

CANCÉROLOGIE DU CHIEN



Laetitia Piane*, David Sayag**,
Julie Lermuzeaux*
et Catherine Trumel*

* Laboratoire central de biologie médicale
** Consultation de cancérologie
Unité de médecine
INP, École nationale vétérinaire de Toulouse
23, chemin des Capelles
31076 Toulouse

0,05 CFC
par article lu

Approche diagnostique des leucémies chez le chien

Devant une présentation clinique variable selon la forme impliquée, l'approche diagnostique d'un animal suspect de leucémie doit être systématisée.

Étapes essentielles

ÉTAPE 1 Suspecter une leucémie à partir des données épidémiologiques

ÉTAPE 2 Suspecter une leucémie à partir des données cliniques

ÉTAPE 3 Suspecter une leucémie à partir des examens de laboratoire de routine : bi- ou pancytopenie, leucocytose, cellules anormales

ÉTAPE 4 Exclure une cause primitive aux anomalies hématologiques observées

ÉTAPE 5 Établir le diagnostic de certitude d'une leucémie

- Confirmer une suspicion de leucémie : par l'examen du myélogramme, la cytochimie, les immunomarquages, la mise en évidence d'une clonalité
- Reconnaître une leucémie lymphoïde et une leucémie myéloïde
- Identifier les différentes leucémies myéloïdes : les leucémies myéloïdes aiguës et chroniques
- Différencier les différentes leucémies lymphoïdes.

L'approche diagnostique d'une suspicion de leucémie chez le chien passe, en premier lieu, par le recueil de données cliniques et la réalisation d'examens de laboratoire de première intention. Le diagnostic est le plus souvent confirmé par des examens spécifiques. Enfin, le typage de la leucémie est réalisé afin de récolter des données pronostiques et d'ajuster au mieux la stratégie thérapeutique.

1 ÉTAPE Suspecter une leucémie à partir des données épidémiologiques

Conflit d'intérêts

Aucun.

Chez le chien, les leucémies lymphoïdes sont plus fréquentes que les leucémies myéloïdes. Aucune prédisposition raciale ou sexuelle n'a été clairement mise en

évidence. Cependant, une étude portant sur une série de 30 cas de leucémie aiguë lymphoïde (LAL) rapporte une surreprésentation des bergers allemands (27 % des cas). La maladie survient généralement chez des adultes (5,5 ans en moyenne), mais des cas ont été rapportés chez des animaux de moins de 4 ans [4]. Un cas de LAL a même été décrit chez un chiot greyhound âgé de 12 semaines [1].

