence du phénotype B par l'utilisation de l'Ac anti-CD79. Quelques cellules de type L&H présentent une expression nucléaire de ce marqueur (flèche). Anti-CD79. $\times 400$.

Toulouse 2002

NOM : BERGEROT

PRENOM : Céline

TITRE : Le lymphome B riche en cellules T chez le chat : étude clinique, histologique et immunophénotypique de 12 cas.

RESUME :

Dans le but de définir les caractéristiques cliniques, histologiques et immunophénotypiques du lymphome B riche en cellules T (LBRCT) chez le chat, nous avons analysé 12 cas de lymphomes félines présentant une composition cellulaire polymorphe incluant un mélange de petites et grandes cellules lymphoïdes. Malgré une apparence histologique homogène, les données immunohistochimiques nous ont permis de différencier trois types de lymphomes : le sarcome histiocytaire (n=1), le LBRCT (n=6) et le lymphome B diffus à grandes cellules (n=5). Le tableau clinique du LBRCT se caractérise par une atteinte nodale périphérique localisée aux nœuds lymphatiques cervicaux (n=3), au nœud lymphatique axillaire accessoire (n=1) ou généralisée à l'ensemble des nœuds lymphatiques périphériques (n=2). Les durées de survie sont extrêmement variables et s'étendent sur 1 à 18 mois. L'aspect microscopique révèle un remaniement important de l'architecture du nœud lymphatique par une infiltration : diffuse (n=2), nodulaire à diffuse (n=3) ou nodulaire (n=1). La population cellulaire quant à elle, est caractérisée par la présence de grandes cellules atypiques éparpillées sur un fond uniforme de petits lymphocytes représentant plus de 50% de la population cellulaire totale. A l'examen immunohistochimique, les cellules atypiques expriment deux marqueurs de lymphocytes B : le BLA36 et le CD79, tandis que la population de petits lymphocytes exprime soit le CD3 (marqueur des lymphocytes T) soit le CD79. Ces données présentent des similitudes avec les précédentes études sur le LBRCT chez le chat. Néanmoins ces résultats sont à nuancer dans la mesure où nous ne disposons pas à l'heure actuelle en médecine vétérinaire des moyens nécessaires à la différenciation du LBRCT et du lymphome Hodgkinien à prédominance lymphocytaire.

MOTS-CLES : Lymphome – Histologie – Immunohistochimie – Chat – Carnivore.

TITLE : T-cell-rich B-cell lymphoma in the cat : clinical, histological and immunohistochemical study of 12 cases.

ABSTRACT :

In order to determine clinical, histological and immunohistochemical characteristics of T-cell-rich B-cell Lymphoma (TCRBCL) in the cat, we analysed 12 cases of feline lymphomas characterized by a polymorphic cell composition, including a variable mixture of small and large lymphoid cells. Despite a homogeneous histological appearance, immunohistochemical features allowed us to distinguish three types of lymphomas : the histiocytic sarcoma (n=1), the TCRBCL (n=6) and the diffuse large B-cell lymphoma (n=5). Clinical features of TCRBCL are characterized by an enlargement of peripheral lymph nodes localized to cervical lymph nodes (n=3), accessory axillary lymph node (n=1) or generalized to the whole peripheral lymph nodes (n=2). Survival times are extremely variable and spread on 1 to 18 months. Microscopically there is effacement of normal lymph node architecture by a diffuse (n=2), a nodular to diffuse (n=3) or a nodular (n=1) infiltration. The cell population is characterized by the presence of scattered atypical large cells within a uniform background of small lymphocytes representing more than 50% of the whole cell population. At the immunohistochemical examination, atypical cells express two B-cells markers : BLA36 and CD79, whereas the small lymphocytes express either CD3 (T-lymphocytes marker) or CD79. These features present similarities with the previous studies on TCRBCL in the cat. Nevertheless, these findings must be moderated insofar as we don't have at the present time in veterinary medicine, the means to distinguish TCRBCL from lymphocyte-predominant Hodgkin's disease.

KEY-WORDS : Lymphoma – Histology – immunohistochemistry – Cat – Carnivore.