
LES LYMPHOMES MALINS CANINS : INFILTRATION MÉDULLAIRE ET PRONOSTIC ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE ET ÉTUDE RÉTROSPECTIVE MENÉE SUR 47 CAS

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement en 2006
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Laure, Alix, Sylvie POUJOL
Née, le 10 septembre 1980 à SAINT-MARTIN (971)

Directeur de thèse : Mlle le Docteur Catherine TRUMEL

JURY

PRESIDENT :
M. Francis LE GAILLARD

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :
Mlle Catherine TRUMEL
Mme Nathalie BOURGES-ABELLA

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

MEMBRE INVITE :
M. Didier LANORE

Docteur vétérinaire

Nous adressons des remerciements tout particuliers,

A notre président de thèse,

A monsieur le Professeur Francis LE GAILLARD

Professeurs des Universités
Praticiens hospitalier
Biochimie- Biologie médicale

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

A notre jury de thèse,

A mademoiselle le Docteur Catherine TRUMEL

Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Pathologie médicale des équidés et carnivores

Qui nous a guidés tout au long de ce travail.
Pour sa disponibilité, ses conseils et son soutien depuis plusieurs années.
Sincère reconnaissance.

A madame le Docteur Nathalie BOURGES-ABELLA

Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Histologie-Anatomie patologique

Qui nous fait l'honneur de participer à notre jury de thèse.
Sincères remerciements.

A monsieur le Docteur Didier LANORE

Docteur vétérinaire

Qui nous a confié ce travail et nous a guidé dans son élaboration.
Sincères remerciements.

A mes parents.

Pour leur amour et leur soutien inconditionnels.

A ma famille.

A Lionel.

A Elodie.

A Anouk, Elodie, Camille et Pierre.

A tous mes amis.

TABLE DES MATIERES

I. EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE DES LYMPHOMES MALINS	11
I.1. FREQUENCE ET INCIDENCE.....	11
I.2. AGE	11
I.3. SEXE.....	11
I.4. RACE.....	12
II. ETIOLOGIE DES LYMPHOMES MALINS	12
II.1. FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX	12
II.1.1. Régime alimentaire	12
II.1.2. Pesticides et pollution industrielle	12
II.1.3. Autres facteurs	13
II.2. ETIOLOGIE VIRALE	13
II.3. SUPPORT GENETIQUE	13
III. CLASSIFICATION DES LYMPHOMES MALINS	14
III.1 CLASSIFICATION ANATOMIQUE	14
III.2. CLASSIFICATION HISTOLOGIQUE ET IMMUNOPHENOTYPIQUE	14
III.2.1. Working formulation	15
III.2.2. Classification de Kiel	17
III.2.3. Classification de Kiel actualisée	18
III.2.4 Particularités des lymphomes canins	18
III.2.4.1. Architecture	18
III.2.4.2. Grade histologique	19
III.2.4.3. Immunophénotype.....	19
III.2.4.4. Sous-types morphologiques	19
IV. DIAGNOSTIC DES LYMPHOMES MALINS CANINS	20
IV.1. PRESENTATION CLINIQUE	20
IV.1.1. Lymphome multicentrique	20
IV.1.2. Lymphome digestif.....	20
IV.1.3. Lymphome médiastinal.....	20
IV.1.4. Lymphome extra nodal	21
IV.1.4.1. Lymphome cutané.....	21
IV.1.4.2. Lymphome oculaire	21
IV.1.4.3. Lymphome neurologique	21
IV.2. DIAGNOSTIC CLINIQUE	22
IV.2.1. Diagnostic différentiel	22
IV.2.2. Bilan d'extension et stade clinique.....	22
IV.2.3. Examens complémentaires	23
IV.2.3.1. Analyses hématologiques.....	23
IV.2.3.2. Analyses biochimiques	24
IV.2.3.3. Imagerie	24
IV.2.3.4. Autres examens complémentaires.....	25
IV.3. DIAGNOSTIC CYTOLOGIQUE ET HISTOLOGIQUE	25

IV.3.1. Diagnostic cytologique	25
IV.3.2. Diagnostic histologique	26
IV.3.3. Immunophénotypage	26
IV.4. AUTRES METHODES DIAGNOSTIQUES	27
IV.4.1. Réaction de Polymérisation en chaîne (PCR)	27
IV.4.2. Activité de la Télomérase	28
V. PRONOSTIC DES LYMPHOMES MALINS CANINS	28
V.1. FACTEURS EPIDEMIOLOGIQUES ET CLINIQUES	28
V.1.1. Facteurs épidémiologiques	29
V.1.2. Facteurs cliniques	29
V.1.2.1. Stade clinique	29
V.1.2.2. Sous-stade clinique	30
V.1.2.3. Forme clinique	30
V.2.1. Grade histologique	30
V.2.2. Immunophénotype	31
V.2.3. Sous-types cellulaires	31
V.3. MARQUEURS DE PROLIFERATION	31
V.3.1. Marqueurs pronostiques reconnus	31
V.3.1.1. Index d'apoptose	31
V.3.1.2. AgNORs	32
V.3.1.3. Temps de doublement potentiel	32
V.3.2. Marqueurs pronostiques controversés	32
V.3.2.1. Index mitotique	32
V.3.2.2. Index Ki-67	32
V.3.2.3. PCNA	33
V.3.3. Nouveaux marqueurs pronostiques	33
V.3.3.1. Activité de la thymidine kinase	33
V.3.3.2. Glycoprotéine P	33
V.3.3.3. Alpha-1 glycoprotéine acide	34
V.3.3.4. MMP 2 et MMP 9	34
V.4. ANOMALIES CHROMOSOMIQUES	35
V.5. FACTEURS THERAPEUTIQUES	35
V.5.1. Corticothérapie	35
V.5.2. Réponse au traitement et antécédents	35
V.6. EN PRATIQUE	36
VI. TRAITEMENT DES LYMPHOMES CANINS.	37
VI.1. CHIMIOOTHERAPIE	37
VI.1.1. Principe et terminologie	37
VI.1.2. Monochimiothérapie	38
VI.1.2.1. Corticoïdes	38
VI.1.2.2. Doxorubicine	38
VI.1.2.3. L-asparaginase	39
VI.1.2.4. Lomustine	39
VI.1.2.5. Mitoxantrone	39
VI.1.3. Polychimiothérapie	40
VI.1.3.1. Protocole de Cotter dit COP	40

VI.1.3.2. Protocole COAP.....	41
VI.1.3.3. Protocoles ACOPA 1 et 2	41
VI.1.3.4. Protocole de type COPLA.....	42
VI.1.3.5. Protocole MADISON-WISCONSIN	44
VI.1.3.6. MOPP.....	46
VI.1.3.7. Dacarbazine et Doxorubicine.....	46
VI.1.4.1. Induction et Maintenance.....	47
VI.1.4.2. Réinduction	47
VI.2. IMMUNOTHERAPIE	48
VI.3. CHIRURGIE.....	48
VI.4. RADIOTHERAPIE.....	49

DEUXIEME PARTIE : ETUDE RETROSPECTIVE 51

I. MATERIEL ET METHODES 51

I.1. CRITERES D'INCLUSION.....	51
I.2. AUTRES PARAMETRES.....	52
I.3. MATERIEL	52
<i>I.3.1. Diagnostic cytologique et bilan d'extension</i>	52
<i>I.3.2. Analyses histologiques</i>	52
I.4. METHODES.....	53
<i>I.4.1. Réalisation du diagnostic</i>	53
I.4.1.1. Examen cytologique :	53
I.4.1.2. Examen histologique.....	53
<i>I.4.2. Réalisation du bilan d'extension:</i>	53
I.4.2.1. Myélogramme	53
I.4.2.2. Echographie abdominale.....	53
I.4.2.3. Radiographie du thorax.....	54
<i>I.4.3. Suivi des cas</i>	54

II. RESULTATS 55

II.1. DESCRIPTION DE LA POPULATION	55
<i>II.1.1. Répartition selon l'age</i>	55
<i>II.1.2. Répartition selon le sexe</i>	55
<i>II.1.3. Répartition selon la race</i>	55
II.2. RESULTATS CONCERNANT LE LYMPHOME	56
<i>II.2.1. Diagnostic</i>	56
<i>II.2.2. Stade clinique et sous-stade</i>	57
II.2.2.1. Généralités	57
II.2.2.2. Stade en fonction du type morphologique	58
<i>II.2.3. Traitement</i>	58
II.2.3.1. Généralités	58
II.2.3.2. Traitement en fonction du stade	59
<i>II.2.4. Survie</i>	59
II.2.4.1. Généralités	59
II.2.4.2. Survie en fonction du stade et du sous-stade clinique	59

III. DISCUSSION	61
III.1. DISCUSSION SUR LES RESULTATS DE L'ETUDE	61
<i>III.1.1. Caractéristiques épidémiologiques de la population</i>	61
III.1.1.1. Répartition selon l'âge	61
III.1.1.2. Répartition selon le sexe	61
III.1.1.3. Répartition selon la race	61
<i>III.1.2. Diagnostic et bilan d'extension</i>	61
III.1.2.1. Type morphologique	61
III.1.2.2. Stade clinique	62
III.1.2.3. Sous-stade clinique.....	63
<i>III.1.3. Traitement et survie</i>	63
III.2. DISCUSSION SUR LES IMPERFECTIONS DE L'ETUDE	65
<i>III.2.1. Le manque d'information</i>	65
<i>III.2.2. La représentativité de la population</i>	65
<i>III.2.3. L'hétérogénéité des groupes</i>	66
III.3. DISCUSSION SUR LES QUALITES DE L'ETUDE	66
III.4. PERSPECTIVE D'ETUDE	66

TABLE DES ILLUSTRATIONS

FIGURES

Figure 1: Répartition des lymphomes selon la race.	56
Figure 2: Répartition des lymphomes canins selon leur phénotype.....	57
Figure 3: Répartition des lymphomes canins selon le stade clinique.....	58
Figure 4: Survie médiane en fonction du stade clinique.	60
Figure 5: Survie médiane sous COPLA en fonction du stade clinique.....	65

TABLEAUX

Tableau 1: Répartition des lymphomes selon la WF adaptée aux lymphomes canins.....	16
Tableau 2: Répartition des lymphomes selon la classification de Kiel adaptée aux lymphomes canins.....	17
Tableau 3: Répartition des lymphomes selon la classification de Kiel actualisée adaptée aux lymphomes canins.	18
Tableau 4: Principaux diagnostics différentiels des lymphomes malins canins (d'après Vail, 2001).....	22
Tableau 5: Stades cliniques des lymphomes malins canins (OMS, 1980).....	23
Tableau 6: Exemples de marqueurs utilisés en immunohistochimie.	26
Tableau 7: Principaux facteurs pronostiques (d'après Ettinger, 2003).....	36
Tableau 8: Terminologie.	38
Tableau 9: Protocole COP 1 (Cotter, 1963).	41
Tableau 10 : Protocole COP 2 (Madewell, 1975).	41
Tableau 11: Protocole COPLA (ENVV)	43
Tableau 12: Protocole VELCAP-L (Zeeman <i>et al.</i> , 1998).....	43
Tableau 13: Comparaison de 2 protocoles de l'université Madison-Wisconsin sans maintenance (Chun <i>et al.</i> , 2000 ; Garrett <i>et al.</i> , 2002).	45
Tableau 14: Protocole MOPP (Rassnick <i>et al.</i> , 2002).....	46
Tableau 15: Protocoles de chimiothérapie les plus utilisés (d'après Ettinger, 2003).	47
Tableau 16: Principaux protocoles de réinduction (d'après Ettinger, 2003).....	48
Tableau 17: Comparaison des durées de survie en fonction des stades cliniques et du traitement.....	59
Tableau 18: Comparaison des durées de survie des lymphomes traités par COPLA.	60
Tableau 19: Répartition des lymphomes selon leur type morphologique dans différentes études.....	62
Tableau 20: Répartition des lymphomes selon leur stade clinique dans différentes études. ...	62
Tableau 21: Répartition des lymphomes selon leur sous stade clinique dans différentes études.	63
Tableau 22: Survie médiane dans différentes études.	63
Tableau 23: Survie médiane en fonction du stade clinique.....	64
Tableau 24: Répartition des traitements en fonction du stade clinique.....	64
Tableau 25: Nombre de cas et survie médiane sous COPLA en fonction du stade clinique. ..	64
Tableau 26: Liste des cas de lymphomes malins canins (2000-2005).....	68

INTRODUCTION

Le lymphome est l'hémopathie maligne du chien la plus fréquente, représentant 83 % à 90% des hémopathies malignes et 8 à 20 % de l'ensemble des tumeurs canines (Couto, 1985 ; Moulton et Harvey, 1990 ; Han *et al.*, 1994, Ogilvie et Moore, 1997 ; Novotny, 1998).

Le terme *lymphome* (*lymphome malin* ou *lymphosarcome*) désigne les cancers solides des tissus lymphopoiétiques (nœuds lymphatiques, rate, thymus ou foie) autres que la moelle osseuse tandis que le terme *leucémie* se réfère aux proliférations malignes primitives des différentes lignées de la moelle osseuse.

L'incidence annuelle des lymphomes canins est relativement élevée : 13 à 33 nouveaux cas pour 100 000 chiens (Teske, 1994). L'étiologie exacte n'a cependant pas été identifiée malgré les différentes hypothèses étiologiques rapportées telles que la contamination environnementale, l'exposition aux champs magnétiques, l'infection rétrovirale et les dysfonctionnements immunitaires (Seman *et al.*, 1967; Hayes *et al.*, 1991 ; Reif *et al.*, 1995; Ghernati *et al.*, 1999; Gavazza *et al.*, 2001).

Le lymphome malin multicentrique, à point de départ ganglionnaire, originaire des cellules lymphoïdes B, T ou NK (Natural Killer), est le plus rencontré chez le chien. La tumeur atteint en premier lieu les nœuds lymphatiques, puis le foie, la rate et enfin la moelle osseuse. De même que pour les autres processus tumoraux, un bilan d'extension est indispensable afin d'évaluer le stade de la maladie cancéreuse. Ce bilan d'extension comprend une échographie abdominale, des radiographies thoraciques et un myélogramme.

En l'absence de traitement, le lymphome est généralement fatal en 60 jours (Rosenthal *et al.*, 1990 et Teske, 1994 b). Mais le lymphome est une des tumeurs du chien qui répond le mieux à la chimiothérapie avec un taux de rémission clinique de 75 à 90 % et une durée médiane de survie de 250 à 300 jours (Madewell *et al.*, 1985, Rosenthal *et al.*, 1990 et Teske *et al.*, 1994). Cependant l'écart entre les durées de survie est grand et certains chiens ont des durées de survie très courtes malgré des thérapeutiques agressives. Dans ces cas, les dépenses et les efforts nécessaires à la mise en place d'une chimiothérapie sont difficiles à justifier. C'est pourquoi le clinicien doit bien connaître et maîtriser les facteurs pronostiques des lymphomes canins afin de sélectionner les cas susceptibles de répondre favorablement à la chimiothérapie.

De nombreux facteurs pronostiques, parmi lesquels des critères épidémiologiques, cliniques, histologiques, immunophénotypiques et thérapeutiques, ont été étudiés. Parmi ces facteurs, le stade clinique est un facteur qui a fait l'objet de nombreuses études et qui est

parfois controversé (Mac Ewen *et al.*, 1987 ; Keller *et al.*, 1993 ; Teske *et al.*, 1994; Phillips *et al.*, 2000 ; Jagielski *et al.*, 2002). La détermination de la valeur pronostique de ce facteur est un enjeu très important en médecine vétérinaire car il permet au clinicien d'estimer le temps de survie et la réponse au traitement du patient au terme du bilan d'extension du lymphome.

L'objectif de ce travail est de confirmer, grâce à une étude rétrospective portant sur les cas de lymphome ayant un bilan d'extension complet, une observation clinique selon laquelle les chiens atteints de lymphome avec une infiltration de la moelle osseuse massive (supérieure à 30%) ont un pronostic péjoratif et une mauvaise réponse thérapeutique.

Dans une première partie bibliographique, nous présenterons les lymphomes malins canins à travers leur épidémiologie, leur diagnostic, leur pronostic et leur traitement.

La deuxième partie sera consacrée à l'étude rétrospective fondée sur les cas de lymphome, présentés à la consultation de cancérologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse et de la Clinique Vétérinaire de la Rivière entre septembre 2000 et mars 2005, ayant tous un résultat de myélogramme dans leur bilan d'extension et dont les informations de suivi sont connues.

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE DES LYMPHOMES MALINS

I.1. FREQUENCE ET INCIDENCE

Les lymphomes malins sont des processus néoplasiques fréquemment rencontrés chez le chien. Ils se placent en troisième position derrière les tumeurs cutanées et les tumeurs mammaires. Ils représentent 83% à 90% des tumeurs hématopoïétiques du chien et 7 à 24% de l'ensemble des tumeurs canines (Couto, 1985 ; Moulton et Harvey ; 1990 ; Han *et al.*, 1994 ; Ogilvie et Moore, 1997).

Les lymphomes canins constituent 0,36% à 0,82% des motifs de consultations vétérinaires (Couto, 1985 ; Ogilvie et Moore, 1997 ; Jagielski *et al.*, 2002).

L'incidence annuelle des lymphomes chez le chien est de 13 à 24 cas pour 100 000 chiens (Teske *et al.*, 1994 b). Cependant, vu la difficulté de recensement de la population canine atteinte de lymphome, l'incidence est certainement sous estimée et Teske rapporte une incidence annuelle au minimum égale à 33 cas pour 100 000 chiens aux Pays-Bas (Teske, 1994).

I.2. AGE

Les lymphomes malins affectent les chiens de tous les âges, mais préférentiellement ceux d'âge moyen, avec une médiane d'âge allant de 5.5 à 9.1 ans selon les études et une moyenne d'âge qui se situe entre 6.3 et 7.7 ans (MacEwen *et al.*, 1987 ; Keller *et al.*, 1993 ; Teske *et al.*, 1994 b). Les moyennes d'âge sont similaires dans les deux sexes.

L'incidence des lymphomes malins canins augmente entre 5 et 11 ans (80% des cas) puis diminue chez les chiens très âgés (Moulton et Harvey, 1990). Ainsi, l'incidence est estimé à 1,5 cas pour 100 000 chiens chez les animaux de moins de un an, alors qu'elle est de 84 cas pour 100 000 chiens chez les animaux de 10 ans (Teske *et al.*, 1994 b)

I.3. SEXE

La majorité des études révèle que le sexe de l'animal et la castration ne sont pas des facteurs prédisposant au développement de lymphomes malins canins (Teske *et al.*, 1994 b; Ogilvie et Moore, 1997). Cependant certains auteurs suggèrent une légère prédominance des lymphomes malins canins chez les mâles (Couto, 1989 ; Keller et al., 1993 ; Jagielski et al., 2002).

I.4. RACE

L'incidence des lymphomes malins canins n'est pas la même dans toutes les races. Le risque de lymphome est supérieur chez le Boxer, le Scottish terrier, le Setter, le Saint Bernard, le Rottweiler, le Bull mastiff, le Berger Allemand, le Cocker Spaniel et le Shetland (Keller *et al.*, 1993; Teske *et al.*, 1994 b ; Gavazza *et al.* 2001).

Dans une étude récente portant sur 226 chiens de races pures, les races les plus touchées par le lymphome étaient les Retrievers (20.9 % des cas), le Cocker Spaniel (6.7 % des cas), le Berger Allemand (4.4% des cas), le Rottweiler (3.3% des cas) et le Shetland (3.3% des cas) (Starrak *et al.* 1997).

II. ETIOLOGIE DES LYMPHOMES MALINS

L'étiologie du lymphome canin n'est pas véritablement connue mais certains facteurs prédisposant ont été mis en évidence.