2 ÉTAPE Suspecter une leucémie à partir des données cliniques

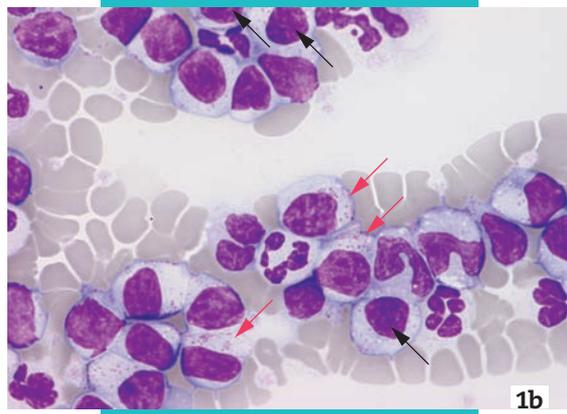
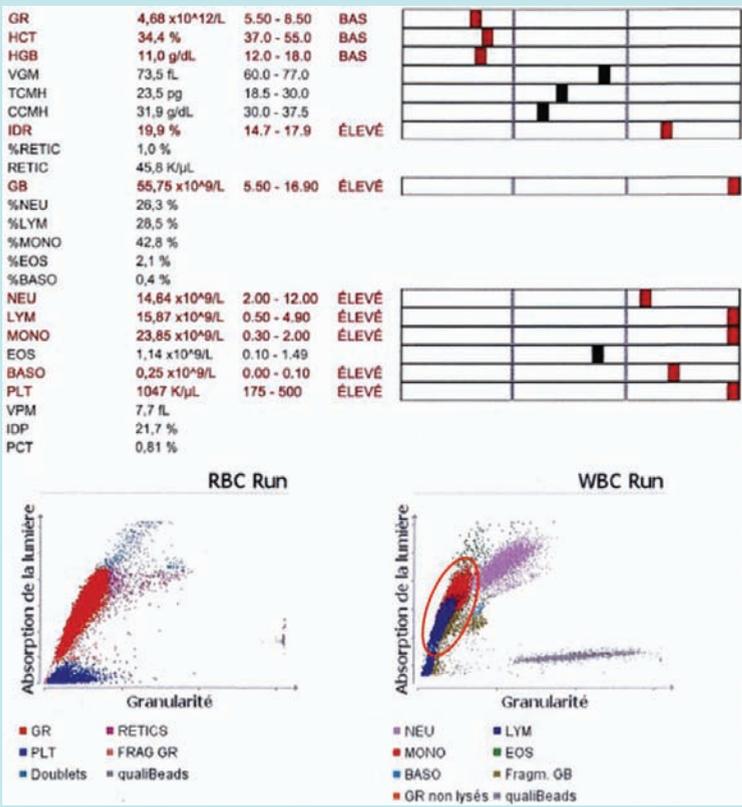
► La présentation clinique initiale varie en fonction du type de leucémie. D'une manière générale, lors de leucémie aiguë, les signes cliniques systémiques sont sévères et d'apparition aiguë, tandis que les leucémies chroniques sont souvent plus frustes, voire asymptomatiques, et peuvent être une découverte fortuite.

► Le tableau clinique est le plus souvent peu spécifique, avec une baisse de l'état général, une hyperthermie fluctuante, un amaigrissement, une dysorexie, des muqueuses pâles, voire ictériques, des pétéchies, un état de choc, etc.
► En plus des signes cliniques généraux observés, des signes nerveux centraux et périphériques, bien qu'assez rares, ont également été décrits.

► Des signes cliniques associés aux syndromes paranéoplasiques et accompagnant les leucémies peuvent survenir. Ainsi, les LAL sont parfois associées à une hypercalcémie paranéoplasique à l'origine d'un syndrome polyuro-polydipsique. De plus, certains clones de cellules lymphoïdes atypiques peuvent sécréter des immunoglobulines et entraîner une hyperprotidémie à l'origine d'un syndrome d'hyperviscosité sanguine, induisant parfois, en plus des troubles nerveux, une cécité et des défaillances multi-organiques (notamment rénales et cardiaques). Enfin, les cytokines inflammatoires sécrétées par les

FIGURE

Résultats d'hématologie⁽¹⁾ obtenus dans un cas de leucémie lymphoïde chronique à grands lymphocytes granuleux chez un labrador mâle castré de 9 ans



1. Frottis sanguin d'une leucémie lymphoïde chronique à grands lymphocytes granuleux.

1a. À faible grossissement (objectif × 40, coloration au May-Grünwald-Giemsa), noter la présence d'une abondante population monomorphe de cellules rondes, de taille moyenne, à fort rapport nucléocytoplasmique, au noyau rond et au cytoplasme basophile clair évoquant des cellules lymphoïdes. 1b. À fort grossissement (objectif × 100, coloration au May-Grünwald-Giemsa), ces cellules présentent une chromatine mottée (flèches noires) témoignant de leur caractère mature, ainsi que de nombreuses granulations cytoplasmiques azurophiles (flèches rouges).

PHOTOS : LABORATOIRE CENTRAL DE BIOLOGIE MÉDICALE, ENVT

L'hémogramme révèle une lymphocytose et une monocytose marquées. Cependant, les nuages de points des monocytes et des lymphocytes ne sont pas bien différenciés. Il est donc impossible de valider les résultats chiffrés et il convient de lire le frottis sanguin : la présence de cellules anormales dans le sang peut d'ores et déjà être suspectée.

