

Année 2010

**LES LEUCEMIES DU CHAT ET DU CHIEN :  
CLASSIFICATION, DIAGNOSTIC  
ET TRAITEMENT**

THESE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTE DE MÉDECINE DE CRETEIL

Le .....

par

**Pierre-Olivier GODART**

Né le 17 Février 1984 à Paris 15<sup>ème</sup> (Paris)

JURY

**Président : M.**

**Professeur à la Faculté de Médecine de CRETEIL**

**Membres**

**Directeur : Ludovic FREYBURGER**

**Maître de conférences à l'ENVA**

**Assesseur : Nathalie CORDONNIER**

**Maître de conférences à l'ENVA**



## LISTE DES MEMBRES DU CORPS ENSEIGNANT

Directeur : M. le Professeur MIALOT Jean-Paul

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs MORAILLON Robert, PARODI André-Laurent, PILET Charles, TOMA Bernard

Professeurs honoraires: MM. BRUGERE Henri, BUSSIERAS Jean, CERF Olivier, CLERC Bernard, CRESPEAU François

LE BARS Henri, MOUTHON Gilbert, MILHAUD Guy, ROZIER Jacques,

### DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PHARMACEUTIQUES (DSBP)

**Chef du département : Mme COMBRISON Hélène, Professeur - Adjoint : Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences**

<p><b>- UNITE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES</b> Mme CREVIER-DENOIX Nathalie, Professeur M. DEGUEURCE Christophe, Professeur Mme ROBERT Céline, Maître de conférences M. CHATEAU Henry, Maître de conférences*</p> <p><b>- UNITE DE PATHOLOGIE GENERALE MICROBIOLOGIE, IMMUNOLOGIE</b> Mme QUINTIN-COLONNA Françoise, Professeur* M. BOULOUIS Henri-Jean, Professeur M. FREYBURGER Ludovic, Maître de conférences</p> <p><b>- UNITE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE</b> Mme COMBRISON Hélène, Professeur* M. TIRET Laurent, Maître de conférences Mme STORCK-PILOT Fanny, Maître de conférences</p> <p><b>- UNITE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE</b> Mme ENRIQUEZ Brigitte, Professeur M. TISSIER Renaud, Maître de conférences* M. PERROT Sébastien, Maître de conférences</p> <p><b>- DISCIPLINE : ETHOLOGIE</b> M. DEPUTTE Bertrand, Professeur</p>	<p><b>-UNITE D'HISTOLOGIE, ANATOMIE PATHOLOGIQUE</b> M. FONTAINE Jean-Jacques, Professeur * Mme BERNEX Florence, Maître de conférences Mme CORDONNIER-LEFORT Nathalie, Maître de conférences M. REYES GOMEZ Edouard, Maître de conférences contractuel</p> <p><b>- UNITE DE VIROLOGIE</b> M. ELOIT Marc, Professeur * Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences</p> <p><b>- UNITE DE GENETIQUE MEDICALE ET MOLECULAIRE</b> M. PANTHIER Jean-Jacques, Professeur Mme ABITBOL Marie, Maître de conférences*</p> <p><b>- UNITE DE BIOCHIMIE</b> M. MICHAUX Jean-Michel, Maître de conférences* M. BELLIER Sylvain, Maître de conférences</p> <p><b>- DISCIPLINE : ANGLAIS</b> Mme CONAN Muriel, Professeur certifié</p> <p><b>- DISCIPLINE : EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE</b> M. PHILIPS, Professeur certifié</p>
---	---