II.1. FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX

II.1.1. Régime alimentaire

Des modifications de la composition en protéines et en acides gras du régime alimentaire peuvent agir sur les fonctions immunitaires et modifier le développement et l'évolution des lymphomes malins canins (Davis, 1992).

II.1.2. Pesticides et pollution industrielle

Les chiens dont les propriétaires utilisent des pesticides (le 2,4-dichlorophenoxyacétate en particulier) ont un risque augmenté de développer un lymphome (Hayes *et al.*, 1991).

L'étude de Gavazza révèle que les chiens habitant en zone industrielle polluée ou ceux dont les propriétaires utilisent des produits chimiques (peintures, solvants) ont un risque significativement plus élevé de développer un lymphome (Gavazza *et al.*, 2001).

II.1.3. Autres facteurs

Lors d'exposition à des champs électriques et magnétiques puissants le risque de développer un lymphome augmente chez le chien (Reif *et al.*, 1995).

Lors d'exposition aux radiations ionisantes à très haute dose, le risque de cancer chez le chien est augmenté. Ce risque peut cependant être évité par une greffe de moelle osseuse (Deeg *et al.*, 1985).

II.2. ETIOLOGIE VIRALE

Contrairement à l'espèce féline, le rôle des virus dans l'étiologie des lymphomes canins n'a pas été démontré. Cependant, des particules rétrovirales et une activité rétrotranscriptase ont été mises en évidence dans des cas de lymphomes malins canins (Seman *et al.*, 1967 ; Teske, 1994).

II.3. SUPPORT GENETIQUE

Les prédispositions raciales et la description de plusieurs cas de lymphomes dans une même famille suggèrent une base génétique héréditaire dans le développement des lymphomes canins (Onions, 1984 ; Teske *et al.*, 1994 a). Cependant aucune étude n'a permis d'identifier un facteur étiologique et par ailleurs, il semble que les cas familiaux de lymphome aient une étiologie environnementale commune (Teske *et al.*, 1994 a).

III. CLASSIFICATION DES LYMPHOMES MALINS

Les lymphomes malins canins peuvent être classés en se basant sur la localisation anatomique, les critères histologiques ou l'immunophénotypage (Madewell et al., 1985 ; Ogilvie et Moore, 1997 ; Magnol et al., 1998 ; Nelson et Couto, 1998 ; Vail, 2000 ; Vail et al., 2001 ; Morris et Dobson, 2001).

III.1 CLASSIFICATION ANATOMIQUE

On distingue 4 formes cliniques chez les carnivores domestiques :

- **Le lymphome multicentrique** représente environ 80 % des lymphomes du chien (Madewell et Theilen, 1987). Il est caractérisé par une lymphadenopathie généralisée avec un envahissement possible du foie, de la rate, et de la moelle osseuse. Le plus souvent les chiens sont asymptomatiques bien que 20 à 40% cas puissent présenter des épisodes d'anorexie, de léthargie, d'amaigrissement et de troubles digestifs (Vail, 2001).
- **Le lymphome digestif**, moins fréquent, représente 5 à 7 % des lymphomes canins (Madewell et Theilen, 1987). Le plus souvent, l'infiltration est multifocale et diffuse au niveau de la lamina propria de l'intestin grêle. Histologiquement, il est peut être difficile de distinguer le lymphome digestif d'une entérite lympho-plasmocytaire (Couto et al., 1989).
- **Le lymphome médiastinal**, plutôt rare chez le chien, représente environ 3 % des cas de lymphome (Vail, 2000) et se caractérise par une atteinte des nœuds lymphatiques médiastinaux craniaux et/ou du thymus
- **Le lymphome extra nodal**, affecte un organe ou un tissu autre qu'une structure lymphoïde nodale (peau, rein, système nerveux...). Le lymphome cutané est la forme la plus fréquente de lymphome extra nodal chez le chien et représente environ 6% des cas de lymphome (Vail, 2000).

III.2. CLASSIFICATION HISTOLOGIQUE ET IMMUNOPHENOTYPIQUE

Les cancers du tissu lymphoïde, ou lymphomes malins, se développent à partir de cellules constituant le tissu lymphoïde et présentent des caractéristiques morphologiques et immunophénotypiques propres. De nombreux systèmes de classification histologique ont été utilisés pour classer les lymphomes non Hodgkiniens chez l'homme et offrent une bonne valeur pronostique.

Les lymphomes malins canins présentant des similitudes avec les lymphomes non Hodgkiniens humains, les principales classifications histologiques humaines ont donc été appliquées à l'espèce canine. Ces classifications sont le *Working Formulation* (WF) du *National Cancer Institute* (NCI) et la classification de Kiel.

De plus, la généralisation de l'usage des marqueurs des cellules lymphoïdes canines et la détermination de l'immunophénotype ont permis l'élaboration d'une nouvelle version de la classification de Kiel adaptée aux lymphomes canins : la classification de Kiel actualisée.

Les autres systèmes de classification histologique (classification de Rappaport, classification de l'OMS et classification REAL), adaptés à l'espèce canine mais moins utilisés actuellement, ne seront pas développés dans cette étude (Fournel-Feury, 1997 a, Braud, 2003).

III.2.1. Working formulation

Cette classification est fondée sur l'architecture (diffuse ou folliculaire) et sur la morphologie cellulaire (petites cellules, grandes cellules, immunoblastes...). Les sous-types cellulaires sont liés à la biologie de la tumeur et la survie du patient.

Selon cette classification, la majorité des lymphomes canins sont de haut grade (Carter *et al.*, 1986) ou de grade intermédiaire (Teske *et al.*, 1994 c; Fournel-Fleury *et al.*, 1997 a) (cf. Tableau 1).

Grade	Sous-types cellulaires	Carter (n=258)	Teske (n=116)	Fournel (n=92)
<i>Bas grade</i>	Lymphocytaire diffus à petites cellules	5.3%	18.1%	21.7%
	Folliculaire à petites cellules clivées			
	Folliculaire mixte			
	Mycosis fongoïdes			
<i>Grade intermédiaire</i>	Folliculaire à grandes cellules	28.4%	75%	52.2%
	Diffus à petites cellules clivées			
	Diffus mixte			
	Diffus à grandes cellules			
	Cellules moyennes macronucléolées			
<i>Haut grade</i>	Immunoblastique	66.3%	6.9%	26.1%
	Lymphoblastique			
	Diffus à petites cellules non clivées			
	Pléomorphes mixtes			
	Pléomorphes grandes cellules			
	Inclassable			

Tableau 1: Répartition et classification des lymphomes selon la WF adaptée aux lymphomes canins.
(Carter *et al.*, 1986 ; Teske *et al.*, 1994 c; Fournel-Fleury *et al.*, 1997 a)

III.2.2. Classification de Kiel

La classification de Kiel est fondée sur la persistance d'analogies morphologiques entre les cellules tumorales et les divers stades d'évolution des lignées lymphoïdes B et T dont elles sont issues.

Selon cette classification, la majorité des lymphomes canins sont de haut grade (Delverdier *et al.*, 1988 ; Fournel-Fleury *et al.*, 1997a) (cf. Tableau 2).

Grade	Sous-types cellulaires	Delverdier (n=52)	Teske (n=95)	Fournel (n=92)
<i>Bas garde</i>	Mycosis fongoïdes			
	Lymphocytaire			
	Lymphoplasmocytaire/cytoïde			
	Variante cellules claires			
	Variante type centrocytaire	26.92%	29.5%	26.1%
	Variante type prolymphocytaire			
	Centrocytaire			
	Centrocytocytoïde			
<i>Haut grade</i>	Cellules moyennes macronucléolées			
	Centroblastique monomorphe			
	Centroblastique polymorphe			
	Immunoblastique			
	Lymphoblastique			
	Petites cellules inclassables	73.08%	70.5%	73.9%
	Type Burkitt			
	Plasmocytoides			
	Pléomorphes mixte			
	Pléomorphes à grandes cellules			
Grandes cellules anaplasiques				

Tableau 2: Répartition classification des lymphomes selon la classification de Kiel adaptée aux lymphomes canins.

(Delverdier *et al.*, 1988 ; Teske *et al.*, 1994 c ; Fournel-Fleury *et al.*, 1997a)

III.2.3. Classification de Kiel actualisée

Le développement de l'immunophénotypage a permis d'adapter la version actualisée de la classification de Kiel aux lymphomes canins. Cette dernière, toujours fondée sur les critères morphologiques, prend en compte l'immunophénotypage pour classer les lymphomes, distinguant les lymphomes B, T ou nul (ni B, ni T) (cf. Tableau 3).

		Teske (n=92)	Fournel (n=91)	Raskin (n= 61)
Lymphome B		60.9%	73.6%	68.9%
<i>Bas grade</i>	Lymphocytaire/prolymphocytaire			
	Lymphoplasmocytaire/immunocytome	*	*	*
	Plasmocytome du nœud lymphatique			
	Centroblastique mixte/centrocytaire			
<i>Haut grade</i>	Centroblastique	85.5% B	56.7%B	85.7%B
	Immunoblastique			
	Lymphoblastique	*	*	*
	Type Burkitt			
Lymphome T		39.1%	26.4%	31.1%
<i>Bas grade</i>	Lymphocytaire/prolymphocytaire			
	Mycosis fongoïdes	*	*	*
	Petite cellules claires			
	Pléomorphes à petites cellules			
<i>Haut grade</i>	Pléomorphes mixte	80.6%T	33.4%T	26.3%T
	Immunoblastique			
	Lymphoblastique	*	*	*
	Grandes cellules anaplasiques			
Lymphome nul		*	*	*

(* données non disponibles ou non détaillées)

Tableau 3: Répartition classification des lymphomes selon la classification de Kiel actualisée adaptée aux lymphomes canins.

(Teske *et al.*, 1994 c ; Fournel-Fleury *et al.*, 1997a ; Raskin *et al.* 2000)

III.2.4 Particularités des lymphomes canins

III.2.4.1. Architecture

La majorité des lymphomes du chien est caractérisée par une architecture diffuse. Les lymphomes folliculaires associés à un meilleur pronostic sont rares (0 à 6 % des cas) contrairement à l'homme où ils représentent 20 % des cas (Delverdier *et al.*, 1988 ; Teske , 1994; Fournel-Fleury *et al.*, 1997a). Il est d'ailleurs possible que certains lymphomes diffus du

chien soient initialement des lymphomes folliculaires qui ont atteint un stade plus avancé au moment du diagnostic histologique souvent tardif.

III.2.4.2. Grade histologique

Selon la classification de Kiel et la WF, la plupart des lymphomes canins (approximativement 80 %) sont de haut grade de malignité ou de grade intermédiaire (Delverdier *et al.*, 1988 ; Teske, 1994 ; Fournel-Fleury *et al.*, 1997a).

Les lymphomes de bas grade, composés de petites cellules à faible index mitotique répondent moins bien à la chimiothérapie que les tumeurs de haut grade, mais présentent une progression plus lente et des durées de survie plus longues (Vail *et al.*, 2001)

III.2.4.3. Immunophénotype

La plupart des lymphomes canins multicentriques sont de type B. Le phénotype T (10 à 39% des cas), est associé à un mauvais pronostic : le taux de rémission complète, la durée de rémission et de survie globale sont plus faible chez les chiens atteints de lymphome T (Teske *et al.*, 1994 b ; Vail *et al.*, 1996 ; Starrak *et al.*, 1997)

III.2.4.4. Sous-types morphologiques

La majorité des lymphomes canins correspondent au sous-type morphologique centroblastique polymorphe selon la classification de Kiel et diffus à grandes cellules selon la WF (Delverdier *et al.*, 1988, Teske *et al.*, 1994 b ; Fournel-Fleury *et al.*, 1997 a).

IV. DIAGNOSTIC DES LYMPHOMES MALINS CANINS

IV.1. PRESENTATION CLINIQUE

(Madewell *et al.*, 1985; Ogilvie et Moore, 1997; Nelson et Couto, 1998; Magnol *et al.*, 1998, Vail, 2000; Vail *et al.*, 2001; Morris et Dobson, 2001).

IV.1.1. Lymphome multicentrique

Les chiens atteints de lymphome multicentrique sont présentés à la consultation pour adénomégalie périphérique remarquée souvent tardivement par le propriétaire.

L'hypertrophie des nœuds lymphatiques est généralement bilatérale et symétrique. Il existe souvent un gradient volumétrique décroissant de l'avant vers l'arrière. Les nœuds lymphatiques concernés sont indolores, durs, mobiles et de taille augmentée. L'adénomégalie périphérique peut être associée à une hépatomégalie, une splénomégalie, une adénomégalie intra-abdominale ou une infiltration de la moelle osseuse. Les signes cliniques associés, quand ils existent, sont non spécifiques et incluent de l'abattement, des troubles digestifs, de l'amaigrissement, de l'ascite, de la dyspnée et de la polyuro-polydipsie.

IV.1.2. Lymphome digestif

Comme pour la forme multicentrique, les signes cliniques du lymphome digestif sont non spécifiques : vomissement, anorexie, diarrhée, amaigrissement (Couto et al., 1989).

La palpation abdominale peut mettre en évidence une masse abdominale, une hypertrophie des nœuds lymphatiques mésentériques ou des anses intestinales épaissies.

IV.1.3. Lymphome médiastinal

L'élargissement des nœuds lymphatiques du médiastin et/ou du thymus peut provoquer des signes cliniques tels que de la dyspnée, de la toux ou des régurgitations, et des oedèmes de la face et du cou.

Une hypercalcémie est associée dans 10 à 40% des cas (Rosenberg *et al.*, 1991 ; Ogilvie et Moore, 1997) et cette forme médiastinale a le plus souvent pour origine des cellules de phénotype T. (Vail *et al.*, 1996).

IV.1.4. Lymphome extra nodal

Le lymphome extra nodal est caractérisé par des signes cliniques extrêmement variés et dépendant de la localisation tumorale.

IV.1.4.1. Lymphome cutané

Le lymphome cutané est fréquemment généralisé ou multifocal. Les lésions cutanées sont très variables et peuvent mimer des lésions cutanées primaires ou secondaires : nodules, plaques, érythèmes, ulcères. Ces lésions sont parfois situées au niveau de la muqueuse buccale (Vail et al., 2001). La forme cutanée du lymphome peut être secondaire ou primaire (originaire de la peau). Le lymphome cutané primaire inclut deux formes (Moore et al., 1994):

- une forme épithéliotrope (mycosis fongoïde), lymphome T localisé à l'épiderme. Les lésions sont souvent situées au niveau des jonctions cutanéomuqueuses et de la muqueuse buccale.
- une forme non épithéliotrope, lymphome T au niveau du derme. Cette forme est plus agressive et évolue rapidement vers des lésions cutanées multiples et une infiltration des noeuds lymphatiques, des organes abdominaux et de la moelle osseuse.

IV.1.4.2. Lymphome oculaire

Le lymphome oculaire est la deuxième tumeur oculaire chez le chien après le mélanome (Swanson., 1990). L'atteinte oculaire résulte de l'infiltration tumorale ou d'uvéites paranéoplasiques. L'examen du fond d'œil peut révéler un décollement de rétine ou une infiltration du nerf optique. Les autres signes oculaires incluent des uvéites antérieures bilatérales, des panuvéites, des conjonctivites, des kératites interstitielles, de l'hyphéma, des hypopions, des synéchies postérieures et des atteintes du segment postérieur (masses choroïdiennes, hémorragies rétiniennes) (Swanson., 1990).

Une étude, portant sur 94 chiens atteints de lymphome multicentrique, a révélé que 37% des chiens présentaient des symptômes oculaires, ces derniers étant les symptômes les plus caractéristiques du lymphome multicentrique après l'adénomégalie (Krohne *et al.*, 1994). De plus les symptômes oculaires sont présents dans 75% des cas de lymphome stade V. (Krohne *et al.*, 1994).

IV.1.4.3. Lymphome neurologique

Le lymphome neurologique est soit primaire, soit secondaire à une autre forme de lymphome malin. L'infiltration du système nerveux central est plus fréquente que celle du système nerveux périphérique (Couto et al., 1984). Les signes cliniques sont variés et dépendent du territoire envahi.

IV.2. DIAGNOSTIC CLINIQUE

IV.2.1. Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel des lymphomes canins varie en fonction de la forme anatomique (cf. Tableau 4).

Forme anatomique	Diagnostic différentiel
Multicentrique	Maladies infectieuses (bactérien, viral, parasitaire, fongique) Maladies à médiation immune (lupus, polyarthrite, vasculite...) Autres tumeurs hématopoïétiques (leucémie, myélome multiple,) Métastases de tumeurs (sarcome, carcinome)
Digestif	Tumeur intestinale non lymphoïde Corps étrangers Lymphangiectasie Ulcère gastro-duodéal Entérite lympho-plasmocytaire Entérite granulomateuse
Médiastinal	Thymome Tumeur de la base du cœur (chemodectome) Thyroïde ectopique Maladie granulomateuse
Cutanée	Dermatite infectieuse Dermatite à médiation immune Autres tumeurs cutanées

Tableau 4: Principaux diagnostics différentiels des lymphomes malins canins (d'après Vail, 2001)

IV.2.2. Bilan d'extension et stade clinique

Le bilan d'extension est un processus clinique qui permet au vétérinaire de quantifier l'étendue de l'atteinte par le lymphome chez le patient.

Le bilan d'extension du lymphome permet l'établissement du stade clinique. Ce stade a une signification pronostique et oriente les décisions thérapeutiques prises par le vétérinaire et le propriétaire. Chez le chien, le schéma le plus utilisé est celui développé par l'Organisation Mondiale de la Santé (cf. Tableau 5).

Stade	Critères
I	Atteinte limitée à un seul nœud lymphatique.
II	Atteinte de plusieurs nœuds lymphatiques d'un même côté du diaphragme.
III	Atteinte généralisée des nœuds lymphatiques.
IV	Atteinte du foie et /ou de la rate (avec ou sans stade III).
V	Atteinte du sang, de la moelle osseuse et/ou d'autres organes (avec ou sans stades I à IV).

Sous Stade	
a	Absence de signes cliniques.
b	Présence de signes cliniques.

Tableau 5: Stades cliniques des lymphomes malins canins (OMS, 1980)

Le bilan d'extension du lymphome comprend :

- Des analyses hématologiques : une numération formule sanguine, un frottis sanguin et éventuellement un buffy coat pour déterminer si le sang est envahi par des lymphocytes tumoraux.
- Une échographie abdominale, qui permet de visualiser toute infiltration du foie, de la rate et toute adénomégalie.
- Un myélogramme, qui permet de déterminer le taux d'infiltration de la moelle osseuse par les cellules cancéreuses.
- Une radiographie du thorax, afin de mettre en évidence une adénomégalie et/ou une infiltration pulmonaire.

Les principaux examens complémentaires nécessaires à la réalisation du bilan d'extension et à l'évaluation de l'état de santé général du patient avant d'instituer un traitement approprié sont détaillés dans le paragraphe suivant.

IV.2.3. Examens complémentaires

IV.2.3.1. Analyses hématologiques

La réalisation d'un hémogramme et d'un examen du frottis sanguin est nécessaire à l'évaluation du patient atteint de lymphome. Les anomalies hématologiques sont fréquentes dans les lymphomes multicentriques

L'anémie, quant elle est présente, est généralement modérée, normocytaire, normochrome et arégénérative, reflétant l'existence d'une maladie chronique ou d'une infiltration médullaire.

Une thrombopénie est observée dans 30 à 50% des cas de lymphome. Cette thrombopénie est attribuée à différentes causes : thrombopénie à médiation immune, infiltration médullaire, séquestration splénique...

La présence de lymphocytes atypiques circulants correspond à un stade leucémique et implique la présence d'une infiltration médullaire. Cependant, un hémogramme et un frottis ne présentant pas d'anomalies ne signifient pas absence d'infiltration médullaire. Une étude portant sur 30 cas de lymphome en stade V, révèle que seulement 50% des chiens ayant une moelle infiltrée présentent des lymphoblastes circulants dans le sang (Raskin et Krehbiel, 1989).