GR : hématies ; HCT : hématoците ; HGB : hémoglobine ; VGM : volume globulaire moyen ; TCMH : teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine ; CCMH : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine ; IDR : index de distribution des hématies ; % RETIC : % réticulocytes ; % NEU : % neutrophiles ; GB : leucocytes ; % LYM : % lymphocytes ; % MONO : % monocytes ; % EOS : % éosinophiles ; % BASO : % basophiles ; PLT : thrombocytes ; VPM : volume plaquettaire moyen ; IDP : index de distribution des thrombocytes ; PCT : plaquettoците.

(1) Analyseur d'hématologie LaserCyte[®], Idexx.
CRÉDIT : LABORATOIRE CENTRAL DE BIOLOGIE MÉDICALE, ENVT

cellules tumorales peuvent être à l'origine d'une coagulation intravasculaire disséminée.

► Le lymphome leucémique est le premier diagnostic différentiel d'une leucémie. Une polyadénomégalie est généralement observée, associée ou non à une hépatosplénomégalie. Lors de lymphome digestif, l'échographie est utile pour mettre en évidence une adénomégalie mésentérique [3,9].

ÉTAPE 3 Suspecter une leucémie à partir des examens de laboratoire de routine

Le tableau clinique général variable ne permet pas à lui seul d'établir un diagnostic. L'examen de l'hémogramme et du frottis sanguin peut conforter l'hypothèse d'une leucémie. Cependant, le diagnostic sur la base d'une leucocytose observée sur un hémogramme isolé est une erreur

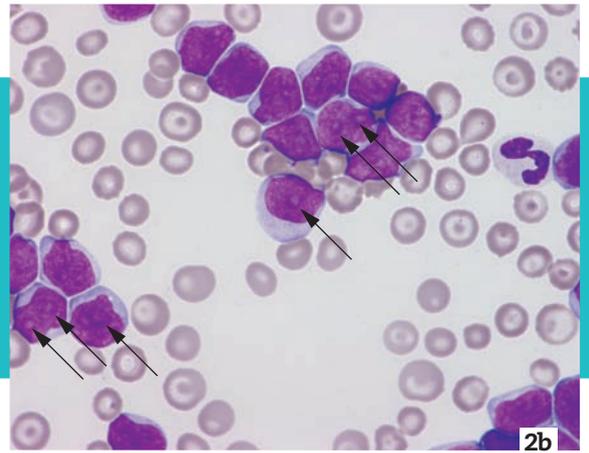
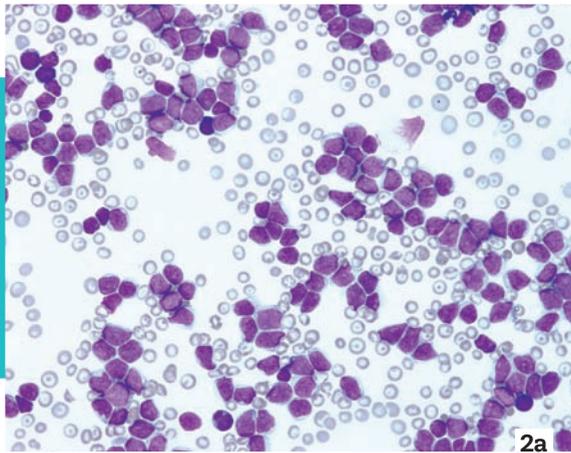
fréquente, notamment dans les neutrophilies réactionnelles sévères (réactions leucémoïdes). Ainsi, il convient d'interpréter ces examens avec prudence, voire de les répéter plusieurs fois à quelques jours d'intervalle, afin d'obtenir une cinétique d'évolution de la numération des différentes lignées cellulaires.