### DEPARTEMENT D'ELEVAGE ET DE PATHOLOGIE DES EQUIDES ET DES CARNIVORES (DEPEC)

**Chef du département : M. POLACK Bruno, Maître de conférences - Adjoint : M. BLOT Stéphane, Professeur**

<p><b>- UNITE DE MEDECINE</b> M. POUCHELON Jean-Louis, Professeur* Mme CHETBOUL Valérie, Professeur M. BLOT Stéphane, Professeur M. ROSENBERG Charles, Maître de conférences Mme MAUREY Christelle, Maître de conférences Mme BENCHEKROUN Ghita, Maître de conférences contractuel</p> <p><b>- UNITE DE CLINIQUE EQUINE</b> M. DENOIX Jean-Marie, Professeur M. AUDIGIE Fabrice, Professeur* Mme GIRAUDET Aude, Praticien hospitalier Mlle CHRISTMANN Undine, Maître de conférences Mme MESPOULHES-RIVIERE Céline, Maître de conférences contractuel Mme PRADIER Sophie, Maître de conférences contractuel M. CARNICER David, Maître de conférences contractuel</p> <p><b>I. - UNITE DE REPRODUCTION ANIMALE</b> Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, Professeur (rattachée au DPASP) M. NUDELMANN Nicolas, Maître de conférences M. FONTBONNE Alain, Maître de conférences* M. REMY Dominique, Maître de conférences (rattaché au DPASP) M. DESBOIS Christophe, Maître de conférences Mme CONSTANT Fabienne, Maître de conférences (rattachée au DPASP) Mme DEGUILLAUME Laure, Maître de conférences contractuel (rattachée au DPASP)</p> <p><b>- DISCIPLINE : URGENCE SOINS INTENSIFS</b> Mme Françoise ROUX, Maître de conférences</p>	<p><b>- UNITE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE</b> M. FAYOLLE Pascal, Professeur * M. MOISSONNIER Pierre, Professeur M. MAILHAC Jean-Marie, Maître de conférences M. NIEBAUER Gert, Professeur contractuel Mme VIATEAU-DUVAL Véronique, Maître de conférences Mme RAVARY-PLUMIOEN Béangère, Maître de conférences (rattachée au DPASP) M. ZILBERSTEIN Luca, Maître de conférences M. JARDEL Nicolas, Praticien hospitalier</p> <p><b>- UNITE D'IMAGERIE MEDICALE</b> Mme BEGON Dominique, Professeur* Mme STAMBOULI Fouzia, Praticien hospitalier</p> <p><b>- DISCIPLINE : OPHTALMOLOGIE</b> Mme CHAHORY Sabine, Maître de conférences</p> <p><b>- UNITE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES</b> M. CHERMETTE René, Professeur * M. POLACK Bruno, Maître de conférences M. GUILLOT Jacques, Professeur Mme MARIIGNAC Geneviève, Maître de conférences Mme HALOS Lénéig, Maître de conférences (rattachée au DPASP) M. HUBERT Blaise, Praticien hospitalier</p> <p><b>- UNITE DE MEDECINE DE L'ELEVAGE ET DU SPORT</b> M. GRANDJEAN Dominique, Professeur * Mme YAGUIYAN-COLLIARD Laurence, Maître de conférences contractuel</p> <p><b>- DISCIPLINE : NUTRITION-ALIMENTATION</b> M. PARAGON Bernard, Professeur</p>
--	---

### DEPARTEMENT DES PRODUCTIONS ANIMALES ET DE LA SANTE PUBLIQUE (DPASP)

**Chef du département : M. MILLEMANN Yves, Maître de conférences - Adjoint : Mme DUFOUR Barbara, Professeur**

<p><b>II. - UNITE DES MALADIES CONTAGIEUSES</b> M. BENET Jean-Jacques, Professeur* Mme HADDAD/ HOANG-XUAN Nadia, Professeur Mme DUFOUR Barbara, Professeur Melle PRAUD Anne, Maître de conférences contractuel</p> <p><b>- UNITE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE</b> M. BOLNOT François, Maître de conférences * M. CARLIER Vincent, Professeur Mme COLMIN Catherine, Maître de conférences M. AUGUSTIN Jean-Christophe, Maître de conférences</p> <p><b>- DISCIPLINE : BIostatISTIQUES</b> M. DESQUILBET Loïc, Maître de conférences contractuel</p>	<p><b>- UNITE DE ZOOTECHNIE, ECONOMIE RURALE</b> M. COURREAU Jean-François, Professeur M. BOSSE Philippe, Professeur Mme GRIMARD-BALLIF Bénédicte, Professeur Mme LEROY Isabelle, Maître de conférences M. ARNE Pascal, Maître de conférences M. PONTER Andrew, Professeur*</p> <p><b>- UNITE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR</b> M. MILLEMANN Yves, Maître de conférences Mme BRUGERE-PICOUX Jeanne, Professeur (rattachée au DSBP) M. MAILLARD Renaud, Maître de conférences M. ADJOU Karim, Maître de conférences * M. BELBIS Guillaume, Maître de conférences contractuel</p>
---	--



# REMERCIEMENTS

Au Professeur de la Faculté de Médecine de Créteil,

Pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse,  
Hommage respectueux.