IV.2.3.2. Analyses biochimiques

Les anomalies biochimiques observées dans les lymphomes canins résultent souvent de l'insuffisance d'un organe secondaire à l'infiltration tumorale. De plus, environ 15% des chiens atteints de lymphome présentent une hypercalcémie due à la sécrétion tumorale d'une protéine parathormone-like (PTHrP). L'hypercalcémie est souvent associée aux lymphomes de phénotype T et à la forme médiastinale (10 à 40% des cas) (Raskin *et al.*, 1989 ; Teske *et al.*, 1994 b ; Starrak *et al.*, 1997). Une étude, portant sur 37 chiens atteints de lymphome avec hypercalcémie, montre que 40% des cas présentent une atteinte médiastinale et 41% des cas présentent une infiltration médullaire (Rosenberg *et al.*, 1991).

En cas hyperprotéïnémie, une électrophorèse doit être réalisée pour rechercher une gammopathie monoclonale (IgG, IgA ou IgM). Cette dernière se manifeste dans environ 6% des cas de lymphomes canins (MacEwen *et al.*, 1987). Les conséquences cliniques sont des troubles de l'hémostase et des signes d'hyperviscosité sanguine (Couto, 1985).

IV.2.3.3. Imagerie

L'imagerie (radiographie, échographie...) est importante pour établir le diagnostic et le bilan d'extension.

Des anomalies sur les radiographies thoraciques sont observées dans 60 à 75 % des cas au moment du diagnostic (Blackwood *et al.*, 1997) : les anomalies les plus fréquentes sont une hypertrophie des nœuds lymphatiques thoraciques et une infiltration pulmonaire diffuse (Starrak *et al.*, 1997).

L'incidence des infiltrations pulmonaires serait en fait supérieure, si ces dernières étaient diagnostiquées cytologiquement par lavage broncho-alvéolaire (Hawkins *et al.*, 1993).

Pour l'imagerie de l'abdomen, l'échographie et la radiographie peuvent être réalisées. Les radiographies abdominales révèlent des anomalies dans 50% des cas (Starrak *et al.*, 1997; Blackwood *et al.*, 1997). Les anomalies les plus fréquentes sont l'hépatomégalie, la splénomégalie et l'hypertrophie des nœuds lymphatiques intra abdominaux. L'échographie abdominale donne, en plus, l'opportunité de réaliser des cyto-ponctions ou biopsies échoguidées afin de confirmer le diagnostic d'infiltration tumorale.

IV.2.3.4. Autres examens complémentaires

Les autres examens incluent l'examen cytologique des épanchements thoraciques ou abdominaux, du liquide céphalorachidien et des masses ou organes intra-abdominaux.

Les chiens présentant une maladie cardiaque préexistante ou les races prédisposées aux cardiomyopathies devront subir une échocardiographie avant tout protocole de chimiothérapie utilisant la doxorubicine.

IV.3. DIAGNOSTIC CYTOLOGIQUE ET HISTOLOGIQUE

Alors que la suspicion de lymphome malin canin est avant tout clinique, le diagnostic de certitude est exclusivement morphologique, c'est-à-dire cytologique et/ou histologique.

IV.3.1. Diagnostic cytologique

La cytoponction ganglionnaire est un examen complémentaire facile, rapide, fiable et justifié devant toute adénopathie suspecte.

Dans le cadre de l'étude des lymphomes malins canins, l'adénogramme permet une approche diagnostique satisfaisante et une classification morphologique proche de celle obtenue après examen histologique.

La différence fondamentale entre cytologie et histologie est l'impossibilité pour la cytologie d'identifier le caractère architectural (folliculaire ou diffus) des lymphomes. Ce

critère peut être important pour le pronostic. En effet, les lymphomes folliculaires sont de moindre malignité que les lymphomes diffus. Cependant, il y a peu de lymphome folliculaire chez le chien (0 à 6 % des cas de lymphomes) (Carter *et al.*, 1986 ; Delverdier *et al.*, 1988 ; Teske *et al.*, 1994 c; Fournel *et al.*, 1997 a).

IV.3.2. Diagnostic histologique

L'examen histologique est le seul examen permettant d'apprécier les modifications architecturales des nœuds lymphatiques provoquées par le lymphome.

Cet examen est incontournable lorsque la cytologie ne permet pas un diagnostic de certitude, notamment lors d'hésitation entre hyperplasie lymphoïde et lymphome.

IV.3.3. Immunophénotypage

Les techniques immunohistochimiques ou immunocytochimiques jouent un rôle important dans le diagnostic et le pronostic des lymphomes canins. En effet, ces techniques réalisables sur prélèvements histologiques et/ou cytologiques viennent confirmer et préciser le diagnostic de lymphome (immunophénotype, grade histologique, marqueurs de prolifération...).

L'immunophénotypage peut être réalisé par cytométrie de flux, par immunomarquage sur coupes de tissus ou par immunomarquage sur lames cytologiques (Teske *et al.*, 1994 a ; Fournel *et al.*, 1997 a ; Kiupel *et al.*, 1999 ; Ponce *et al.*, 2004)

Des anticorps, capables de détecter des marqueurs spécifiques (antigènes de différenciation, immunoglobulines de surface...) des lymphocytes canins, permettent de différencier les lymphomes B, T et nul.

Le marquage des lymphocytes B est fondé principalement sur l'identification de la molécule CD79a par des anticorps monoclonaux anti-CD79. Le marquage des lymphocytes T est réalisé par un anticorps polyclonal anti-CD3 dirigé contre la molécule CD3. Il existe de nombreux marqueurs (cf. Tableau 6).

<i>Cellules</i>	<i>Marqueurs</i>	<i>Utilisation pratique</i>
Lymphocytes T	CD3	Coupes en paraffine, tissus congelés ou ponction aiguille fine.
	CD4, CD5, CD8.	Cytométrie en flux, préparations fraîche ou tissus congelés
Lymphocytes B	CD79a, BL 36	Coupes en paraffine ou ponction aiguille fine.
	CD 21,	Cytométrie en flux, tissus congelés
	CD 39	Cytométrie en flux, tissus congelés ou coupes en paraffine

Tableau 6: Exemples de marqueurs utilisés en immunohistochimie

Les marqueurs de prolifération, Ki 67, AgNOR (Argyrophyl Nucleolar Organizer Regions), PCNA (Proliférating Cell Nuclear Antigens) constituent également des outils intéressants dans l'étude et le pronostic des lymphomes canins (Kiupel et *al.*, 1999, Phillips et *al.*, 2000, Dobson et *al.*, 2001).

Ces techniques immunohistochimiques sont de plus en plus accessibles en pratique. Cependant seul l'immunophénotype a une valeur pronostique reconnue, les autres marqueurs de prolifération nécessitent des évaluations supplémentaires avant une utilisation courante en cancérologie vétérinaire.

IV.4. AUTRES METHODES DIAGNOSTIQUES

IV.4.1. Réaction de Polymérisation en chaîne (PCR)

Chaque lymphocyte est caractérisé par un récepteur antigénique qui lui est propre. Les techniques de PCR (réactions de polymérisation en chaîne) permettent l'amplification des séquences d'ADN codant pour les récepteurs à l'antigène des cellules B (BCR) et des cellules T (TCR).

Dans les tissus lymphoïdes sains, les résultats de l'amplification par PCR, sont variés et les séquences d'ADN sont de tailles différentes ce qui correspond à une population de lymphocytes dérivés de multiples clones.

En revanche, en cas de lymphome, l'amplification des séquences d'ADN codant pour les récepteurs antigéniques des lymphocytes donne un produit majoritaire, indiquant la présence d'une population monoclonale majoritaire (Fan, 2003).

Bien que la technique de PCR soit très sensible, cette méthode diagnostique est relativement lourde et doit être utilisée lorsque le clinicien a une forte suspicion clinique de lymphome mais que les techniques diagnostiques cytologiques et histologiques ont échoué.

IV.4.2. Activité de la Télomérase

La Télomérase est une ribonucléoprotéine polymérase qui intervient dans la prolifération des cellules. L'augmentation de l'expression de l'activité télomérasique est détectée dans plus de 90% des cancers chez l'homme et représente un facteur connu de mauvais pronostic en oncologie humaine.

Des études portant sur la détection de l'activité télomérasique chez le chien par la technique d'ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) et la méthode de TRAP (Télomérase Repeat Amplification Protocol) n'ont pas mis en évidence de différence significative entre le tissu lymphoïde sain et tumoral.

Les études menées à ce jour, n'ont donc pas montré l'utilité de la détection de l'activité télomérasique comme outil diagnostique des lymphomes canins (Carioto *et al.*, 2001 ; Fan, 2003).

V. PRONOSTIC DES LYMPHOMES MALINS CANINS

Bien que le taux de réponse des lymphomes canins aux traitements systémiques soit élevé (80 % des chiens ont une durée médiane de survie de 1 ans) (Keller *et al.*, 1993), certains patients ont une rémission clinique et une durée de survie très courtes malgré des thérapeutiques agressives. Dans ces cas, les efforts que requiert une chimiothérapie, sont difficiles à accepter.

Les facteurs pronostiques influencent indépendamment la réponse et la durée de réponse à un traitement donné (MacEwen, 1987). De nombreuses études ont été réalisées afin de déterminer ces facteurs pour les lymphomes malins canins. Une multitude de facteurs ont ainsi été étudiés et les résultats de ces nombreuses études sont parfois controversés et difficiles à interpréter : le nombre de chiens est souvent insuffisant pour être statistiquement interprétable, des différences de protocoles de traitement existent entre les études et les méthodes statistiques, très diverses, rendent les comparaisons difficiles. Néanmoins la maîtrise de ces facteurs pronostiques est un enjeu capital en médecine vétérinaire car elle permet au clinicien d'estimer la durée de rémission et le temps de survie du patient.

V.1. FACTEURS EPIDEMIOLOGIQUES ET CLINIQUES

V.1.1. Facteurs épidémiologiques

Les facteurs épidémiologiques tels que l'âge, le sexe et le poids ne sont pas des facteurs pronostiques significatifs pour la réponse au traitement, la durée de rémission et la survie générale (Carter *et al.*, 1987; MacEwen *et al.*, 1987 ; Postorino *et al.*, 1989 ; Keller *et al.*, 1993 ; Hahn *et al.*, 1994 ; Teske *et al.*, 1994 b ; Kiupel *et al.*, 1999; Phillips *et al.*, 2000 ; Dobson *et al.*, 2001 ; Jagielski *et al.*, 2002).

Cependant, des études révèlent certaines influences de ces facteurs sur le pronostic, par exemple:

- Les chiens de 4 à 8 ans semblent présenter une durée de rémission et de survie plus élevées que les autres (Jagielski *et al.*, 2002).
- Les femelles stérilisées ou non présentent une rémission et une survie plus longue que les mâles (MacEwen *et al.*, 1987 ; Keller *et al.*, 1993). Mais, une étude suggère que l'incidence de lymphomes T serait plus importante chez les mâles, ce qui pourrait expliquer les meilleurs pronostics chez les femelles (Vail *et al.*, 1996)

V.1.2. Facteurs cliniques

V.1.2.1. Stade clinique

Le stade clinique est un facteur pronostique très controversé.

Sa valeur pronostique est démontrée dans de nombreuses études (MacEwen *et al.*, 1981; Carter *et al.*, 1987 ; Keller *et al.*, 1993 ; Teske *et al.*, 1994 b ; Starrak *et al.*, 1997 ; Jagielski *et al.*, 2002). Mais certaines études démontrent l'absence de corrélation entre stade clinique et pronostic (Postorino *et al.*, 1989 ; Rosenberg *et al.*, 1991 ; MacEwen *et al.*, 1992 ; Hahn *et al.*, 1992 et 1994 ; Kiupel *et al.*, 1999 ; Phillips *et al.*, 2000).

De plus, l'influence pronostique du stade clinique est parfois contradictoire :

- les stades I et II (et III) présentent une durée de rémission et une survie globale plus longues que les stades IV ou V (Keller *et al.*, 1993, Teske *et al.*, 1994, Starrak *et al.*, 1997, Jagielski *et al.*, 2002).
- les stades II ont une durée de rémission plus courte que les stades III (Dobson *et al.*, 2001). Mais il faut noter que dans cette étude, les 2/3 des stades II sont des lymphomes T, donc de mauvais pronostic.
- les stades IV présentent un risque de rechute plus faible que les autres stades (Baskin *et al.*, 2000). Cependant dans cette étude, les infiltrations de la rate et du foie ne sont pas confirmées

par cytologie ou histologie, ce qui fait que les stades IV peuvent être confondus avec des stades III.

Ces résultats controversés sont probablement le reflet d'imprécisions dans la détermination du stade (myélogramme et diagnostic cytologique non systématiques) et dans le traitement des données (analyses statistiques univariées, groupe non homogène)

V.1.2.2. Sous-stade clinique

Le sous-stade est un facteur pronostic dans la plupart des études, le sous-stade b étant associé à une durée de rémission et de survie plus courte (Hahn *et al.*, 1992 ; Keller *et al.*, 1993 ; Teske *et al.*, 1994 b ; Starrak *et al.*, 1997 ; Baskin *et al.*, 2000 ; Jagielski *et al.*, 2002).

Néanmoins, ce facteur n'est pas reconnu dans certaines études (Cotter *et al.*, 1983 ; Postorino *et al.*, 1989 ; Phillips *et al.*, 2000 ; Dobson *et al.*, 2001).

V.1.2.3. Forme clinique

L'association masse médiastinale craniale et hypercalcémie est de mauvais pronostic chez le chien (Rosenberg *et al.*, 1991).

L'adénomégalie sternale et médiastinale craniale sont des facteurs pronostiques significatifs, ils sont associés à une durée de rémission et de survie plus courte (Starrak *et al.*, 1997).

Les lymphomes extra nodaux primitifs (cutanés, gastro-intestinaux) semblent associés à un plus mauvais pronostic (Vail, 2001).

V.2.1. Grade histologique

Les lymphomes de haut grade sont significativement associés à un taux de réponse à la chimiothérapie plus élevé que les lymphomes de bas grade. Cependant les lymphomes de bas grade sont associés à une durée de survie plus longue sans nécessiter une chimiothérapie agressive (Teske *et al.*, 1994 b; Mac Ewen *et al.*, 1996).

Une étude suggère que les grades de malignité établis par la classification de la WF sont corrélés à la survie globale (les lymphomes de haut grade ont une durée de survie plus courte) et que les grades de la classification de Kiel sont utiles dans le pronostic de la rémission clinique et de la rechute (les lymphomes de haut grade ont un taux de rémission complète plus élevée mais une durée de rémission clinique plus courte) (Teske *et al.*, 1994b).

V.2.2. Immunophénotype

Le phénotype est un facteur pronostique significatif. Les lymphomes T présentent une durée de rémission clinique et une survie globale plus courtes que les lymphomes B (Teske et al., 1994 b ; Fournel et al., 1997 b; Starrak et al., 1997; Kiupel et al., 1999 ; Phillips et al., 2000 ; Dobson et al., 2001)

V.2.3. Sous-types cellulaires

La valeur pronostique des sous-types cellulaires, au sein des types cellulaires B et T, est en cours d'étude. Alors que certaines études montrent une absence de relation entre les sous-types cellulaires et le pronostic (Teske *et al.*, 1994 b ; Dobson *et al.*, 2001), d'autres associent les sous-types à des pronostics différents (Myers *et al.*, 1997 ; Ponce *et al.*, 2004).

Une étude récente montre qu'il existe entre les sous-types morphologiques des différences significatives dans la durée de rémission et la survie globale. Par exemple, le lymphome B de type Burkitt présente les durées de rémission et de survie les plus courtes alors que le lymphome T à petites cellules claires présente les durées de rémission et de survie les plus longues (Ponce *et al.*, 2004).

V.3. MARQUEURS DE PROLIFERATION

Les marqueurs de prolifération permettent d'apprécier la croissance tumorale en déterminant le nombre de cellules en cycle mitotique. Plus les cellules en cycle sont nombreuses, plus la croissance tumorale est rapide.

Ces marqueurs sont de plus en plus nombreux mais la valeur pronostique de certains d'entre eux est controversée et/ou nécessite des études supplémentaires.

V.3.1. Marqueurs pronostiques reconnus

V.3.1.1. Index d'apoptose

L'index d'apoptose correspond au nombre de morts cellulaires par autodestruction.

Un Index d'apoptose élevé est associé à un pronostic plus sombre. Plus l'index est élevé, plus la durée de première rémission est courte (Phillips *et al.*, 2000).

V.3.1.2 AgNORs

Les AgNORs (Argyrophyl Nucleolar Organizer Regions) sont des protéines nucléolaires associées à la transcription de l'ADN en ARN ribosomal. La quantité d'AgNORs reflète le nombre de cellules en cycles et la vitesse du cycle cellulaire.

Les caractéristiques quantitatives et qualitatives (paramètres de surface, localisation) des AgNORs ont une valeur pronostique (Vail, 1996 ; Kiuppel *et al.*, 1998, Kiupel *et al.*, 1999). Par exemple, les lymphomes caractérisés par des fréquences d'AgNORs élevées ont un meilleur pronostic (durée de première rémission et survie globale) que les lymphomes caractérisés par des fréquences d'AgNORs basses.

V.3.1.3. Temps de doublement potentiel

Le temps de doublement potentiel (Tpot) de la tumeur (par technique de biopsie avec de la bromodeoxyuridine) a une valeur pronostique significative concernant la durée de première rémission : un temps de doublement court est associé à un meilleur pronostic (Vail *et al.*, 2001).

V.3.2. Marqueurs pronostiques controversés

V.3.2.1. Index mitotique

L'index mitotique correspond au nombre de cellules en phase M du cycle mitotique. Un index mitotique élevé est associé à un pronostic plus sombre (Kiupel *et al.*, 1999). Mais la valeur pronostique de cet index est infirmée dans certaines études (Phillips *et al.*, 2000 ; Dobson *et al.*, 2001).

V.3.2.2. Index Ki-67

L'antigène de prolifération Ki-67 est une protéine nucléaire exprimée pendant les phases G1, S et G2 et détecté par l'anticorps MIB-1 (Fournel *et al.*, 1997 b). L'index de prolifération Ki-67 correspond au nombre de cellules, en phases G1, S et G2 du cycle cellulaire.

L'index Ki-67 est un outil pronostique significatif concernant la durée de rémission : un index élevé est associé à une durée de rémission plus courte (Phillips *et al.*, 2000). Mais cet index est controversé et n'est pas considéré comme un facteur pronostique dans l'étude de Kiupel (1999).

Par ailleurs, il semble exister une corrélation entre l'index Ki-67 et le grade histologique : Les lymphomes à index Ki-67<21% sont de bas grade et ceux qui présentent un Ki-67 élevé (KI-67>21%) sont de haut grade de malignité (Fournel-Fleury *et al.*, 1997b ; Phillips *et al.*, 2000) et ont plus de chance d'être chimio-sensibles.

V.3.2.3. PCNA

Le PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) est une protéine nucléaire exprimée pendant toutes les phases du cycle cellulaire et intervenant dans la synthèse de l'ADN. Le PCNA est reconnu par l'anticorps PC 10 et a une durée de vie longue (Kiupel *et al.*, 1998).

La signification pronostique du PCNA pour la durée de survie dans les lymphomes canins est reconnue dans une étude (Kiupel *et al.*, 1999) mais ne l'est pas dans d'autres (Phillips *et al.*, 2000 ; Kiupel *et al.*, 1998).

V.3.3. Nouveaux marqueurs pronostiques

V.3.3.1. Activité de la thymidine kinase

La thymidine kinase (TK) est une enzyme phosphorylase qui joue un rôle dans la synthèse de l'ADN. La TK est activée pendant les phases G1 et S du cycle cellulaire et son activité est corrélée à la prolifération des cellules tumorales.