Bi- ou pancytopenie

Il est impossible d'exclure l'hypothèse d'une leucémie sur la simple base d'une numération leucocytaire normale ou basse. En effet, l'invasion médullaire par le clone leucémique peut s'effectuer sans passage de cellules anormales dans le sang, en particulier en début d'évolution : c'est la phase aleucémique. Dans ce cas, l'hémogramme peut révéler une bi- ou une pancytopenie (anémie normochrome normocytaire non régénérative dans 85 % des cas, thrombocytopénie, neutropénie, etc.) secondaire à une myéloptisie due à l'écrasement des autres lignées médullaires par le clone leucémique [8].

Leucocytose

En phase subleucémique ou leucémique, le passage de cellules tumorales dans le compartiment circulant entraîne une leucocytose, en dépit de la neutropénie souvent associée. Cette leucocytose est détectée par les appareils d'hématologie, mais l'identification de cellules blastiques dans le sang requiert la lecture du frottis sanguin. Cette blastose est parfois à l'origine d'erreurs d'identification par les automates, qui ont souvent du mal à réaliser une formule leucocytaire fiable. Il peut donc être intéressant d'observer les courbes et les nuages de points (figure, photos 1a et 1b).



2. Frottis sanguin d'une leucémie lymphoïde aiguë.

2a. À faible grossissement (objectif $\times 40$, coloration au May-Grünwald-Giemsa), noter la présence d'une abondante population monomorphe de cellules rondes, de taille moyenne, à fort rapport nucléocytoplasmique, au noyau rond et au cytoplasme basophile clair évoquant des cellules lymphoïdes.

2b. À fort grossissement (objectif $\times 100$, coloration au May-Grünwald-Giemsa), ces cellules présentent une chromatine finement réticulée qui dévoile un à plusieurs nucléoles bien visibles (flèches noires) témoignant de leur caractère blastique.

PHOTOS : LABORATOIRE CENTRAL DE BIOLOGIE MÉDICALE, ENVV

Dans le cas des leucémies lymphoïdes chroniques (LLC), cette leucocytose est dominée par une lymphocytose qui peut être très marquée (supérieure à 100 000 cellules/ μ l) ou discrète [3]. Il convient alors de répéter les examens hématologiques afin d'exclure une lymphocytose physiologique induite par une libération de catécholamines à la suite d'un stress ou d'une excitation, qui serait transitoire.

Cellules anormales

L'examen du frottis sanguin est indispensable en complément de l'hémogramme afin de suspecter une leucémie. La présence d'une abondante population monomorphe de cellules lymphoïdes blastiques ou encore celle de cellules précurseurs circulantes en plus ou moins grande quantité doit faire penser à une leucémie (photos 2a, 2b et 3).

ÉTAPE 4 Exclure une cause primitive aux anomalies hématologiques observées

En fonction de la ou des lignée(s) cellulaire(s) atteinte(s), la recherche systématique et ordonnée d'un foyer inflammatoire (infectieux ou non infectieux) ou tumoral primaire est réalisée au moyen d'examens d'imagerie (radiographies thoraciques et abdominales, échographies abdominales +/- échocardiographie), de biochimie sanguine (évaluation des fonctions rénale et hépatique

notamment) d'une analyse d'urines et de cytologie (cytoponction à l'aiguille fine des nœuds lymphatiques, de la rate, du foie ou d'une éventuelle masse). Lors de lymphocytose, notamment, une maladie infectieuse (ehrlichiose, leishmaniose, piroplasmose, etc.) doit également être recherchée (sérologie, PCR [polymerase chain reaction], etc.) [10].

L'absence de cause identifiée aux anomalies hématologiques doit conduire à la recherche d'une origine centrale.