L'activité de la thymidine kinase plasmatique semble être un marqueur puissant dans le pronostic et le suivi thérapeutique des lymphomes malins canins (Nakamura *et al.*, 1997 ; Madewell, 1999 ; Von Euler *et al.*, 2004).

Dans une étude récente, portant sur 52 chiens atteints de lymphome, l'activité de la TK plasmatique est 2 à 180 fois plus élevée avant traitement, re-devient normale lors de la rémission complète et ré-augmente significativement 3 semaines avant la rechute. De plus cette étude montre que les chiens présentant un activité de la TK plasmatique supérieure à 30 U/L, ont une survie générale plus courte et que l'activité de la TK plasmatique reflète le stade clinique du lymphome (Von Euler *et al.*, 2004).

V.3.3.2. Glycoprotéine P

La glycoprotéine, est une pompe membranaire à efflux codée par les gènes MDR1 et MDR2 (multi-drogue résistance), responsable d'une diminution de la concentration intracellulaire de certaines drogues par augmentation de leurs éliminations. La surexpression de cette protéine est impliquée dans le développement de résistances multi-drogue (MDR) à

l'origine d'échec thérapeutique. Les principales drogues affectées par la résistance MDR sont la doxorubicine, la vincristine et la vinblastine.

La glycoprotéine P est détectée par l'anticorps monoclonal C219 et le phénotype MDR est mis en évidence par détermination du nombre de cellules glycoprotéine P positives.

Une étude portant sur 58 cas de lymphomes malins canins montre que la surexpression de la glycoprotéine avant la mise en place de la chimiothérapie est inversement proportionnelle au taux de rémission et à la durée de rémission et de survie (Bergman *et al.*, 1996). De plus, au moment de la rechute, l'expression de la glycoprotéine P est significativement supérieure à celle obtenue avant l'induction et constitue donc un bon facteur prédictif de la seconde rémission (Bergman *et al.*, 1996). En pratique, une forte expression de la glycoprotéine P est associée à une faible durée de rémission et de survie.

V.3.3.3. Alpha-1 glycoprotéine acide

L' α 1-glycoprotéine acide est une protéine de la phase aiguë de l'inflammation. Sa concentration sérique augmente lors de phénomène tumoral et de phénomène inflammatoire, de manière non spécifique.

Une étude montre que l' α 1-glycoprotéine acide est un facteur prédictif de récurrence de lymphome: les patients atteints de lymphome ont des concentrations en α 1-glycoprotéine acide significativement élevées par rapport aux témoins sains et lorsqu'une rémission complète est induite, les chiens présentent alors des concentrations en α 1-glycoprotéine acide équivalente à celles du groupe témoin. Cependant ces concentrations augmentent de nouveau significativement 3 semaines avant la récurrence clinique du lymphome (Hahn *et al.*, 1999).

La concentration en α 1-glycoprotéine acide est donc un outil intéressant dans le suivi thérapeutique des lymphomes. Cependant il existe des limites puisque la concentration en α 1-glycoprotéine acide augmente lors de tout phénomène inflammatoire qu'il soit tumoral ou non (Fan, 2003).

V.3.3.4. MMP 2 et MMP 9

Les MMPs (Matrix MetalloProteinases) sont des protéases responsables de la destruction de la matrice extracellulaire. Chez l'homme, les protéases MMP 2 et MMP 9 sont associées au processus métastatique.

Chez les chiens atteints de lymphome, les concentrations tissulaires en protéases MMP 2 et 9 diminuent significativement après la chimiothérapie et restent basses jusqu'à 6 à 12 semaines avant la rechute (Fan, 2002 et 2003).

Cependant, à ce jour, le dosage des MMPs n'est pas commercialisé et reste un outil de recherche.

V.4. ANOMALIES CHROMOSOMIQUES

Des aberrations chromosomiques ont été détectées dans les lymphomes canins sans présenter de véritables conséquences cliniques (Hahn *et al.*, 1994). Cependant une étude, portant sur 61 chiens atteints de lymphome, a démontré une meilleure réponse au traitement (durée de rémission et de survie plus longue) chez les chiens présentant une trisomie du chromosome 13 (soit 25 % des chiens de l'étude) (Hahn *et al.*, 1994).

V.5. FACTEURS THERAPEUTIQUES

V.5.1. Corticothérapie

Il est possible que la corticothérapie induise une résistance multiple des cellules malignes ou MDR, comme cela a été observé chez l'homme (Olgivie et Moore, 1997).

D'après l'étude de Price, les chiens ayant reçu des corticoïdes, quelle que soit la durée du traitement, avant induction présentent une rémission plus courte que les autres (Price *et al.*, 1991). Mais ces résultats ne sont pas confirmés dans une étude récente selon laquelle la corticothérapie à base de prednisone avant induction et pendant plus de 2 semaines n'a pas d'influence sur la durée de première rémission et la survie globale (Baskin *et al.*, 2000).

V.5.2. Réponse au traitement et antécédents

L'induction d'une rémission complète et la durée de la première rémission sont des facteurs pronostiques importants qui influencent la survie globale (Jagielski *et al.*, 2002 ; Ponce *et al.*, 2003).

La progression de la maladie et l'apparition d'effets secondaires, lors de l'induction du traitement, sont de mauvais pronostic pour la survie (Baskin *et al.*, 2000). De plus, les chiens ayant des antécédents de maladies inflammatoires chroniques présentent un risque de rechute environ 3 fois plus élevé que les autres. Chez ces chiens, une altération de la réponse immune pourrait expliquer ces rechutes plus nombreuses (Baskin *et al.*, 2000).

V.6. EN PRATIQUE

Les principaux facteurs pronostiques pris en compte actuellement sont (cf. Tableau 7):

Facteur pronostique	Positif	Négatifs	Commentaires
Immunophénotype		Lymphome T	Influence la RC, la DR et la SG. Facteur indépendant le plus important. (Dobson, 2001)
Grade histologique	Bas grade	Haut grade	Influence la RC, la DR et la SG. Majorité de haut grade (80% des cas) (Teske, 1994)
Sous-stade	a	b	Influence la TR, la DR et la SG. (Jagielski, 2002)
Réponse au traitement	RC	RP	Influence la SG Si la RC n'est pas réalisée, le traitement doit être modifié. (Baskin, 2000; Jagielski, 2002)
Stade clinique	I et II (et III)	(III) IV et V	Influence le TR, la DR et la SG mais controversé. (Jagielski, 2002 Phillips, 2002)
AgNORs		Augmentation de la quantité d'AgNORS	Influence le DPR et la SG Reflet de la prolifération cellulaire et nucléaire. (Kiupel, 1998)
Glycoprotéine P		Concentration élevée	Influence la DR et la SG. Associé au phénomène MDR. (Price, 1991)
Corticothérapie avant traitement		X	Influence la SG, due au phénomène MDR mais controversé. (Price, 1991, Baskin, 2000)
Effets secondaires		X	Influence la SG, toxicité gastro-intestinal notamment. (Baskin, 2000)

Tableau 7: Principaux facteurs pronostiques (d'après Ettinger, 2003).

VI. TRAITEMENT DES LYMPHOMES CANINS.

En l'absence de traitement, la plupart des chiens atteints de lymphome décèdent en 4 à 6 semaines (Madewell et Theilen, 1987 ; Morris et Dobson, 2001). Parce que le lymphome est une maladie systémique, la chimiothérapie systémique est la modalité thérapeutique la plus adaptée. De plus, le lymphome est une tumeur chimio-sensible, et une rémission clinique complète est obtenue dans 60 à 90% des cas avec les protocoles de chimiothérapie conventionnels. Malheureusement, les lymphomes canins ne se guérissent pas : les chiens ont une survie globale de 12 à 18 mois en fonction des protocoles choisis

Dans de rares cas, lorsque le lymphome se limite à un seul site anatomique avec un bilan d'extension négatif ou lors de lymphome extra nodal, l'animal peut être traité par radiothérapie ou chirurgie

VI.1. CHIMIOThERAPIE

VI.1.1. Principe et terminologie

Lors de lymphome, la chimiothérapie bien que permettant une survie longue n'est pas curative mais palliative. Les objectifs fondamentaux de ce traitement sont d'induire une rémission clinique complète et durable (supérieure à 6 mois) et éventuellement de ré-induire une rémission lors de rechute (Ettinger, 2003).

Le traitement comprend 3 phases :

- **La phase d'induction**, dont le but est d'induire une rémission clinique, c'est-à-dire une disparition des signes cliniques. C'est une phase du traitement intensive qui s'achève lorsque la rémission est obtenue.
- **La phase d'entretien** ou phase de maintenance, dont l'objectif est de maintenir l'animal en rémission clinique. Les traitements sont répétés toutes les 3 semaines généralement.
- **La phase de ré-induction** ou traitement de rechute, visant à induire une nouvelle rémission après rechute sous traitement ou en cas de lymphome réfractaire au premier traitement mis en place.

Réponse	Définition
La rémission clinique complète (RC)	réduction totale (100%) des signes cliniques.
La rémission clinique partielle (RP)	réduction partielle (>50% et <100%) des signes cliniques.
Durée de première rémission (DR)	Durée séparant le diagnostic de la première rechute.
Survie globale (SG)	Durée séparant le diagnostic du décès.

Tableau 8: Terminologie.

Les principaux protocoles de monochimiothérapie et de polychimiothérapie sont décrits dans cette partie sous forme d'une liste non exhaustive, en présentant leurs intérêts majeurs.

VI.1.2. Monochimiothérapie

Les protocoles de monochimiothérapie sont généralement moins efficaces que ceux de polychimiothérapie. Cependant pour des propriétaires peu disponibles ou réticents au protocole de polychimiothérapie, l'emploi d'une seule drogue peut constituer une solution intéressante (toxicité, nombre de visites chez le vétérinaire, coûts réduits)

VI.1.2.1. Corticoïdes

Les molécules les plus utilisées sont la prednisone et la prednisolone. Environ 50% des chiens traités avec la prednisone présentent une réponse (RP ou RC) (Ogilvie et Moore, 1997). Cependant, en tant qu'agents anti-tumoraux, les corticoïdes sont rarement utilisés parce que la médiane de SG n'est que de 53 jours et que leur emploi prolongé favoriserait l'apparition d'une chimiorésistance multiple (Price *et al.*, 1991).

VI.1.2.2. Doxorubicine

En monochimiothérapie, la doxorubicine est actuellement la molécule disponible la plus efficace. Elle est utilisée, à la dose de 30 mg/m² chez le chien ou 1 mg/kg chez les chiens de poids inférieur à 10 kg, toutes les 3 semaines et pour un total de 6 à 8 séances. Le taux de RC est de 70% à 85% et la médiane de SG varie de 230 à 243 jours (Carter *et al.*, 1987; Postorino *et al.*, 1989; Valerius *et al.*, 1997).

La doxorubicine, employée seule est un agent de réinduction de faible efficacité (Calvert et Leifer, 1981). De plus, il est préférable de l'utiliser chez les patients n'ayant pas

reçu de doxorubicine dans les protocoles précédents afin d'éviter le phénomène de résistance MDR (Vail, 2003).

VI.1.2.3. L-asparaginase

La L-asparaginase est largement utilisée pour le traitement du lymphome canin du fait de l'efficacité, de la faible toxicité, et de l'absence de chimiorésistance croisée pour cette drogue. En monochimiothérapie, le taux de RC est faible mais la plupart des chiens présentent une RP. De ce fait, la L-asparaginase est un complément très utile dans les protocoles associatifs pour les phases d'induction et de réinduction après récurrence (MacEwen *et al.*, 1992). Cependant son caractère très immunogène limite son utilisation à long terme (apparition précoce d'anticorps anti-L-asparaginase).

La PEG-L-asparaginase, plus stable et moins immunogène que la L-asparaginase, est également efficace dans le traitement des lymphomes canins (Mac Ewen *et al.*, 1992).

VI.1.2.4. Lomustine

La lomustine (CCNU), à la posologie de 50 à 90 mg/m² toutes les 3 semaines, a été évaluée comme traitement de rechute : le taux de réponse est de 28% et surtout la durée médiane de nouvelle rémission est de 86 jours (Moore *et al.*, 1999). La lomustine est un agent de réinduction relativement efficace qui n'est pas affectée par la résistance MDR.

VI.1.2.5. Mitoxantrone

Le mitoxantrone, en mono chimiothérapie à la posologie de 5 mg/m² permet un taux de RC de 25% et une médiane de rémission de 94 jours (Moore *et al.*, 1994 a). Bien que moins efficace que la doxorubicine, le mitoxantrone est une molécule intéressante car elle est peu toxique notamment sur le plan cardiaque.

Les études menées sur le mitoxantrone, en tant qu'agent de réinduction, montrent une efficacité limitée : 47% de RC et une durée médiane de deuxième rémission de 21 jours (Lucroy *et al.*, 1998). De plus, le mitoxantrone est affecté par la résistance multidrogue MDR.

VI.1.2.6. Autres agents

- **La cytosine arabinoside** (cytarabine, Ara-cytine) à la dose de 300 mg/m²/j en perfusion pendant deux jours consécutifs n'est pas un agent d'induction efficace : Une étude menée sur 15 chiens a montré que la totalité des chiens traités à la cytosine arabinoside n'a pas répondu au traitement (Ruslander *et al.*, 1993). Cependant, l'auteur suggère que cette

molécule utilisée à forte dose ou associée à des agents alkylants pourrait être plus efficace (Ruslander *et al.*, 1994).

- **L'actinomycine D** n'a pas donné de résultats concluants en traitement d'induction mais semble utile dans le traitement de rechute du lymphome (Hammer *et al.*, 1994). De plus, une étude montre que l'efficacité de l'actinomycine D en tant que traitement de rechute, chez les chiens ayant reçu des protocoles de polychimiothérapie contenant de la doxorubicine, est faible (Moore *et al.*, 1994 b) probablement à cause de résistances croisées vis-à-vis de ces deux agents (Ogilvie et Moore, 1997).

- **L'Etoposide** a été testé sur 13 chiens comme agent d'induction et de réinduction sans grands résultats (Hohenhaus *et al.*, 1990). De plus, la voie d'administration intraveineuse (avec le solvant polysorbate 80) est à l'origine de réactions cutanées graves dans 85% des cas (Hohenhaus *et al.*, 1990).

VI.1.3. Polychimiothérapie

Il existe une multitude de protocoles de polychimiothérapie. Le choix du protocole doit se faire sur la base de l'efficacité, de la toxicité, du coût et/ou de l'expérience du vétérinaire. De façon générale, la polychimiothérapie est plus chère, plus contraignante (visites répétées chez le vétérinaire, examens complémentaires plus nombreux) et plus toxique que la monochimiothérapie. Cependant elle permet des DR et des SG plus longues que la monothérapie.

VI.1.3.1. Protocole de Cotter dit COP

Le Protocole de Cotter (Cotter, 1983) associe trois drogues : le cyclophosphamide (C), la vincristine (O) et la prednisone (P). Cette association constitue la base des protocoles anti-cancéreux les plus utilisés actuellement.

- le cyclophosphamide est utilisé par voie orale à la dose de 250 mg /m². Il est administré 12 heures après l'injection de vincristine.

- la vincristine est administrée par voie intra-veineuse à la dose de 0.7 mg/m².

- la prednisone est prescrite par voie orale à 1 mg/kg tous les jours pendant 1 à 4 semaines selon l'appréciation du clinicien puis à jours alternés c'est-à-dire tous les 2 jours pendant la phase de maintenance.

Il existe deux variations du protocole de Cotter : COP 1 et COP 2 (cf. Tableau 9 et 10). L'efficacité de ces deux protocoles est similaire. Une RC est obtenue dans environ 75% des

cas et la durée médiane de rémission est de 180 jours (Madewell, 1975 ; Cotter, 1983 ; Carter *et al.*, 1987 ; Hahn *et al.*, 1992 ; Kiupel *et al.*, 1998 et 1999, Baskin *et al.*, 2000 ; Dobson *et al.*, 2001).

Jour	Vincristine 0.7 mg/m ² IV	Cyclophosphamide 250 mg/m ² VO	Prednisone 1 mg/kg VO
Induction			
J 1	•	•	↓
J 8	•		
J 15	•		
J 21	•	•	
Maintenance (J 1 maintenance = J 42 induction)			
J 1	•	•	↓
J 21	•	•	

Tableau 9: Protocole COP 1 (Cotter, 1983).

Jour	Vincristine 0.5 mg/m ² IV	Cyclophosphamide 50 mg/m ² VO	Prednisone 10 mg/m ² VO
Induction			
J 1	•		↓
J 3		•	
J 4		•	
J 5		•	
J 6		•	
Phase 1 : Le cycle est répété pendant 8 semaines Phase 2 : le cycle est répété toutes les 2 semaines pendant 16 semaines Phase 3 : le cycle est répété toutes les 3 semaines pendant 24 semaines Phase 4 : le cycle est répété toutes les 4 semaines jusqu'à la rechute			

Tableau 10 : Protocole COP 2 (Madewell, 1975).

VI.1.3.2. Protocole COAP

Ce protocole d'induction est basé sur le COP (cyclophosphamide, vincristine et prednisone) associé à la cytarabine. Avec ce traitement, le taux de RC est de 81 % et la durée médiane de RC est de 265 jours (Jagielski *et al.*, 2002).

VI.1.3.3. Protocoles ACOPA 1 et 2

Ces protocoles associant vincristine, L-asparaginase, cyclophosphamide, doxorubicine et prednisolone offrent une grande efficacité thérapeutique.

Le protocole ACOPA-1, qui utilise une association vincristine, L-asparaginase et prednisone en induction puis la vincristine, le cyclophosphamide, la doxorubicine et la prednisone en maintenance, permet une RC dans 76 % des cas avec une durée médiane de RC

de 330 jours (Stone *et al.*, 1991) mais présente une toxicité marquée (toxicité gastro-intestinale et/ou médullaire sévère dans 37% des cas à l'induction) (Stone *et al.*, 1991).

Le protocole ACOPA-2, utilisant la doxorubicine et la prednisone pour induire la rémission puis le même traitement de maintenance que le protocole ACOPA-1, induit une RC dans 65% des cas et une durée médiane RC de 228 jours avec un peu moins d'effets néfastes que l'ACOPA-1 (Myers *et al.*, 1997).

Ces 2 protocoles ACOPA 1 et 2 sont des protocoles efficaces mais qui restent très toxiques.

VI.1.3.4. Protocole de type COPLA

Il est basé sur l'utilisation de L-asparaginase, vincristine, cyclophosphamide, doxorubicine et prednisone. Il existe plusieurs variantes de ce protocole qui allie efficacité et toxicité tolérable (Boyce et Kitchell, 2000 ; Lanore et Delprat, 2002)

- Protocole COPLA/LVP : c'est un protocole d'induction et de maintenance basé sur l'utilisation de L-asparaginase, vincristine, cyclophosphamide, doxorubicine pour l'induction, suivis de chlorambucil, de vincristine et de prednisone (LVP) pour la phase de maintenance. Le taux de RC est de 80 % et la survie médiane est de 252 jours (Boyce et Kitchell, 2000).
- Protocole COPLA utilisé dans les Ecoles Nationales Vétérinaires : c'est un protocole qui présente une efficacité quasi équivalente aux protocoles ACOPA avec une toxicité tolérable (Lanore et Delprat, 2002) (cf. Tableau 11).

Semaine	Vincristine 0.75 mg/m ² IV	L-asparaginase 10 000 UI/m ² IM	Cyclophosphamide 250 mg/m ² IV ou VO	Doxorubicine 30 mg/m ² IV	Prednisone
Induction					
S 1		•			
S 2	•				
S 3	•				
S 4	•		•		
Maintenance (S 1 maintenance = S 7 induction)					
S 1				•	
S 4	•		•		
S 7	•		•		
S 1= S 10 (maximum 6 séances de Doxorubicine)					

Tableau 11: Protocole COPLA (ENVT)

VI.1.3.5. Protocole VELCAP

Il est basé sur l'utilisation de L-asparaginase, vincristine, cyclophosphamide, doxorubicine et prednisone. Il existe 2 variantes VELCAP-L (long) et VELCAP-S (short).

- Protocole VELCAP- L

C'est un protocole efficace pour les chiens jeunes atteints de lymphomes de stade I à III (cf. Tableau 12). Le taux de RC est de 69 % avec une durée médiane de RC de 385 jours (Zemann *et al.*, 1998).

Semaine	Vincristine 0.75 mg/m ² IV	L-asparaginase 10 000 UI/m ² IM	Cyclophosphamide 250 mg/m ² IV ou VO	Doxorubicine 25 mg/m ² IV	Prednisone 40 mg/m ² VO
Induction					
S 1	•				
S 2	•			•	
S 3	•				
S 4				•	
S 7	•	•	•		
S 8		•			
S 9		•			
S 12	•				
S 15	•				
S 18	•			•	
S 21	•		•		
S 24		•	•		
S 25		•			
S 27	•			•	
S 2Maintenance S 1 maintenance = S 28 induction					
S 1	•		•		
S 4	•		•		
S 7	•			•	
S 1= S 10 maximum 4 cycles					

Tableau 12: Protocole VELCAP-L (Zemann *et al.*, 1998).

- Protocole VELCAP- S

Ce protocole est fondé sur une induction de 15 semaines puis un arrêt du traitement jusqu'à la rechute. Si la rechute se produit 16 semaines après l'induction, une nouvelle induction est mise en place. Si la rechute se produit rapidement après l'induction, un protocole d'entretien identique au VELCAP-L est mis en place. L'intérêt de ce protocole (induction sans maintenance) est de réduire le nombre de visites chez le vétérinaire, et donc d'alléger les contraintes pour les propriétaires sans affecter le contrôle du lymphome (Moore *et al.*, 2001).

VI.1.3.5. Protocole MADISON-WISCONSIN

a) Induction et maintenance

Le protocole Madison-Wisconsin utilise la vincristine et le cyclophosphamide en association avec la L-asparaginase, la doxorubicine et la prednisone. Le taux de RC obtenu est de 84% et la durée médiane de RC est 252 jours (Keller *et al.*, 1993).

b) Induction sans maintenance

Il existe deux versions du protocole madison –Wisconsin sans phase de maintenance (cf. Tableau 13).

	Semaine																									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	11	13	15	17	19	21	23	25									
Chun et al. (2000)																										
L-asparaginase (400 IU/kg SC)	•																									
Vincristine (0.7 mg/m ² IV)	•		•			•		•		•		•		•		•										
Cyclophosphamide(250 mg/m ²)		•					•				•					•						•				
Doxorubicine (37.5 mg/m ² IV)				•					•				•											•		
Prednisone (2mg/kg/j PO 7 j. puis 1.5 mg/kg/j PO 7 j. puis 1mg/kg/j PO 7 j. puis 0.5 mg/kg/j PO 7 j.)																										
Garrett et al. (2002)																										
L-asparaginase (400 IU/kg SC)	•																									
Vincristine (0.7 mg/m ² IV)	•		•			•		•		•		•		•		•										
Cyclophosphamide(250 mg/m ²)		•					•				•					•						•				
Doxorubicine (30 mg/m ² IV)				•					•				•												•	
Prednisone (2mg/kg/j PO 7 j. puis 1.5 mg/kg/j PO 7 j. puis 1mg/kg/j PO 7 j. puis 0.5 mg/kg/j PO 7 j.)																										

Tableau 13: Comparaison de 2 protocoles de l'université Madison-Wisconsin sans maintenance (Chun et al., 2000 ; Garrett et al., 2002).

Le protocole présenté par Chun, caractérisé par une induction à dose intensifiée sans phase de maintenance permet d'obtenir des DR et des SG comparables à celles obtenues avec le protocole traditionnel. Cependant ce protocole entraîne une forte augmentation de la morbidité et de mortalité induite (Chun *et al.*, 2000).

Une autre version, le protocole UW-25, caractérisée par une intensification modérée de l'induction (dose) et sans maintenance est bien tolérée. Elle permet d'obtenir un taux de RC égale à 92.3% et une durée médiane de rémission de 282 jours sans augmentation de la mortalité et de la morbidité (Garrett *et al.*, 2002). De plus dans l'étude de Garret et al., l'utilisation de ce protocole sur 10 chiens en rechute a permis l'induction d'une seconde rémission complète dans 100% des cas (Garrett *et al.*, 2002).

VI.1.3.6. MOPP

Ce protocole utilisant la méchloréthamine, la vincristine, la procarbazine et la prednisone est a été testé comme traitement de rechute (cf. Tableau 14).

<i>Molécules du protocole MOPP*</i>	<i>Posologie (mg/m²)</i>	<i>Jours</i>
Mechlorethamine IV	3	1 et 8
Vincristine IV	0.7	1 et 8
Procarbazine PO	50	1-14
Prednisone PO	30-40	1-14

(* le protocole MOPP est un traitement cyclique de 28 jours. le 2^{ème} cycle commence le 28^{ème} jour).

Tableau 14: Protocole MOPP (Rassnick et al., 2002)

Le protocole MOPP est bien toléré et se révèle un traitement efficace pour ré-induire une rémission en cas de rechute ou après résistance à un premier traitement. Le taux de RC est de 31 % avec une médiane de RC de 63 jours et le taux de rémission (RC et RP) est de 65% (Rassnick *et al.*, 2002).

VI.1.3.7. Dacarbazine et Doxorubicine

L'activité de la dacarbazine en monochimiothérapie pour le traitement des lymphomes canins n'a pas été étudiée. L'association dacarbazine et doxorubicine a été testée sur 15 chiens, présentant un lymphome résistant à un protocole de polychimiothérapie comprenant de la doxorubicine. Une RC a été induite dans 1/3 des cas. Ce protocole est un traitement de rechute efficace avec une toxicité modérée (Van Vechten *et al.*, 1990)

VI.1.4. En pratique

VI.1.4.1. Induction et Maintenance

<i>Protocole</i>	<i>Taux de rémission complète</i>	<i>Médiane de survie</i>	<i>Commentaires</i>
COPLA	80 à 90%	12 mois	25 % de survie > 2 ans
Doxorubicine	75 à 85%	6 à 9 mois	5 à 6 séances maximum
COP	60 à 75%	6 à 7 mois	10-20% de survie à 1 an
Prednisone	50%	1 à 2 mois	Développement de MDR possible

Tableau 15: Protocoles de chimiothérapie les plus utilisés (d'après Ettinger, 2003).

VI.1.4.2. Réinduction

Lors de rechute, un traitement de réinduction est mis en place (cf. Tableau 16). La seconde rémission n'est obtenue que dans un cas sur trois et la durée de survie est en général de moitié par rapport à celle de la première rémission.

Il faut noter qu'une réinduction par la reprise d'un même protocole est possible si ce dernier a permis une rémission complète lors de la première induction. Par contre, si le protocole utilisé n'a pas permis l'induction d'une rémission complète et durable (14 à 21 jours), un nouveau protocole associant de nouvelles drogues est indiqué comme traitement de rechute (Ettinger, 2003).

<i>Protocole</i>	<i>Taux de réponse (RP et RC)</i>	<i>Durée médiane de réponse</i>	<i>Commentaires</i>
MOPP	65 à 88%	23 à 33 j	Etude sur 117 cas, 28% Toxicité gastro-intestinale, peu de cas de neutropénie sévère (Rassnick, 2002).
UW-25	100%	-	Etude sur 10 cas (Garrett, 2002).
Lomustine	26%	86 j	Etude sur 43 cas, 90 mg/m ² toutes les 3 semaines, Neutropénie sévère 7 jours après administration (Moore, 1999).
Doxorubicine	42%	145 j	Etude sur 12 chiens (Calvert, 1981).
Mitoxantrone	41%	94 à 126 j	Etude sur 74 chiens, toxicité minimale (Moore, 1994).
Actinomycine D	0%	-	Etude sur 25 chiens (Moore et al., 1994).

(- : données non disponibles)

Tableau 16: Principaux protocoles de réinduction (d'après Ettinger, 2003).

VI.2. IMMUNOTHERAPIE

L'immunothérapie est une voie thérapeutique fondée sur les modulations du système immunitaire.

Une étude, évaluant l'intérêt d'un vaccin tumoral autologue, a mis en évidence que les chiens vaccinés, après induction par polychimiothérapie, présentaient une SG moyenne de 341 jours contre 138 jours pour les chiens non vaccinés. De plus, les chiens répondant le mieux, étaient en RC au moment de la vaccination (Theilen *et al.*, 1977)

Plus récemment, l'immunothérapie basée sur l'anticorps monoclonal 231 (CL/Mab 231, Symbiotics Coporation, San Diego, CA) associée à la chimiothérapie permet de prolonger significativement la durée de RC et de SG (Jeglum *et al.*, 1996). Dans cette étude, l'administration quotidienne de l'anticorps monoclonal 231 pendant 5 jours à des chiens en RC après chimiothérapie, a permis d'obtenir une durée médiane de SG de 493 jours.

L'immunothérapie semble être une voie thérapeutique prometteuse, qui nécessite de plus amples recherches et une meilleure accessibilité (Theilen *et al.*, 1977; Jeglum *et al.*, 1996).

VI.3. CHIRURGIE

La chirurgie n'est pas le traitement de choix des lymphomes malins chez le chien. En effet, chez ce dernier la majorité des lymphomes sont multicentriques et nécessitent une chimiothérapie systémique. La chirurgie est cependant très utile pour le diagnostic histologique et présente un intérêt thérapeutique lors de lymphomes précoces (stade I ou II avec un bilan d'extension négatif) ou dans certains cas de lymphomes cutanés localisés.

Des études ont évalué le rôle de la chirurgie, la splénectomie notamment, dans le traitement du lymphomes canins multicentrique (Moldovanu *et al.*, 1966 ; Brooks *et al.*, 1987). L'étude de Brooks en 1987 a étudié le rôle de la splénectomie associée à la chimiothérapie chez 16 chiens atteints de lymphome et présentant des signes cliniques de splénomégalie massive (rupture de rate, hémopéritoine...). Suite à la chirurgie, 5 chiens sont morts de coagulopathie intra vasculaire disséminée et/ou de choc septique et 7 chiens ont eu une survie médiane de 420 jours. Ces résultats suggèrent que lors de splénomégalie entraînant des répercussions cliniques importantes, la chirurgie est indiquée dans le traitement des lymphomes canins et le pronostic n'est pas forcément mauvais.

VI.4. RADIOTHERAPIE

Comme la chirurgie, la radiothérapie est un moyen thérapeutique plutôt local et donc peu adapté aux traitements des lymphomes malins canins. Cependant, les lymphocytes normaux et tumoraux sont extrêmement radiosensibles et la radiothérapie présente certains intérêts (Meleo, 1997). Elle est indiquée dans les cas de lymphomes localisés présentant une mauvaise accessibilité chirurgicale (stades précoces I ou II, lymphome du système nerveux central, lymphome cutané localisé).

L'irradiation de la moitié du corps (1 dose de 7 Gy de radiation par moitié de corps et 28 jours d'intervalle entre 2 doses) n'est pas recommandée comme seul traitement des lymphomes malins canins multicentriques (Laing *et al.* 1989 a et b). Dans une étude portant sur 14 chiens, l'irradiation de la moitié du corps a permis une RC dans 2 cas seulement avec une durée moyenne de RC de 78 jours. Les effets secondaires (aplasie médullaire, pneumonie d'irradiation, troubles gastro-intestinaux) provoqués par le traitement étaient nombreux, plus sévères chez les chiens malades que chez les témoins sains et d'autant plus graves que la masse tumorale était importante (Laing *et al.* 1989 b).

Enfin, la radiothérapie peut être associée à la chimiothérapie dans le traitement des lymphomes canins. (Meleo, 1997 ; Williams *et al.*, 2004). Dans l'étude de Williams en 2004,

l'irradiation de la moitié du corps (2 doses de 4 Gy de radiations de Co par moitié de corps sur 2 jours consécutifs) après induction par chimiothérapie a permis d'obtenir un taux de RC égal à 78% et une durée médiane de RC de 486 jours (Williams *et al.*, 2004). Cependant la myélotoxicité est encore forte et le bénéfice obtenu reste faible face à la lourdeur du traitement.

DEUXIEME PARTIE : ETUDE RETROSPECTIVE

Le lymphome est un cancer souvent diagnostiqué dans l'espèce canine mais qui malheureusement ne se guérit pas. Cependant, c'est une tumeur qui répond bien à la chimiothérapie, les durées de survie varient de quelques semaines à quelques mois et les chiens, en rémission clinique, retrouvent une qualité de vie excellente. Les propriétaires sont souvent effrayés quant à la mise en place d'une chimiothérapie et leurs décisions reposent en grande partie sur les données pronostiques que peut fournir le vétérinaire.

Parmi les nombreux facteurs pronostiques (cf. première partie, chapitre V), le stade clinique a fait l'objet de nombreuses études dont les résultats sont parfois divergents. Il semble globalement que les stades cliniques avancés (IV et V) soient associés à un mauvais pronostic. Dans notre expérience personnelle, nous avons l'impression clinique que les stades V avec atteinte médullaire importante (>30%) sont de mauvais pronostics chez le chien.

Cette deuxième partie est donc consacrée à une étude rétrospective, fondée sur les cas de lymphome ayant eu un bilan d'extension et un suivi complet. Le but de notre étude était donc de confirmer ou d'infirmer notre hypothèse selon laquelle les chiens atteints de lymphome stade V avec infiltration de moelle supérieure à 30% ont des durées de survie plus courtes que les autres.

I. MATERIEL ET METHODES

L'étude a porté sur les cas de lymphomes malins canins présentés à la Clinique des animaux de compagnie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse et à la Clinique Vétérinaire de la Rivière (Plaisance du Touch), entre septembre 2000 et avril 2005.

I.1. CRITERES D'INCLUSION

La population étudiée est constituée de chiens présentant un lymphome malin multicentrique.

Les critères d'inclusion ont été:

- Un diagnostic de lymphome par examen cytologique et/ou histologique
- Un myélogramme dans le bilan d'extension

- La connaissance de la durée de survie, considérée comme la période entre le jour du diagnostic de lymphome et le jour du décès

I.2. AUTRES PARAMETRES

Chaque animal a été suivi grâce à une fiche de renseignements comprenant :

- La race
- Le sexe
- La date de naissance
- Le typage morphologique du lymphome
- Le reste du bilan d'extension : échographie abdominale, radiographie thoracique
- La nature du traitement

I.3. MATERIEL

I.3.1. Diagnostic cytologique et bilan d'extension

Cette étude a nécessité le matériel suivant:

- Microscope Nikon Eclipse E 400
- Microscope Olympus, modèle CH-2
- Echographe Dasonics, modèle Vingmed CFM 750
- Sondes de 5.0 et 7.5 MHz
- Appareil de radiologie de type Siemens tube Opti 150/30/500
- Colorant May Grunwald Giemsa (bleu de méthylène – éosine, référence 320070-025/320071, colorant Giemsa R, référence 3203106-0125, Réactifs Ral, Martillac , France)
- Aiguilles de 0.5 et 0.6 mm de diamètre
- Seringues
- Lames porte-objet

I.3.2. Analyses histologiques

- Microscope Nikon Eclipse E 400
- Hémalum (hématène), (Merck, référence 11487)
- Hématoxyline de Harris, (CML, référence 9999504)
- Eosine B, (Merck, référence 15934)

- Erythrosine B, (Merck, référence 15936)

I.4. METHODES

I.4.1. Réalisation du diagnostic

I.4.1.1. Examen cytologique :

Les cytoponctions ont été effectuées sur un ou plusieurs noeuds lymphatiques hypertrophiés. Elles ont été réalisées avec une aiguille fine (0.5 ou 0.6 mm de diamètre) sans aspiration. Après étalement et coloration, la lecture et l'interprétation des lames ont toutes été réalisées par la même personne.

I.4.1.2. Examen histologique

Les nœuds lymphatiques prélevés ont été fixés dans du formol à 10% tamponné à la neutralité puis envoyé au Laboratoire d'analyse Anatomo-Pathologique Vétérinaire de l'E.N.V.T.

Après déshydratation et inclusion en paraffine, les prélèvements ont fait l'objet de sections de 4 µm d'épaisseur et ont été colorés à l'hémalum éosine.

L'examen histologique a permis de confirmer le diagnostic cytologique.

I.4.2. Réalisation du bilan d'extension:

I.4.2.1. Myélogramme

Les moelles osseuses ont été prélevées sur la huitième ou neuvième côte, à la hauteur de la jonction chondro-costale. La zone d'élection était rasée et désinfectée sur environ 10 cm². Les moelles étaient aspirées à l'aide d'une aiguille de 0,5 mm de diamètre montée sur une seringue de 5 ou 10 ml. Les prélèvements étaient rapidement étalés sur plusieurs lames porte-objet pré dégraissées et identifiées. Les lames étaient ensuite séchées à l'air, colorés au May Grunwald Giemsa et observées au microscope au grossissement 1000.

L'interprétation des myélogrammes a été effectuée par 2 personnes différentes au cours de cette étude.

I.4.2.2. Echographie abdominale

Les échographies abdominales ont été réalisées par la même personne. Les éventuelles modifications du parenchyme splénique et hépatique, ainsi que les hypertrophies des nœuds lymphatiques profonds dus à l'infiltration tumorale n'ont pas été confirmées par analyse cytologique.

I.4.2.3. Radiographie du thorax

Les radiographies du thorax (face et profil) ont permis de détecter une adénomégalie et/ou une opacification pulmonaire.

I.4.3. Suivi des cas

Tous les chiens atteints de lymphome diagnostiqué par cytologie et/ou histologie présentant un bilan d'extension complet ont été répertoriés.

Les principales informations concernant le diagnostic, le bilan d'extension, le traitement et la durée de survie ont d'abord été recherchées dans les dossiers cliniques des animaux.

Lorsque les informations concernant le traitement et la durée de survie ne figuraient pas dans les dossiers, une investigation téléphonique a été menée auprès des propriétaires. Les questions posées ont concerné :

- la mise en place d'un traitement
- la nature du traitement
- la qualité de vie de l'animal suite au diagnostic
- la date de décès de l'animal

Lorsque le chien était toujours en vie à la fin de l'étude, la durée de survie qui a été prise en compte s'étendait du jour du diagnostic au 30 avril 2005.

II. RESULTATS

La totalité des critères décrits ci-dessous sont détaillés dans le tableau 26 situé en annexe.

II.1. DESCRIPTION DE LA POPULATION

Dans cette étude, 47 cas de lymphomes malins canins ont été retenus.

II.1.1. Répartition selon l'âge

La moyenne d'âge des chiens lors du diagnostic est de 8,3 ans et l'âge médian est de 8 ans. Le plus jeune chien avait 4,1 ans et le plus âgé 15,4 ans.

II.1.2. Répartition selon le sexe

Parmi les animaux faisant partie de l'étude, il y avait 27 chiens mâles (soit 57%), et 20 chiens femelles (43%) dont 4 stérilisées.

II.1.3. Répartition selon la race

Les chiens sont de 24 races différentes. Les chiens croisés (8/47), les Boxers (6/47), les Epagneul bretons (3/47), les Bassets (3/47), les Fox terriers (3/47) et les Labradors (3/47) sont les plus représentés (cf. Figure 1).