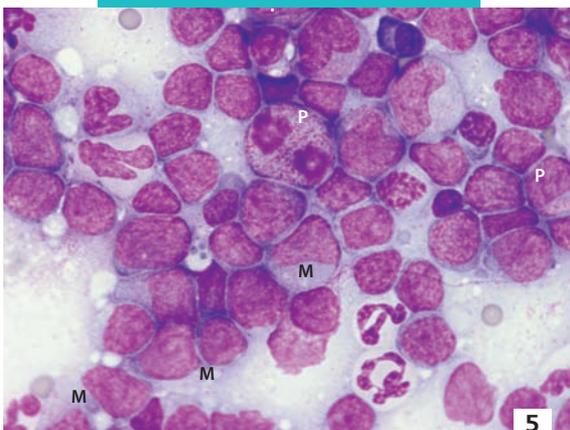
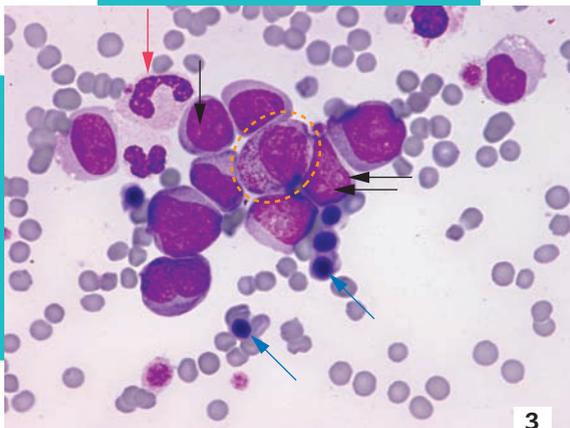
ÉTAPE 5 Établir le diagnostic de certitude d'une leucémie

Confirmer une suspicion de leucémie

PAR L'EXAMEN DU MYÉLOGRAMME

Face à une suspicion de leucémie aiguë, un myélogramme doit être réalisé (photo 4). Le seuil de cellules blastiques médullaires communément considéré comme diagnostique d'une leucémie aiguë est de 20 % du nombre total de cellules nucléées (photo 5) [3].

En revanche, devant une suspicion de leucémie chronique, le myélogramme n'est pas l'examen complémentaire de choix. D'une part, lors de leucémie chronique, le nombre de cellules médullaires blastiques n'excède généralement pas les 20 % et la pyramide de maturation est conservée, ce qui rend l'interprétation du myélogramme délicate. D'autre part, lors de LLC à lymphocytes T, par exemple (qui sont les LLC les plus fréquentes chez le chien), l'origine est extramédullaire, notamment



3. Frottis sanguin d'une leucémie aiguë myéloïde (objectif $\times 100$, coloration au May-Grünwald-Giemsa). Noter la présence d'une population monomorphe de cellules de grande taille, au rapport nucléocytoplasmique moyen à élevé, au cytoplasme basophile moyen et au noyau ovoïde, à la chromatine réticulée qui dévoile parfois un nucléole bien visible (flèches noires) témoignant de leur caractère blastique (myéloblastes). Certaines cellules présentent également des granulations azurophiles (cercle en pointillés), évoquant des promyélocytes. Noter aussi la présence de band cells (flèche rouge) et d'érythroblastes acidophiles (flèches bleues).

PHOTO : LABORATOIRE CENTRAL DE BIOLOGIE MÉDICALE, ENVT

4. Réalisation d'un myélogramme en région fémorale chez un chien suspect de leucémie myéloïde.

PHOTO : SERVICE DE MÉDECINE, ENVT

5. Myélogramme d'une leucémie aiguë myéloïde (objectif $\times 100$, coloration au May-Grünwald-Giemsa). Noter la présence d'une abondante population monomorphe de cellules myéloïdes blastiques (M : myéloblastes ; P : promyélocytes, etc.).

PHOTO : LABORATOIRE CENTRAL DE BIOLOGIE MÉDICALE, ENVT

splénique, et la moelle osseuse n'est infiltrée que secondairement [3, 9]. Ainsi, dans ces cas, le myélogramme ne permet pas d'établir de diagnostic de certitude.