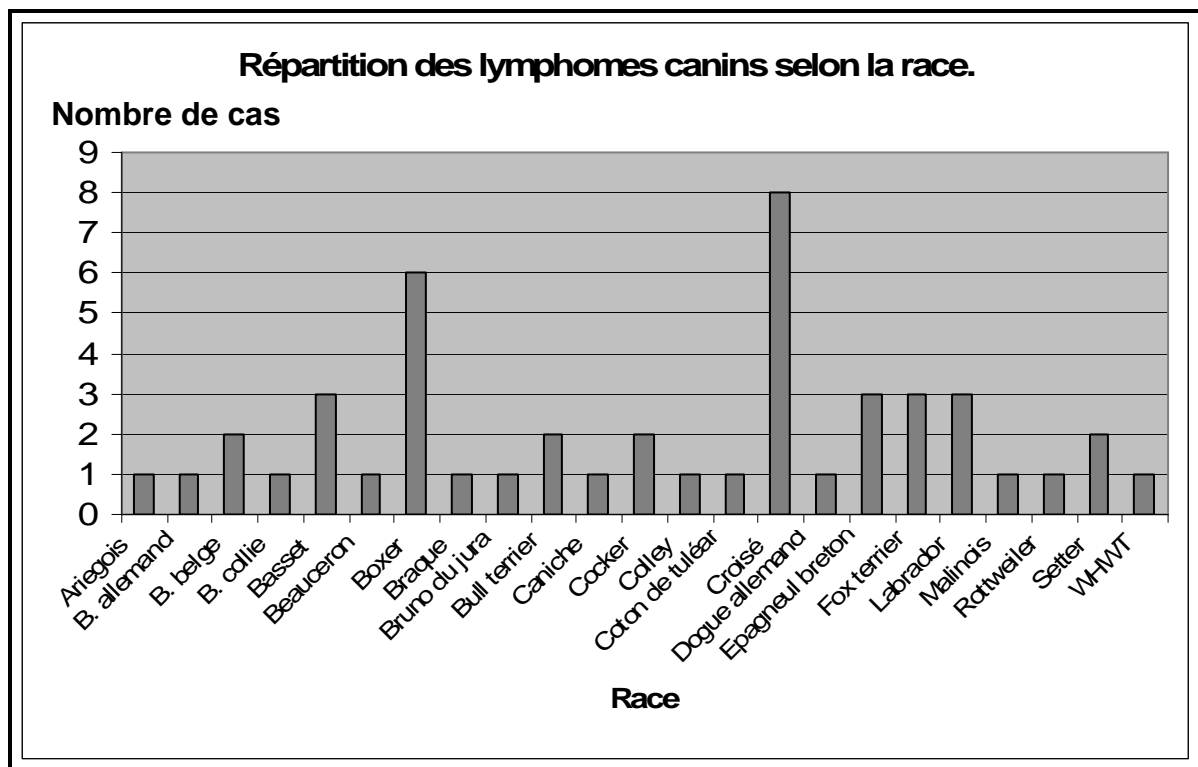


Figure 1: Répartition des lymphomes selon la race.

II.2. RESULTATS CONCERNANT LE LYMPHOME

II.2.1. Diagnostic

Le diagnostic de lymphome a été cytologique pour 46 cas dont 3 ont été confirmés par histologie. Un cas a été diagnostiqué par histologie uniquement.

Suite à la lecture cytologique, un essai de typage morphologique sans confirmation par l'immunomarquage, a été effectué. Pour 22 cas, le classement n'a pas pu être fait et parmi les 25 cas de lymphomes typés, 14 ont été reconnus comme étant (éventuellement) des lymphomes B et 11 comme lymphomes T (cf. Figure 2).

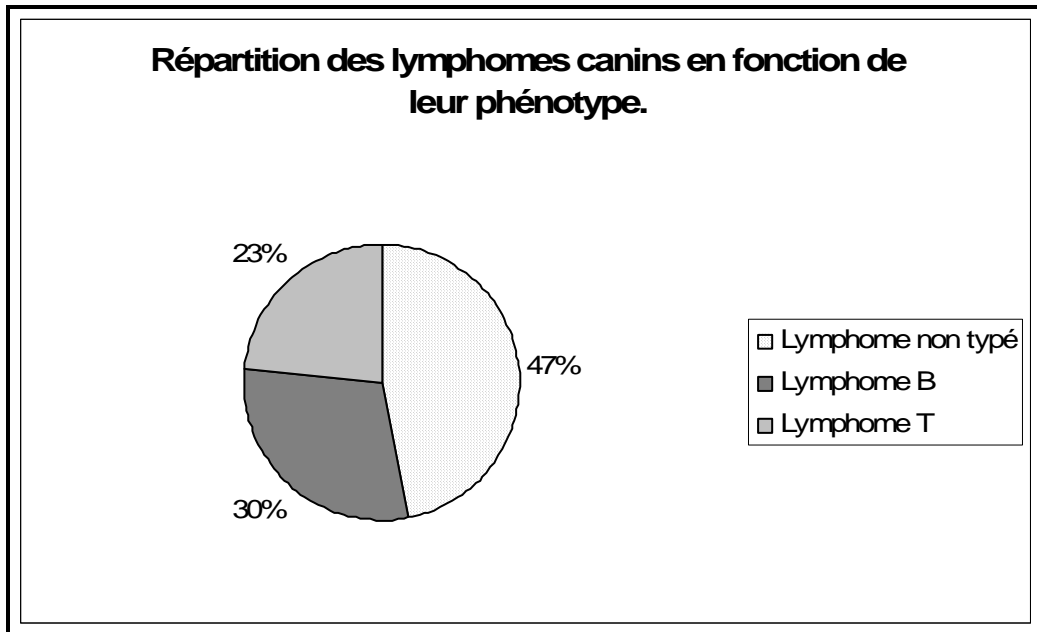


Figure 2: Répartition des lymphomes canins selon leur phénotype.

II.2.2. Stade clinique et sous-stade

II.2.2.1. Généralités

Le stade clinique selon le schéma de l’OMS, n’a pas pu être établi précisément dans 7 cas sur 22 (stade III ou IV) car les résultats de l’échographie abdominale n’étaient pas connus.

Les proportions respectives des différents stades cliniques de lymphomes sont de 0% pour les stades I et II, 8.5% pour les stades III (4 cas sur 47), 23.4% pour les stades IV (11 cas sur 47) et 53.2% pour les stades V (25 cas sur 47). Le groupe des stades III et IV représente 46.8 % des cas (22 cas sur 47) (cf. Figure 3).

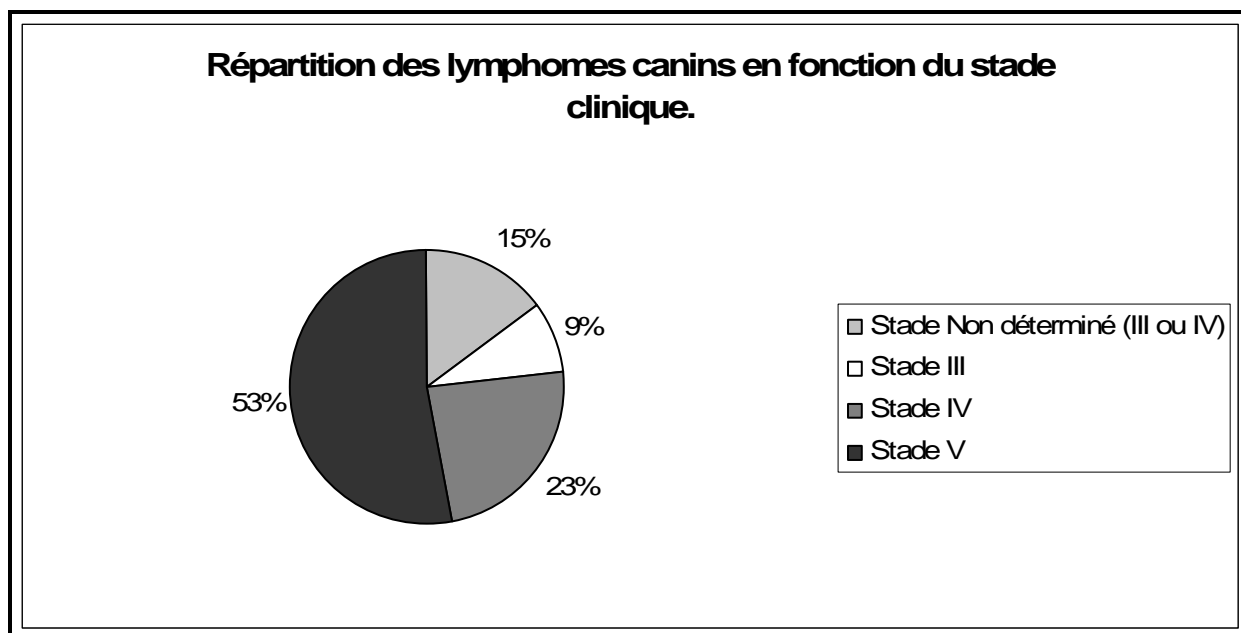


Figure 3: Répartition des lymphomes canins selon le stade clinique.

Parmi les 25 stades V, l'infiltration médullaire varie de 2% à 90% et 9 cas présentent une infiltration médullaire supérieure à 30%.

Les sous-stades a et les sous-stades b représentent respectivement 53% des cas (25 cas sur 47) et 47 % des cas (22 cas sur 47).

Les stades V, présentant une infiltration médullaire supérieure à 30%, sont dans 88.9% des cas (8 cas sur 9) associés à un sous-stade b.

II.2.2.2. Stade en fonction du type morphologique

Parmi les 25 stades V, 9 lymphomes sont éventuellement de type B, 7 lymphomes sont éventuellement de type T et 9 lymphomes sont non typés.

Parmi les 9 stades V dont l'infiltration médullaire est supérieure à 30%, 6 lymphomes sont de type T et 3 sont non typés. Donc parmi les stades V à infiltration médullaire supérieure à 30% et typés, 100% sont suspects d'être d'immunophénotype T.

II.2.3. Traitement

II.2.3.1. Généralités

Dans cette étude, 9 chiens n'ont pas reçu de traitement. Dix huit chiens ont été traités par un protocole de polychimiothérapie de type COPLA dont 3 ont reçu un traitement de rechute (cytarabine, lomustine ou doxorubicine). Huit chiens ont été traités par de la

doxorubicine dont 1 a reçu une corticothérapie avant la mise en place du traitement. Six chiens ont reçu des corticoïdes uniquement, 1 chien a reçu de la L-asparaginase seule et 1 chien a été traité par un protocole de Cotter.

Enfin, 4 chiens ont été traités sans que la nature du traitement soit connue.

II.2.3.2. Traitement en fonction du stade

La proportion des cas traités en fonction des différents stades est de 100% pour les lymphomes stade III (4 cas sur 4), 82% pour les stades IV (9 cas sur 11) et 80% pour les stades V (20 cas sur 25).

Parmi les 9 stades V, dont l'infiltration médullaire est supérieure à 30%, 7 cas ont été traités sur 9 (77% des cas) dont 4 par un protocole COPLA et 3 par corticothérapie seule.

II.2.4. Survie

II.2.4.1. Généralités

A la fin de l'étude, 4 chiens étaient toujours en vie. La durée moyenne de survie est de 149 jours (de 1 jour à 1185 jours) et la médiane de survie de 43 jours.

Pour les chiens non traités, la survie moyenne est de 38 jours et la survie médiane de 7 jours.

Pour les chiens traités, la survie moyenne est de 176 et la survie médiane de 59 jours.

II.2.4.2. Survie en fonction du stade et du sous-stade clinique

La survie médiane des chiens atteints de lymphome est de 339 jours pour les stades III, 90 jours pour les stades IV, 35 jours pour les stades V et 12 jours pour les stades V présentant une infiltration médullaire supérieure à 30% (cf. Tableau 17 et Figure 4).

Stade Clinique	Survie médiane	Survie moyenne	Survie médiane	Survie moyenne	Survie médiane	Survie moyenne
			lymphomes traités		lymphomes non traités	
III	339 j	354 j	339 j	354 j	Aucun cas	Aucun cas
IV	90 j	241 j	150 j	284.4 j	45 j	45 j
V	35 j	83.4 j	36 j	93.5 j	7 j	43 j
V infiltrations>30%	12 j	24.8 j	21 j	30.7 j	4 j	4 j

Tableau 17: Comparaison des durées de survie en fonction des stades cliniques et du traitement.

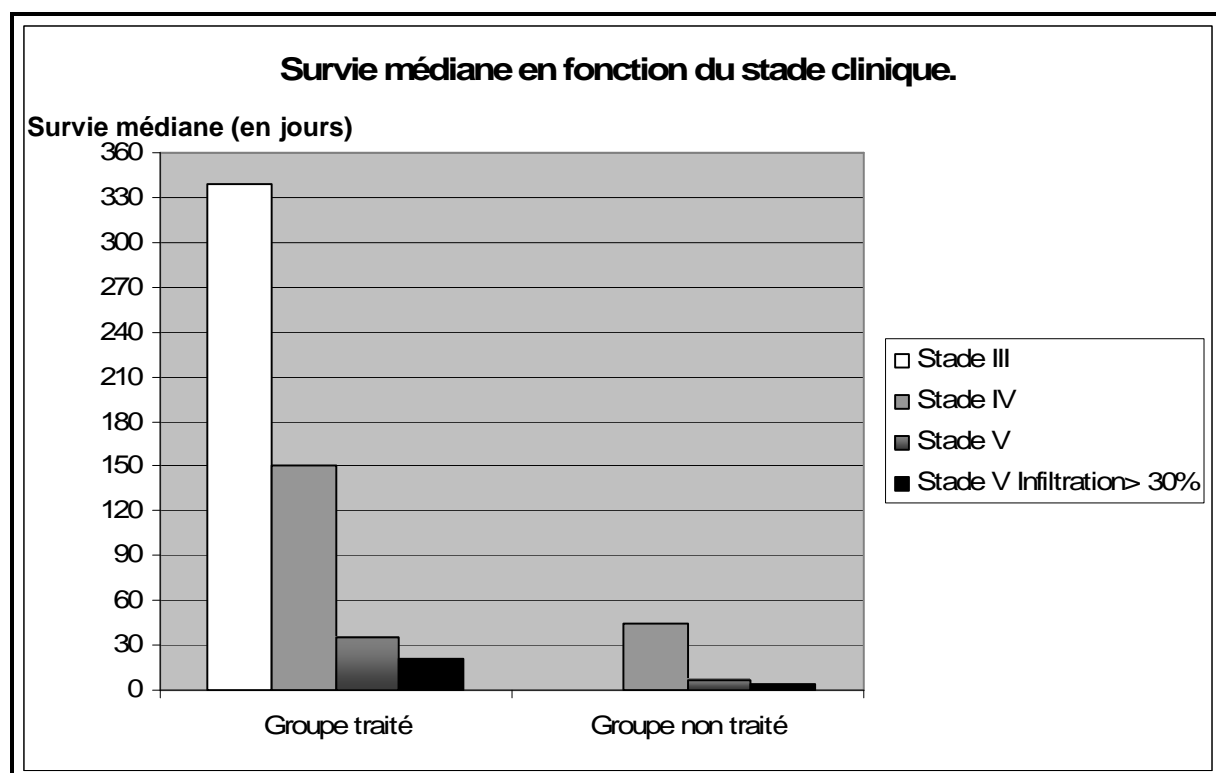


Figure 4: Survie médiane en fonction du stade clinique.

La survie médiane des cas traités par un protocole de type COPLA est de 128 jours pour les stades IV, de 33.5 jours pour les stades V et de 16.5 jours pour les stades V avec infiltration médullaire supérieure à 30% (cf. Tableau 18).

Stade Clinique	Nombre de cas	Survie médiane des lymphomes traités par COPLA	Survie moyenne
Stade III	0		
Stade IV	6	128 j	194 j
Stade V	12	33,5 j	125 j
Stade V infiltrations>30%	4	16,5 j	18,75 j

Tableau 18: Comparaison des durées de survie des lymphomes traités par COPLA.

La survie moyenne des chiens atteints de lymphome de sous-stade a est de 252,2 jours. Les sous stades b ont une survie moyenne de 31.6 jours.

III. DISCUSSION

III.1. DISCUSSION SUR LES RESULTATS DE L'ETUDE

III.1.1. Caractéristiques épidémiologiques de la population

III.1.1.1. Répartition selon l'âge

L'âge médian des chiens au moment du diagnostic est de 8 ans et la moyenne d'âge de 8.3 ans, ce qui correspond aux données citées dans la littérature (Teske, 1994 ; Baskin *et al.*, 2000 ; Dobson *et al.*, 2001).

III.1.1.2. Répartition selon le sexe

Les mâles représentent 57% de la population contre 43% pour les femelles, ces proportions sont en accord avec d'autres publications qui montrent une légère prédominance des mâles (Keller *et al.*, 1993 ; Jagielski *et al.*, 2002) ou une proportion équivalente de mâles et de femelles et une absence de prédisposition sexuelle (Teske, 1994 ; Dobson *et al.*, 2001).

III.1.1.3. Répartition selon la race

Certaines études ont démontré l'existence d'une prédisposition raciale pour le boxer, le basset et les retrievers (Keller *et al.*, 1993 ; Teske, 1994 ; Starrak *et al.*, 1997).

Dans notre étude, aucune prédisposition raciale n'est mise en évidence bien que les Boxers (12.8 % des cas), les Epagneul bretons (6.4 % des cas), les Bassets (6.4 % des cas), les Fox terriers (6.4 % des cas), et les Labradors (6.4 % des cas), soient les plus touchés.

III.1.2. Diagnostic et bilan d'extension

III.1.2.1. Type morphologique

Notre étude a tenté une approche de typage de 22 cas sur 47. La proportion de lymphome B est de 56% et celle de lymphome T est de 44%. Cependant l'immunophenotypage n'ayant pas été effectué, il est impossible de confirmer ces résultats. Par ailleurs, ces résultats ne correspondent pas aux données de la majorité des études dans lesquelles la proportion de lymphome B est bien plus élevée (Teske, 1994; Starrak *et al.*, 1997 ; Dobson *et al.*, 2001). Pourtant, une étude portant sur 57 cas de lymphomes

immunotypés révèle une prédominance des lymphomes T par rapport aux lymphomes B (Ponce *et al.*, 2004) (cf. Tableau19).

	Lymphome B	Lymphome T
Dobson, 2001	82.6%	13%
Starrak, 1997	79%	26%
Teske, 1994	71%	24%
Ponce, 2004	42.2%	57.8%
Notre étude	56%	44%

Tableau 19: Répartition des lymphomes selon leur type morphologique dans différentes études.

III.1.2.2. Stade clinique

Les stades V représentent 53.2% des cas de notre étude et ce pourcentage élevé n'est pas retrouvé dans de nombreuses études où la détermination exacte du stade clinique V n'est pas effectuée (Keller *et al.*, 1993 ; Starrak *et al.*, 1997 ; Phillips *et al.*, 2000 ; Jagielski *et al.*, 2002) et où le myélogramme n'est réalisé que lorsqu'il existe des modifications hématologiques (cytopénie, lymphocytose, circulation de lymphocytes anormaux) (Baskin *et al.*, 2000 ; Dobson *et al.*, 2001) (cf. Tableau 20).

	Stade III-IV	Stade V
Ponce, 2004	64.9 %	29.8
Jagielski, 2002	66%	14%
Dobson, 2001	89%	4%
Phillips, 2000	73.1%	26.9%
Starrak, 1997	67%	27%
Keller, 1993	70.9%	9.1%
Notre étude	46.8%	53.2%

Tableau 20: Répartition des lymphomes selon leur stade clinique dans différentes études.

Pourtant dans les études de Madewell en 1986 et de Raskin et Krehbiel en 1989 où le myélogramme est systématique, le pourcentage de cas présentant une infiltration médullaire est respectivement égal à 65% et 57%. De plus, les auteurs soulignent la faible sensibilité de l'examen sanguin pour détecter une infiltration médullaire : sur 57 cas, 72 % des chiens n'avaient pas d'anomalies hématologiques alors que le myélogramme indiquait que 57% des chiens présentaient une infiltration de la moelle osseuse (Raskin et Krehbiel, 1989). Donc, si le clinicien se contente de diagnostiquer ou suspecter les stades V lors d'anomalies hématologiques, il omet un cas sur deux.