PAR LA CYTOCHIMIE

Le principe général du marquage cytochimique repose sur la reconnaissance d'activités enzymatiques ou de molécules présentes dans les cellules tumorales, et qui se retrouvent à l'identique dans les cellules d'individus sains. Différents marqueurs sont utilisés en médecine humaine, mais la technique reste très peu disponible dans les laboratoires vétérinaires spécialisés [5, 7].

PAR LES IMMUNOMARQUAGES

Les immunomarquages utilisent des anticorps monoclonaux spécifiques dirigés contre des molécules caractéristiques de l'origine de la cellule qui les porte, appelés *clusters of differentiation* (CD). Ces anticorps sont le plus souvent spécifiques d'espèce. Les immunomarquages peuvent être réalisés grâce à la cytométrie en flux à partir de prélèvement de sang ou de moelle osseuse, ou par des techniques d'immunohistochimie ou d'immunocytochimie sur biopsies (moelle osseuse, par exemple).

Plusieurs marqueurs sont disponibles, notamment en France pour l'immunophénotypage des leucémies lymphoïdes canines (tableau) [2]. En revanche, il subsiste un manque de marqueurs immunologiques pour les

différentes lignées myéloïdes et le sous-typage des leucémies myéloïdes reste difficile.

PAR LA MISE EN ÉVIDENCE D'UNE CLONALITÉ

La mise en évidence d'une clonalité est la preuve du caractère malin d'une prolifération. Une technique de PCR est utilisée pour amplifier certaines régions du génome des cellules, qui sont identiques lors de la prolifération d'un clone leucémique. Cette méthode a été étudiée pour notamment prouver la clonalité de populations lymphoïdes en s'intéressant au gène de réarrangement du récepteur à l'antigène TCR (pour les lymphocytes T) et à l'immunoglobuline (pour les lymphocytes B) [2]. Elle semble très séduisante, mais elle n'est pas utilisée en pratique courante ni non plus disponible pour déterminer la clonalité des cellules myéloïdes. Il s'agit donc d'une technique complémentaire, accessible aux États-Unis, et encore principalement expérimentale notamment en France. Son développement pourrait s'effectuer dans les prochaines années.

Reconnaître une leucémie lymphoïde et une leucémie myéloïde

Différencier une leucémie aiguë lymphoïde d'une leucémie aiguë myéloïde (LAM) est primordial pour le traitement. En effet, lors de LAL, des protocoles de chimiothérapie peuvent être proposés avec des résultats assez

TABLEAU

Quelques exemples d'anticorps recommandés pour l'immunophénotypage des leucémies canines

| TYPE CELLULAIRE | MARQUEUR(S) |
|--------------------|---|
| Panleucocytes | CD45 ⁽¹⁾ |
| Lymphocytes B | CD79a ⁽¹⁾ , CD21 ⁽¹⁾ , CMHII, IgM et IgG de surface |
| Lymphocytes T | CD3 ⁽¹⁾ , CD4 ⁽¹⁾ , CD8 ⁽¹⁾ |
| Cellules myéloïdes | MPO ⁽¹⁾ , CD11b (granulocytes, monocytes), CD14 ⁽¹⁾ (monocytes) |
| Mégacaryoblastes | CD41, CD61, facteur de Von Willebrand |
| Leucémie aiguë | CD34 |

IgM : immunoglobuline M ; IgG : immunoglobuline G ; CMH : complexe majeur d'histocompatibilité.

(1) Immunomarquages utilisés en France.

satisfaisants. En revanche, le traitement des rares cas de LAM est décevant.

Toutefois, la distinction entre LAL et LAM n'est pas toujours simple en raison du caractère blastique et peu différencié du clone impliqué, et nécessite des examens de cytochimie ou des immunomarquages. En cytochimie, par exemple, la réalisation d'une coloration peroxydase (PO) permet de différencier les cellules myéloïdes, dont le cytoplasme contient de la myéloperoxydase, des cellules lymphoïdes, qui n'en contiennent pas [6, 7, 10].

La distinction entre une LLC et une leucémie myéloïde chronique (LMC) est assez facile et s'effectue par simple lecture du frottis sanguin puisque le clone cellulaire impliqué est nettement différencié (petits lymphocytes ou granulocytes matures).

Reconnaître les différentes leucémies myéloïdes

LEUCÉMIES MYÉLOÏDES AIGUËS

► En raison du pronostic sombre des leucémies myéloïdes aiguës et des limites de la thérapeutique, la détermination du type exact de LAM ne présente finalement que peu d'intérêt. Les différentes formes ont été décrites dans un article précédent ⁽¹⁾ et ne sont pas détaillées dans celui-ci.

► Les colorations cytochimiques permettent de reconnaître certaines LAM [7].

Pour les LAM6, le diagnostic est établi à l'aide d'un myélogramme, les cellules de la lignée érythroïde étant facilement reconnaissables avec une coloration classique. Elles représentent alors plus de 50 % du nombre total de cellules nucléées [6].

Pour les LAM7, les mégacaryoblastes peuvent être identifiés par des marquages cytochimiques ou par des immunomarquages au CD41, par exemple [6, 10].

LEUCÉMIES MYÉLOÏDES CHRONIQUES

► Le diagnostic de leucémie myéloïde chronique est un vrai défi, car cette maladie est très rare, donc peu caractérisée. Une leucocytose neutrophilique majeure en présence d'un contingent de cellules immatures relarguées par la moelle fortement stimulée, aussi appelée "réaction leucémoïde", peut survenir lors de processus inflammatoire suppuratif sévère (pyomètre, bronchopneumonie, péritonite, pancréatite nécrosante, etc.), de syndrome paranéoplasique ou de maladie à médiation immune. Ainsi, avant de conclure à une LMC sur la base d'une leucocytose neutrophilique sévère, il convient, dans un premier temps, d'exclure une cause primitive [10].

► Les leucémies à éosinophiles sont très rares chez le chien. Ainsi, les maladies associées à une éosinophilie (parasitisme, hypersensibilité, allergie, etc.) doivent être considérées en première intention. Les leucémies à basophiles, bien que rares, sont décrites chez le chien et doivent être différenciées des leucémies à mastocytes [10].

► Le diagnostic de *polycythemia vera* est délicat à établir. Il convient, tout d'abord, de vérifier l'état d'hydratation, d'obésité ou de stress de l'animal, puis d'exclure les causes de polyglobulie secondaires liées à un défaut d'apport en oxygène (insuffisances respiratoire et cardiaque notamment), à un hypercorticisme, à une lésion rénale à l'origine de la synthèse d'érythropoïétine (EPO) ou à une tumeur autre [10]. Lors de lésion rénale (tumorale ou non), le dosage de l'EPO peut être informatif dans certains cas.

► De la même manière, le diagnostic de thrombocytémie essentielle est établi après exclusion de toutes les autres causes de thrombocytose (réactionnelles ou médicamenteuses, notamment) [10].

Reconnaître les différentes leucémies lymphoïdes

► Une lymphocytose persistante est un argument en faveur d'une leucémie lymphoïde. Cependant, d'autres maladies peuvent également être incriminées. Un hypoadrénocorticisme notamment (dont les signes cliniques généraux évoquent une leucémie aiguë), une maladie dysimmunitaire ou une affection vectorielle (leishmaniose, ehrlichiose) sont susceptibles de provoquer une lymphocytose, parfois marquée, mais qui reste généralement inférieure à 10 000 cellules/ μ l [2].

► La cytométrie de flux peut être utilisée pour faire la différence entre une leucémie lymphoïde et un lymphome leucémique, d'une part, et pour déterminer quel type de lymphome ou de leucémie est présent, d'autre part. Les marqueurs les plus fréquemment mis en œuvre sont les CD3, les CD4 et les CD8 pour les lymphocytes T, et les CD21 et les CD79a pour les lymphocytes B. Le CD34 permet de mettre en évidence les cellules blastiques des lignées lymphoïdes et myéloïdes. Ainsi, un CD34 positif permet de confirmer le caractère aigu d'une leucémie et de faire la différence entre une LAL et un lymphome de stade V [10].