Notre étude vient confirmer cette observation.

III.1.2.3. Sous-stade clinique

L'étude des sous-stades clinique révèle une plus grande proportion de sous-stades a (53%) que de sous-stades b (47%), prédominance observée dans la majorité des études (Keller *et al.*, 1993 ; Starrak *et al.*, 1997 ; Phillips *et al.*, 2000 ; Dobson *et al.*, 2001 ; Jagielski *et al.*, 2002) (cf. Tableau 21).

	Stade a	Stade b
Jagielski, 2002	62.7%	37.2%
Dobson, 2001	48.9%	51.1%
Phillips, 2000	56%	43%
Starrak, 1997	68.8%	31.2%
Keller, 1993	56%	44%
Notre étude	53%	47%

Tableau 21: Répartition des lymphomes selon leur sous stade clinique dans différentes études.

III.1.3. Traitement et survie

Les survies médianes de notre étude sont plus faibles que les données de la bibliographie. Cette différence peut s'expliquer par l'hétérogénéité des traitements de notre étude (corticoïdes, COPLA...) (cf. Tableau 22).

	Médiane de survie globale	Médiane de survie Stade V
Jagielski, 2002	246 jours	125 jours
Phillips, 2000	445 jours	346 jours
Keller, 1993	357 jours	98 jours
Notre étude	59 jours	36 jours

Tableau 22: Survie médiane dans différentes études.

A notre connaissance, aucune étude n'a comparé la valeur pronostique des stades V présentant une infiltration de moelle massive (c'est-à-dire supérieure à 30%). Cette étude permet d'observer que les infiltrations médullaires massives sont associées aux survies les plus courtes (Tableau 23, Tableau 25 et Figure 5).

Stade Clinique	Survie médiane Lymphome traité de notre étude
III	339 jours
IV	150 jours
V	36 jours
V infiltrations>30%	21 jours

Tableau 23: Survie médiane en fonction du stade clinique.

Cependant, bien que les stades V présentant une infiltration médullaire supérieure à 30% semblent avoir une durée médiane de survie plus courte que les autres stades (cf. Tableau 23), cette étude rétrospective ne permet pas une comparaison statistique des différentes durées de survie car les groupes formés ne sont pas homogènes. En effet, les durées de survie sont obtenues chez des chiens traités avec différents protocoles, et non avec un protocole standard (cf. Tableau 24). Elles sont donc difficilement comparables.

	COPLA	Doxorubicine	Corticoides	Autres	Non Traité
Stade III		2	2		
Stade IV	6	2		1	2
Stade V	12	3	4	1	5
Stade V infiltrations>30%	4		3		2

Tableau 24: Répartition des traitements en fonction du stade clinique.

De plus, si on compare les différents stades traités par le même protocole, le nombre de cas est insuffisant pour permettre une étude statistique (cf. Tableau 25 et Figure 5).

	Nombre de cas	Survie médiane COPLA
Stade III	0	/
Stade IV	6	128 jours
Stade V	12	33.5 jours
Stade V infiltrations>30%	4	16.5 jours

Tableau 25: Nombre de cas et survie médiane sous COPLA en fonction du stade clinique.

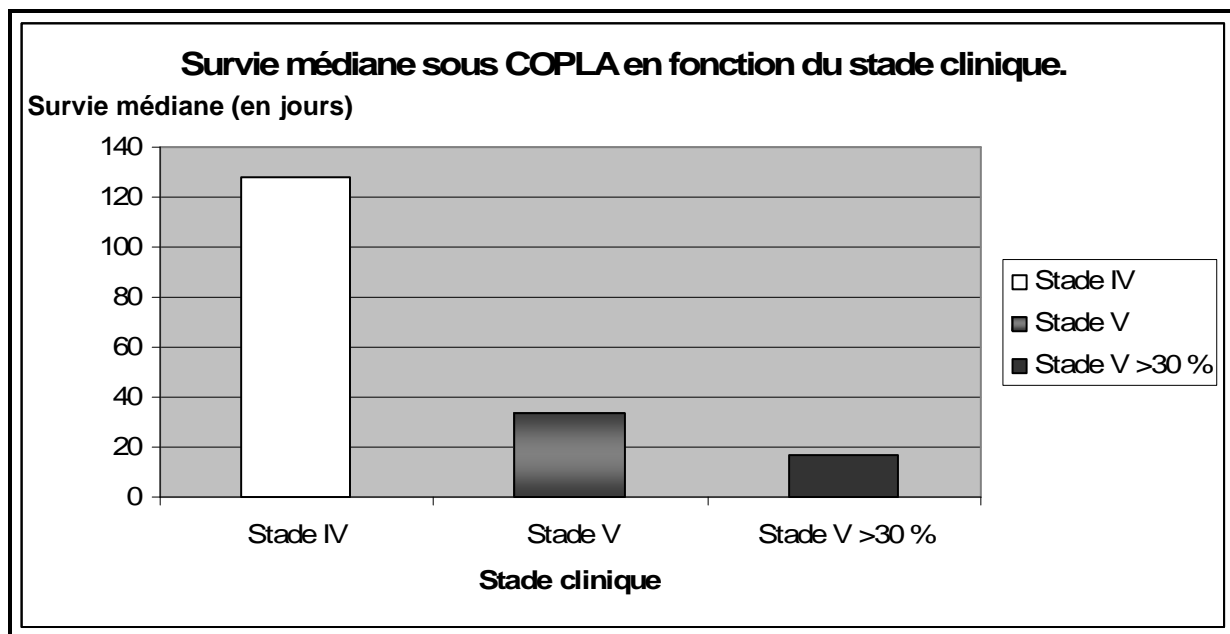


Figure 5: Survie médiane sous COPLA en fonction du stade clinique.

III.2. DISCUSSION SUR LES IMPERFECTIONS DE L'ETUDE

III.2.1. Le manque d'information

Notre étude est une étude rétrospective qui présente des défauts majeurs qui sont le manque d'information et de fiabilité. Ainsi, certaines données thérapeutiques et de suivi ont été difficiles à obtenir (investigation téléphonique) et reposent sur les souvenirs douloureux des propriétaires.

La détermination du stade clinique selon la classification de l'OMS a été effectuée en fonction des résultats des bilans d'extension réalisés. Or, certains bilans étaient incomplets (absence de résultats échographiques ou résultats douteux sans confirmation cytologique) et ne nous ont pas permis de déterminer précisément le stade clinique (III ou IV) de tous les animaux.

III.2.2. La représentativité de la population

Le recrutement des cas de cette étude ayant été fait à partir des résultats de myélogramme réalisé systématiquement dans le bilan d'extension du lymphome, il n'existe à

priori pas de biais pouvant expliquer la forte proportion de lymphome stade V dans cette étude. Cependant, de nombreux cas présentés à la consultation de cancérologie sont des cas référés, à un stade avancé de la maladie, ce qui pourrait expliquer le nombre important de stade V par rapport aux données de la bibliographie.

Les survies médianes de la population sont faibles par rapport aux autres études et donc difficilement comparables. En effet, en plus des données manquantes ou imprécises, les protocoles thérapeutiques de l'étude sont très différents et certains propriétaires ont préféré la corticothérapie à la chimiothérapie, ce qui réduit les durées de survie sous traitement.

Par ailleurs, des propriétaires ont préféré l'euthanasie de leur animal au moment du diagnostic ou bien l'absence de traitement, ce qui a réduit le nombre de cas pour l'étude des durées de survie sous chimiothérapie.

Les lymphomes de types T sont surreprésentés dans notre étude. La confirmation par immunomarquage aurait été intéressante pour confirmer le typage cytologique.

III.2.3. L'hétérogénéité des groupes

L'hétérogénéité des groupes due aux traitements, associée au faible nombre de cas de l'étude est un défaut majeur qui ne nous permet pas de comparer la durée de survie des stades cliniques avancés par rapport à celles des stades précoces.

III.3. DISCUSSION SUR LES QUALITES DE L'ETUDE

Malgré ces défauts, cette étude a le mérite de souligner l'importance du myélogramme dans le bilan d'extension du lymphome. Cet examen apporte des informations utiles au praticien :

- l'infiltration médullaire est fréquente au moment du diagnostic (53.2% des cas de notre étude).
- L'infiltration médullaire semble associée à des durées de survies faibles.
- Les infiltrations médullaires massives semblent associées aux lymphomes T.

III.4. PERSPECTIVE D'ETUDE

Il serait intéressant de réaliser cette étude de survie sur un plus grand nombre de cas ayant eu un bilan d'extension complet, un diagnostic morfo-immunologique selon une

classification précise et un protocole de chimiothérapie homogène. Cela permettrait une étude statistique rigoureuse afin de confirmer que l'infiltration médullaire est de mauvais pronostic.

De même, une étude prospective sur des cas de lymphomes suivis jusqu'à leur mort, permettrait d'avoir des données de suivi plus précises et complètes et d'éviter les imprécisions rencontrées dans une étude rétrospective.

En ce qui concerne le diagnostic de lymphome, l'immunophénotypage de tous les cas de lymphomes pourrait apporter de nouveaux résultats et confirmer l'observation de notre étude selon laquelle les infiltrations médullaires massives sont associées à des lymphomes T. De même, un diagnostic précis selon la classification de Kiel modifiée pourrait peut être identifier quels types de lymphomes T sont les plus impliqués.

CONCLUSION

De par leur fréquence, leur incidence croissante et leur issue fatale, les lymphomes malins canins constituent une préoccupation majeure en médecine vétérinaire. Sur le plan pronostique, le bilan d'extension est un critère important qui permet de déterminer le choix thérapeutique du vétérinaire et du propriétaire.

Notre travail, fondé sur une étude rétrospective sur 47 cas, confirme l'importance du myélogramme dans le bilan d'extension et souligne la nécessité d'effectuer un bilan d'extension avec rigueur avant la mise en place d'un traitement. En effet, le diagnostic de lymphome est souvent tardif et l'infiltration médullaire massive est associée à un mauvais pronostic.

Tableau 26: Liste des cas de lymphomes malins canins (2000-2005)

N°	Race	Sexe	Age (ans)	Diagnostic		Stade clinique	Sous-stade	% d'infiltration	Traitement	Survie (jours)
				Cytologique*	histologique					
1	B. belge	F	7	Lymphome		III-IV	b	0%	Non	1
2	Beauceron	M	7	LT Lymphoblastique		V	a	73%	COPLA	21
3	Malinois	F	7	LB centroblastique		V	b	15%	1/ Corticoïdes 2/ Doxorubicine	36
4	B. belge	F	7.5	Lymphome		V	b	>80%	COPLA	12
5	Croisé	M	8	Lymphome		III-IV	b	<0.5%	Oui	3
6	Setter	M	6	LT cellule moyenne		V	a	38%	Corticoïdes	70
7	Croisé	M	11.9	Lymphome		V	b	39%	Non	7
8	Boxer	F stérilisée	6.5	Lymphome		III-IV	a	0%	Oui	510
9	E. breton	F	6.2	Lymphome		III-IV	a	0%	Oui	150
10	Boxer	M	5	Lymphome		III-IV	a	0%	Doxorubicine	180
11	E. breton	F	9.8	LB centrocyte		III	a	0%	Doxorubicine	730
12	Rottweiler	M	9.2	LT cellule moyenne		III-IV	b	0%	Oui	38
13	Boxer	M	7	LT petite cellule		V	b	78%	COPLA	12
14	Croisé	M	9	LB centroblastique		IV	a	0%	Doxorubicine	1185

15	Caniche	F stérilisée	10.2	LB centroblastique		V	a	<10%	Doxorubicine	70
16	B. français	F	4.1	LB centroblastique		IV	a	0.5%	1/ COPLA 2/ Cytarabine	150
17	Labrador	M	11	LB centroblastique		III-IV	a	0%	Non	32
18	E. breton	M	11	LT imunoblastique		IV	a	0%	1/ COPLA 2/ Doxorubicine	58
19	D.allemand	F	4.1	LB centroblastique	Haut grade	V	b	13%	COPLA	60
20	Ariégeois	M	5.1	Lymphome		V	a	11%	COPLA	385
21	Fox terrier	M	10.1	Lymphome		IV	a	0%	Doxorubicine	27
22	B. allemand	M	8	Lymphome		V	b	21%	L-asparaginase	1
23	Border collie	M	9.2	Lymphome		IV	a	0%	COP	75
24	Boxer	F	10.5	Lymphome bas grade		V	a	18%	Non	176
25	Croisé	M	7.5	Lymphome haut grade		V	b	7%	Non	1
26	Bull terrier	F	11.4	LT		IV	b	0%	Non	1
27	Fox terrier	F stérilisée	15.4	LB centroblastique		V	b	2.5%	Corticoïdes	30
28	Setter	M	9.1	LB centroblastique	Haut grade	V	b	11%	COPLA	15
29	Boxer	M	7.9	LB centroblastique		V	a	19%	Non	30
30	Basset	M	7.7	LB		V	a	2%	COPLA	760
31	Labrador	F	6.6	LT		IV	a	0%	1/ COPLA 2/ Lomustine	74

32	Fox terrier	F stérilisée	7.4	non	lymphome	III	b	0%	Corticoïdes	9
33	Cocker	F	7.3	Lymphoblastique		III	a	0%	corticoïdes	30
34	Boxer	F	6.1	LT lymphoblastique	Haut grade	V	b	90%	Non	1
35	Croisé	F	9.8	Lymphome haut grade		V	b	90%	Corticoïdes	60
36	Bruno du jura	M	4.5	LT lymphoblastique		V	b	50%	Corticoïdes	10
37	Croisé	F	8.7	LB centroblastique		V	b	25%	Doxorubicine	135
38	Labrador	M	8.4	Lymphome haut grade		V	a	7.5 %	COPLA	49
39	Croisé	F	4.7	LB		V	b	11%	COPLA	90
40	Cocker	M	10	LB immunoblastique		IV	a	0%	Non	90
41	Basset	M	12.3	Lymphome		V	b	7.5%	COPLA	30
42	C. de Tuléar	M	6.5	Lymphome		IV	a	0%	COPLA	349
43	WHWT	M	5	Lymphome		III	a	0%	Doxorubicine	648
44	D. bordeaux	M	4.5	LT		V	b	10%	COPLA	37
45	Croisé	M castré	12.7	Lymphome		IV	a	0%	COPLA	427
46	Basset	M	9.5	Lymphome haut grade		IV	b	0%	COPLA	107
47	Bull Terrier	F	9	LT		V	a	90%	COPLA	30

* Selon la classification de Kiel modifiée

BIBLIOGRAPHIE

BASKIN, C.R., COUTO, C.G., WITTUM, T.E.

Factors influencing first remission and survival in 145 dogs with lymphoma: a retrospective study.

J Am Anim Hosp Ass., 2000, **36** (5), 404-409.

BERGMAN, P.J., OLGIVIE, G.K., POWERS, B.E.

Monoclonal antibody C219 Immunohistochemistry against P-Glycoprotein: sequential analysis and predictive ability in dogs with lymphoma.

J Vet Intern Med., 1996, **10** (6), 354-359.

BLACKWOOD, L., SULLIVAN, M., LAWSON, H.

Radiographic abnormalities in canine multicentric lymphoma: a review of 84 cases.

J small Anim Pract., 1997, **38** (2), 62-69.

BOYCE, K.L., KITCHELL, B.E.

Treatment of canine lymphoma with COPLA/LVP.

J Am Anim Hosp Ass., 2000, **36** (5), 395-403.

BRAUD, S.

Les lymphomes malins canins : sous-types morphologiques et pronostic.

Etude bibliographique et étude personnelle rétrospective de 362 cas.

Thèse de médecine vétérinaire : Lyon, 2003.

BROOKS, M.B., MATUS, R.E., LEIFER, C.E., et al.

Use of splenectomy in the management of lymphoma in dogs: 16 cases (1976-1985).

J Am Vet Med Ass., 1987, **191**, 1008-1010.

CALVERT, C.A., LEIFER, C.E.

Doxorubicin for treatment of canine lymphosarcoma after development of resistance to combination chemotherapy.

J Am Vet Med Ass., 1981, **179** (10), 1011-2.

CARIOTO, L.M., KRUTH, S.A., BETTS, D.H; et al.

Telomerase activity in clinically normal dogs and dogs with malignant lymphoma.

Am J Vet Res., 2001, **62** (9), 1442-1446.

CARTER, R.F., HARRIS C.K., WITHROW, S.J., et al.

Chemotherapy of canine lymphoma with histopathological correlation: Doxorubicin alone compared to COP as first treatment regimen.

J Am Anim Hosp Ass., 1987, **23**, 587-596.

CHUN, R., GARRETT, L.D., VAIL, D.M.

Evaluation of a high-dose chemotherapy protocol with no maintenance therapy for dogs with lymphoma.

J Vet Intern Med., 2000, **14** (2), 120-124.

- COTTER, S.M.
Treatment of lymphoma and leukaemia with cyclophosphamide, vincristine, and prednisone :
I. Treatment of dogs.
J Am Anim Hosp Ass., 1983, **19**, 159-165.
- COTTER, S.M., GOLDSTEIN, M.A.
Comparison of two protocols for maintenance of remission in dogs with lymphoma.
J Am Anim Hosp Ass., 1987, **23**, 495-499.
- COUTO, C.G.
Canine lymphomas: something old, something new.
Compend cont educ., 1985, **7** (4), 291-300.
- COUTO, C.G., CULLEN, J., PEDROIA, V. et al.
Central nervous system lymphosarcoma in the dog.
J Am Vet Med Ass., 1984, **184** (7), 809-13;
- COUTO, C.G., RUTGERS, H.C., SHERDING, R.G. et al.
Gastrointestinal lymphoma in 20 dogs. A retrospective study.
J Vet Intern Med., 1989, **3** (2), 73-8.
- DAVIS, S.
Nutritional factors and the development of non-Hodgkin's lymphoma: a review of the evidence.
Cancer Res., 1992, **52** (19 Suppl.), 5492-5495.
- DELVERDIER, M., BUCHET, B., VAN HAVERBEKE, G.
Histologie et cytologie des lymphomes malins canins. Etude comparative des classifications actuelles.
Revue Med Vet., 1988, **139** (12), 1141-1150.
- DOBSON, J.M., BLACKWOOD, L.B., MCINNES, E.F. et al.
Prognostic variables in canine multicentric lymphosarcoma.
J Small Anim Pract., 2001, **42** (8), 377-84.
- DOBSON, J.M., GORMAN, N.T.
Canine multicentric lymphoma. 2: Comparison of response to two chemotherapeutic protocols.
J Small Anim Pract., 1994, **35**, 9-15.
- ETTINGER, S.N.
Principles of treatment for canine lymphoma.
Clin tech small anim pract., 2003, **18** (2), 92-97.
- FAN, T.M.
Lymphoma updates.
Vet Clin North Am Small Anim Pract., 2003, **33**, 455-471

- FAN, T.M., KITCHELL, B.E.
An update on diagnosing and treating canine lymphosarcoma.
Vet Med., 2002, **97** (1), 58-67.
- FOURNEL-FLEURY, C., MAGNOL, J.P., BRICAIRE, P. et al.
Cytohistological and immunological classification of canine malignant lymphomas: comparison with human non-Hodkin's lymphomas.
J Comp Pathol., 1997 (a), **117** (1), 35-59.
- FOURNEL-FLEURY, C., MAGNOL, J.P., CHABANNE, L. et al.
Growth fractions in canine non-Hodkin's lymphomas as determined in situ by the expression of the KI-67 antigen using the monoclonal antibody MIB-1
J Comp Pathol., 1997 (b), **117** (1), 61-72.
- FOURNEL-FLEURY, C., PONCE, F., FELMAN, P. et al.
Canine T-cell lymphomas: a morphological, immunological, and clinical study of 46 new cases.
Vet Pathol., 2002, **39** (1), 92-109.
- GARRETT, L.D., DOUGLAS, H.T., CHUN, R. et al.
Evaluation of 6-mont chemotherapy protocol with no maintenance therapy for dogs with lymphoma.
J Vet Intern Med., 2002, **16** (6), 704-709.
- GAVAZZA, A., PRESCIUTTINI, S., BARALE, R. et al.
Association between canine malignant lymphoma, living in industrial areas, and use of chemicals by dog owners.
J Vet Intern Med., 2001, **15** (3), 190-5.
- GRINDEM, C.B., BREITSCHWERDT, E.B., CORBETT, W.T. et al.
Thrombocytopenia associated with neoplasia in dogs.
J Vet Intern Med., 1994, **8** (6), 400-405.
- HAHN, K.A., FREEMAN, K.P., BARNHILL, M.A., et al.
Serum alpha 1-acid glycoprotein concentrations before and after relapse in dogs with lymphoma treated with doxorubicin.
J Am Vet med Ass., 1999, **214** (7), 1023-5.
- HAHN, K.A., RICHARDSON, R.C., TECLAW, R.F. et al.
Is maintenance chemotherapy appropriate for the management of canine malignant lymphoma?
J Vet Intern Med., 1992, **6** (1), 3-10.
- HAHN, K.A., RICHARDSON, R.C., HAHN, E.A. et al..
Diagnostic and prognostic importance of chromosomal aberrations identified in 61 dogs with lymphosarcoma.
Vet Pathol., 1994, **31** (5), 528-40.

- HAMMER, A.S., COUTO, C.G., AYL, R.D. et al.
Treatment of tumor-bearing dogs with actinomycin D.
J Vet Intern Med., 1994, **8** (3), 236-9.
- HAWKINS, E.G., MORRISON, W.B., DeNICOLA, D.B. et al.
Cytologic analysis of bronchoalveolar lavage fluid from 47 dogs with multicentric malignant lymphoma.
J Am Vet Med Ass., 1993, 203 (10), 1418-1425.
- HAYES, H.M., TARONE, R.E., CANTOR, K.P. et al.
Case-control study of canine malignant lymphoma: positive association with dog owner's use of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid herbicides.
J Natl Cancer Inst., 1991, **83** (17), 1226-31.
- HOHENHAUS, A.E., MATUS, R.E.
Etoposide (VP-16): retrospective analysis of treatment in 13 dogs with lymphoma.
J Vet Intern Med., 1990, **4** (5), 239-241.
- JAGIELSKI, D., LECHOWSKI, R., HOFFMANN-JAGIELSKA, et al.
A retrospective study of the incidence and prognostic factors of multicentric lymphoma in dogs (1998-2000).
J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med., 2002, **49** (8), 419-24.
- JEGLUM, K.A.
Chemoimmunotherapy of canine lymphoma with adjuvant canine monoclonal antibody 231.
Vet Clin North Am Small Anim Pract., 1996, **26** (1), 73-85.
- KELLER, E.T., MACEWEN, E.G., ROSENTHAL, R.C. et al.
Evaluation of prognostic factors and sequential combination chemotherapy with doxorubicin for canine lymphoma.
J Vet Intern Med., 1993, **7** (5), 289-95.
- KIUPEL, M., BOSTOCK, D., BERGMANN, V.
The prognostic significance of AgNOR counts and PCNA-positive cell counts in canine malignant lymphomas.
J Comp Pathol., 1998, **119**(4), 407-18.
- KIUPEL, M., TESKE, E., BOSTOCK, D.
Prognostic factors for treated canine malignant lymphoma.
Vet Pathol., 1999, **36** (4), 292-300.
- KROHNE, S.D.G., HENDERSON, N.M., RICHARDSON, R.C et al.
Prevalence of ocular involvement in dogs with multicentric lymphoma: prospective evaluation of 94 cases.
Vet Compar Ophth., 1994, **4**, 127-135.
- LAING, E.J., FITZPATRICK, P.J., NORRIS, A.M. et al.
Half-body radiotherapy : evaluation of technique in normal dogs.
J Vet Intern Med., 1989 (a), **3**, 96-101.

- LAING, E.J., FITZPATRICK, P.J., BINNINGTON, A.G. et al.
Half-body radiotherapy in treatment of canine lymphoma.
J Vet Intern Med., 1989 (b), **3**, 102-108.
- LANORE, D., DELPRAT, C.
Chimiothérapie anticancéreuse.
Abrégés vétérinaires, Edition Masson 2002 : 161 p.
- LUCROY, M.D., PHILLIPS, B.S., KRAGEL, S.A. et al.
Evaluation of single-agent mitoxantrone as chemotherapy for relapsing canine lymphoma
J Vet Intern Med., 1998, **12** (5), 325-9.
- MAC EWEN, E.G., BROWN, N.O., PATNAIK A.K. et al.
Cyclic combination chemotherapy of canine lymphosarcoma.
J Am Vet Med Ass., 1981, **178** (11), 1178-81.
- MAC EWEN, E.G., HAYES, A.A., MATUS, R.E. et al.
Evaluation of some prognostic factors for advanced multicentric lymphosarcoma in the dog:
147 cases (1978-1981).
J Am Vet Med Ass., 1987, **190** (5), 564-8.
- MAC EWEN, E.G., ROSENTHAL R., FOX L.E. et al.
Evaluation of L-asparaginase: polyethylene glycol conjugate versus native L-asparaginase
combined with chemotherapy. A randomized double-blind study in canine lymphoma.
J Vet Intern Med., 1992, **6** (4), 230-4.
- MADEWELL, B.R.
Chemotherapy for canine lymphosarcoma.
Am J Vet Res., 1975, **36** (10), 1525-8
- MADEWELL, B.R.
Canine lymphoma.
Vet Clin North Am Small Anim Pract., 1985, **15** (4), 709-22.
- MADEWELL, B.R.
Hematologic and bone marrow cytological abnormalities in 75 dogs with malignant
lymphoma.
J An Anim Hosp Ass., 1986, **22**, 235-240.
- MADEWELL, B.R.
Diagnosis, assessment of prognosis, and treatment of dogs with lymphoma: the sentinel
changes (1973-1999)
J Vet Intern Med. 1999 Sep-Oct ; 13(5) : 393-4.
- MADEWELL, B.R., THEILEN, G.H.
Hematopoietic neoplasms, sarcomas and related conditions. Part IV: canine.
In: Madewell B.R., Theilen G.H.
Veterinary Cancer Medicine 2nd Ed.
Philadelphia., Lea et Febiger., 1987, 392-407.

- MADEWELL, BR, MUNN, RJ.
Canine lymphoproliferative disorders. An ultrastructural study of 18 cases.
J Vet Intern Med., 1990, **4** (2), 63-70.
- MAGNOL, J.P., MARCHAL, T., DELISLE, et al.
Cancérologie clinique du chien.
Edition à compte d'auteur. Lyon, France, 1998, 438 p.
- MELEO, K.A.
The role of radiotherapy in the treatment of lymphoma and thymoma.
Vet Clin North Am Small Anim Pract., 1997, **27** (1), 115-29.
- MOLDAVANU, G., FRIEDMAN, M., MILLER, D.G.
Treatment of canine malignant lymphoma with surgery and chemotherapy.
J Am Vet Med Ass., 1966, **148**, 153-156.
- MOORE, A.S., OGILVIE, G.K., RUSLANDER, D., et al.
Mitoxantrone for the therapy of canine lymphoma.
J Am Vet Med Ass., 1994 (a), **204**, 1903-1905.
- MOORE, A.S., OGILVIE, G.K., VAIL, D.M.
Actinomycin-D as a rescue agent for canine lymphoma.
J Vet Intern Med., 1994 (b), **8**, 343-344.
- MOORE, A.S, LONDON, C.A., WOOD, C.A. et al
Lomustine (CCNU) for the treatment of resistant lymphoma in dogs.
J Vet Intern Med., 1999, **13** (5), 395-8.
- MOORE, A.S., COTTER, S.M., RAND, W.M. et al.
Evaluation of a discontinuous treatment protocol (VELCAP-S) for canine lymphoma.
J Vet Intern Med., 2001, **15** (4), 348-54.
- MOORE, A.S., KITCHELL, B.E.
New chemotherapy agents in veterinary medicine.
Vet Clin Small Anim., 2003, **33**, 629-649.
- MOORE, P.F., OLIVRY, T., NAYDAN D.
Canine cutaneous epitheliotropic lymphoma (mycosis fungoides) is a proliferative disorder of CD 8+ T-cells.
Am J Pathol., 1994, **144**, 421-429
- MORRIS, J., DOBSON, J.
Haematopoietic system.
In: Small Animal Oncology.
Blackwell science 2001, 228-251.
- MOULTON, J.E., HARVEY, J.W.
Tumours in domestic animal. Third Edition., revised and expanded
Moulton JE Ed. California., 1990, 672 p.

- MYERS, N.C., MOORE, A.S., RAND, W.M. et al.
Evaluation of multidrug chemotherapy protocol (ACOPA II) in dogs with lymphoma.
J Vet Intern Med., 1997, **11** (6), 333-9.
- NAKAMURA, N., MOMOI, Y., WATARI, T. et al.
Plasma Thymidine Kinase activity in dogs with lymphoma and leukaemia
J Vet Med Sci., 1997, **59** (10), 957-960.
- NELSON, W.R., COUTO, C.G.
Lymphoma in the cat and dog.
In: *Small Animal Internal Medicine*, 1998, 1123-1133.
- NORTHRUP, N.C., RASSNICK, K.M., SNYDER, L.A. et al.
Neutropenia associated with vincristine and L-asparaginase induction chemotherapy for canine lymphoma.
J Vet Intern Med., 2002, **16** (5), 570-5.
- OGILVIE, G.K., MOORE, A.S.
Manuel pratique de cancérologie vétérinaire.
Maisons-Alfort : Editions du point Vétérinaire, 1997, 539 p.
- ONIONS, D.E.
A prospective survey of familial canine lymphosarcoma.
J Natl Cancer Inst., 1984, **72**, 909-912.
- PASTOR, M.
Caractéristiques épidémiologiques des lymphomes malins du chien.
Etude rétrospective à l'échelon national de 608 cas à partir de matériel histologique et immunohistochimique.
Thèse de médecine vétérinaire : Lyon 2002, 150 p.
- PHILLIPS, B.S., KASS, P.H., NAYDAN, D.K. et al.
Apoptotic and proliferation indexes in canine lymphoma.
J Vet Diagn Invest., 2000, **12** (2), 111-7.
- PONCE, F., MAGNOL, J.P., MARCHAL, T. et al.
High-grade canine T-cell Lymphoma/leukemia with plasmacytoid morphology: a clinical pathology study of nine cases.
J Vet Diagn Invest., 2003, **15**, 330-337.
- PONCE, F., MAGNOL, J.P., LEDIEU, D. et al.
Prognostic significance of morphological subtypes in canine malignant lymphomas during chemotherapy.
Vet J., 2004, **167**, 158-166.
- POSTORINO, N.C., SUSANECK, S.J., WITHROW, S.J. et al.
Single agent therapy with adriamycin for canine lymphosarcoma.
J Am Anim Hosp ass., 1989, **25**, 221-225.
- PRICE, G.S., PAGE, R.L., FISCHER, B.M. et al.

Efficacy and toxicity of doxorubicin/cyclophosphamide maintenance therapy in dogs with multicentric lymphosarcoma.

J Vet Intern Med., 1991, **5** (5), 259-62.

RASKIN, R.E., KREHBIEL, J.D.

Prevalence of leukemic blood and bone marrow in dogs with multicentric lymphoma.

J Am Vet Med Ass., 1989, **194** (10), 1427-9.

RASSNICK, K.M., MAULDIN, G.E., AL-SARRAF, R. et al.

MOPP chemotherapy for treatment of resistant lymphoma in dogs: a retrospective study of 117 cases (1989-2000).

J Vet Intern Med., 2002, **16** (5), 576-80.

REIF, J.S., LOWER, K.S., OGILVIE, G.K.

Residential exposure to magnetic fields and risk of canine lymphoma.

Am J Epidemiol., 1995, 141(4), 352-9.

ROSENBERG, M.P., MATUS, R.E., PATNAIK, A.K.

Prognostic factors in dogs with lymphoma and associated hypercalcemia.

J Vet Intern Med., 1991, **5** (5), 268-71.

ROSENTHAL, R.C., MACEWEN, G.

Treatment of lymphoma in dogs.

J Am Vet Med Ass., 1990, **196** (5), 774-780.

RUSLANDER, D., MOORE, A.S., GLIATTO, J.M. et al.

Cytosine arabinoside as a single agent for the induction of remission in canine lymphoma.

J Vet Intern Med., 1994, **8** (4), 299-301.

SEMAN, G., PROENCA, G., GIULLON, J.C. et al.

Particules d'aspect viral dans les cellules de lymphosarcome du chien.

Bull Acad Vet fr., 1967, **4**, 211-214.

SQUIRE, R.A., BUSH, M., MELBY, E.C. et al.

Clinical and pathologic study of canine lymphoma: clinical staging, cell classification, and therapy.

J Natl Cancer Inst., 1973, **51**(2), 565-74.

STARRAK, G.S., BERRY, C.R., PAGE, R.L. et al.

Correlation between thoracic radiographic changes and remission/survival duration in 270 dogs with lymphosarcoma.

Vet Radiol Ultrasound., 1997, **38** (6), 411-8.

STONE, M., GOLDSTEIN, M., COTTER, S.

Comparison of two protocols for induction of remission in dogs with lymphoma

J Am Anim Hosp Ass., 1991, **27** (3), 315-321.

SWANSON, J.F.

Ocular manifestations of systemic disease.

Vet Clin North Am Small Anim Pract., 1990, **20**, 849-867.

THEILEN, G.H., WORLEY, M., BENJAMINI, E.
Chemoimmunotherapy for canine lymphosarcoma.
J Am Vet Med Ass., 1977, **170**: 607-610.

TESKE, E.
Prognostic factors for malignant lymphoma in the dog: an update.
Vet Quart., 1994, **16** (Suppl. 1), 29S-31S.

TESKE, E.
Canine malignant lymphoma: a review and comparison with human non-Hodgkin's lymphoma.
Vet Quart., 1994, **16** (4), 209-19.

TESKE, E., DE VOS J.P., EGBERINK H.F. et al.
Clustering in canine malignant lymphoma
Vet Quart., 1994 (a), **16** (2), 134-6.

TESKE, E., VAN HEERDE, P., RUTTEMAN, G.R. et al.
Prognostic factors for treatment of malignant lymphoma in dogs.
J Am Vet Med Ass., 1994 (b), **205** (12), 1722-8.

TESKE, E., WISMAN, P., MOORE, P.F. et al.
Histologic classification and immunophenotyping of canine non-Hodgkin's lymphomas
Exp Hematol., 1994 (c), **22** (12): 1179-87

TESKE, E., VAN HEERDE, P.
Diagnostic value and reproducibility of fine-needle aspiration cytology in canine malignant lymphoma.
Vet Quart., 1996, **18** (3), 112-5.

VAIL, D.M.
Lymphoproliferative and myeloproliferative disorders
In: BSAVA Manual of canine and feline oncology, 2003, 276-292.

VAIL, D.M.
Hematopoietic tumors.
In: ETTINGER V., 2000: 507-523.

VAIL, D.M., KISSEBERTH, W.C., OBRADOVICH, J.E. et al.
Assessment of potential doubling time (T_{pot}), argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNORs), and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) as predictors of therapy response in canine non-hodgkin's lymphoma.
Exp Hematol. 1996 Jun ; 24(7) : 807-15.

VAIL, D.M., MACEWEN, E.G., YOUNG, K.M.
Canine lymphoma and lymphoid leukaemias.
In: WITHROW S.J., MACEWEN E.G.
Small Animal Oncology 3rd Ed.
Philadelphia: WB Saunders., 2001, 558-590.

- VALERIUS, K.D., OGILVIE, G.K., MALLINCKRODT, C.H. et al.
Doxorubicin alone or in combination with asparaginase, followed by cyclophosphamide, vincristine and prednisone for treatment of multicentric lymphoma in dogs: 121 cases (1987-1995).
J Am Vet Med Ass., 1997, **210** (4), 512-516.
- VAN VECHTEN, M., HELFAND, S.C., JEGLUM, K.A.
Treatment of relapsed canine lymphoma with doxorubicin and dacarbazine
J Vet Intern Med., 1990, **4** (4), 187-91.
- VON EULER, H., EINARSSON, R., OLSSON, U. et al.
Serum thymidine kinase activity in dogs with malignant lymphoma: a potent marker for prognosis and monitoring the disease.
J Vet Intern Med., 2004, **18**, 696-702.
- WILLIAMS, L.E., JOHNSON, J.L., HAUCK, M.L. et al.
Chemotherapy followed by half-body radiation therapy for canine lymphoma.
J Vet Intern Med., 2004, **12** (5), 465-470.
- ZEMANN, B.I., MOORE, A.S., RAND, W.M. et al.
A Combination chemotherapy protocol (VELCAP- L) for Dogs with Lymphoma.
J Vet Intern Med., 1998, **12**(6), 465-470.

Toulouse, 2006

NOM : **POUJOL**

PRENOM : **Laure**

TITRE : **LYMPHOMES MALINS CANINS : INFILTRATION MEDULLAIRE ET PRONOSTIC.
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE ET ETUDE RETROSPECTIVE MENEES SUR 47 CAS**

RESUME :

Les lymphomes malins canins, représentant environ 9% de l'ensemble des tumeurs du chien, sont fatals en 4 à 6 semaines en l'absence de traitement. Une multitude de protocoles de chimiothérapie permet d'induire une rémission clinique dans environ 80% des cas et de prolonger significativement la vie du patient. Néanmoins, la réponse individuelle au traitement et la durée de rémission restent difficiles à prévoir. La détermination des facteurs pronostiques, influençant la réponse thérapeutique, est un enjeu capital en médecine vétérinaire et fait l'objet de nombreuses études.

Cette thèse porte sur une étude rétrospective de 47 cas de lymphomes malins canins présentés en consultation de cancérologie à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse entre septembre 2000 et avril 2005 et pour lesquels un myélogramme a été réalisé. Les résultats de notre travail soulignent l'intérêt de la systématisation du myélogramme dans le bilan d'extension du lymphome. En effet, l'infiltration médullaire est fréquente au moment du diagnostic et semble associée à des durées de survie faible.

MOTS-CLES : **CHIEN – LYMPHOME – MYELOGRAMME – PRONOSTIC.**

TITLE: **CANINE MALIGNANT LYMPHOMAS: BONE MARROW INVOLVEMENT AND PROGNOSIS.
BIBLIOGRAPHIC STUDY AND RETROSPECTIVE STUDY OF 47 CASES.**

ABSTRACT:

Canine lymphoma is a neoplasm of the dog, accounting for approximately 9% of all canine tumours. Without treatment, most dogs die within 4 to 6 weeks. A variety of chemotherapeutic protocols may be efficient in inducing remission of the disease in approximately 80% of all cases and in producing a significant prolongation of life. However, the response of an individual dog to treatment and duration of remission remain unpredictable. There have been many attempts to identify factors that predict therapeutic response in canine lymphoma because it's an important goal in veterinary medicine.

This thesis is about a retrospective study on 47 cases of canine lymphoma on which evaluation of bone marrow was done between September 2000 and April 2005. Results of this study emphasis the significance of the evaluation of bone marrow in clinical staging. Animals with bone marrow involvement are numerous at time of diagnostic and seem to have shorter survival times than the others.

KEY WORDS: **DOG – LYMPHOMA – BONE MARROW EVALUATION – PROGNOSIS.**