(1) Voir l'article "Origines et classification des leucémies canines" de J. Lermuzeaux et coll., dans ce numéro.

Conclusion

Les signes cliniques d'une leucémie sont généralement peu spécifiques, et la suspicion porte le plus souvent sur les résultats de l'hémogramme et la lecture du frottis sanguin. Le myélogramme permet de confirmer une hypothèse de leucémie aiguë (plus de 20 % de blastes), mais n'est pas indiqué en première intention lors de suspicion de leucémie chronique. La différence entre une leucémie lymphoïde et une leucémie myéloïde n'est pas toujours aisée, en particulier dans les formes aiguës en raison du caractère blastique des cellules, et les marquages cytochimiques et immunologiques peuvent être utiles. De façon plus générale, la cytochimie permet de typer les leucémies myéloïdes alors que les immunomarquages sont utilisés pour le typage des leucémies lymphoïdes. ■

Essential steps

Diagnostic approach to leukaemia in dogs

STEP 1 Suspect a leukaemia from epidemiological data

STEP 2 Suspect a leukaemia from clinical data

STEP 3 Suspect a leukaemia from the routine laboratory tests such as bi-or pancytopenia, leukocytosis, abnormal cells

STEP 4 Exclude a primary cause of the haematological abnormalities

STEP 5 Establish a definite diagnosis of leukaemia:

- Confirm a suspected leukaemia: by examining the bone marrow, cytochemistry, immunostaining, detection of clonality.

- Recognise lymphoid leukaemia and myeloid leukaemia.

- Identify the different myeloid leukaemias: acute and chronic myeloid leukaemia.

- Differentiate between different lymphoid leukaemias.

Keywords

Leukaemia, dog, haemogram, myelogram, immunostaining, diagnosis.

1. Adams J et coll. Acute B cell lymphoblastic leukaemia in a 12-week old greyhound. *J. Small Anim. Pract.* 2004;45:553-557.

2. Avery A. Immunophenotyping and determination of clonality. In: Weiss DJ, Wardrop KJ. *Schalm's Veterinary Hematology*. 6th ed. Blackwell Publishing, Ames. 2010:1133-1140.

3. Helfand SC, Kisseberth WC. General features of leukemia and lymphoma. In: Weiss DJ, Wardrop KJ. *Schalm's Veterinary*

Hematology. 6th ed. Blackwell Publishing, Ames. 2010:455-466.

4. Matus RE et coll. Acute lymphoblastic leukemia in the dog: a review of 30 cases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1983;183:859-862.

5. Raskin RE. Cytochemical staining. In: Weiss DJ, Wardrop KJ. *Schalm's Veterinary Hematology*. 6th ed. Blackwell Publishing, Ames. 2010:1141-1156.

6. Snyder L. Acute myeloid leukemia. In: Weiss DJ, Wardrop KJ.

Schalm's Veterinary Hematology. 6th ed. Blackwell Publishing, Ames. 2010:475-482.

7. Stockham SL, Scott MA. Bone marrow and lymph node. In: *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. 2nd ed. Blackwell Publishing, Ames. 2008:323-368.

8. Tasca S et coll. Hematologic abnormalities and flow cytometric immunophenotyping results in dogs with hematopoietic neoplasia: 210 cases (2002-2006). *Vet. Clin. Pathol.* 2009;38:2-12.

9. Vail DM, Young KM. Canine lymphoma and lymphoid leukemia. In: Withrow SJ, Vail DM. *Small Animal Clinical Oncology*. 4th ed. Ed. Saunders Elsevier, Saint Louis. 2007:699-732.

10. Young KM, McEwen EG. Canine acute myeloid leukaemia, chronic myeloproliferative diseases, and myelodysplasia. In: Withrow SJ, Vail DM. *Small Animal Clinical Oncology*. 4th ed. Ed. Saunders Elsevier, Saint Louis. 2007:756-769.