A Monsieur Ludovic FREYBURGER,

Pour avoir accepté d'encadrer mon travail, pour votre gentillesse, votre patience  
et votre disponibilité,  
Veuillez trouver ici le témoignage de ma gratitude, de mon profond respect, et  
d'une amitié nouvelle.

A Madame Nathalie CORDONNIER,

Pour avoir accepté d'être assesseur de ma thèse, et pour votre relecture attentive,  
Sincères remerciements.

Au personnel de la bibliothèque de l'ENVA.



# TABLE DES MATIERES

<b>LISTE DES ABRÉVIATIONS .....</b>	<b>3</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX.....</b>	<b>5</b>
<b>LISTE DES FIGURES .....</b>	<b>7</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>9</b>
<b>I. DEFINITION ET CLASSIFICATION DES LEUCEMIES .....</b>	<b>11</b>
<b>A. L'hématopoïèse .....</b>	<b>12</b>
1. Cellule souche totipotente et lieux de l'hématopoïèse .....	12
2. Facteurs humoraux intervenant dans l'hématopoïèse.....	16
a) Facteurs stimulant la croissance et la différenciation cellulaire.....	16
b) Facteurs inhibant la croissance et la différenciation cellulaire.....	18
3. Tissu hématolymphopoïétique et lignées cellulaires.....	19
a) Caractéristiques du tissu hématolymphopoïétique.....	19
b) Lignée myéloïde .....	20
c) Lignée lymphoïde .....	21
<b>B. Processus de cancérisation .....</b>	<b>24</b>
1. Etapes de la cancérisation et pathogénie .....	24
a) Prolifération tumorale dans la moelle osseuse.....	24
b) Syndromes paranéoplasiques associés.....	25
2. Syndromes myélodysplasiques .....	26
a) Physiopathologie .....	26
b) Classification des syndromes myélodysplasiques.....	29
c) Diagnostic différentiel .....	33
d) Pronostic.....	35
e) Traitements.....	35
(1) Transfusion sanguine.....	35
(2) Facteurs de croissance de l'hématopoïèse .....	36
(3) Stéroïdes.....	36
(4) Agents immunosuppresseurs.....	36
(5) Associations d'agents chimiothérapeutiques .....	36
(6) Immunothérapie .....	37
(7) Transplantation de moelle osseuse .....	37
<b>C. Classification des leucémies .....</b>	<b>38</b>
1. Outils de classification.....	39
2. Classification des leucémies aiguës.....	39
a) Leucémies aiguës lymphoblastiques.....	40
b) Leucémies aiguës myéloïdes .....	43
(1) Leucémie aiguë indifférenciée : LAI.....	44
(2) Leucémie aiguë myéloïde sans maturation : LAM-M0 .....	44
(3) Leucémies aiguës granulocytaires : LAM-M1, LAM-M2 et LAM-M3.....	44
(4) Leucémie aiguë myéomonocytaire : LAM-M4 .....	45
(5) Leucémie aiguë monocytaire : LAM-M5 .....	46
(6) Leucémie aiguë à composante érythroblastique ou érythroleucémie : LAM-M6 .....	47
(7) Leucémie mégacaryoblastique : LAM-M7.....	48
3. Classification des leucémies chroniques.....	50
a) Leucémie lymphoïdes chroniques et syndromes lymphoprolifératifs sécrétants apparentés.....	51
(1) Leucémies lymphoïdes chroniques.....	51
(2) Myélome multiple et macroglobulinémie.....	52
b) Leucémies myéloïdes chroniques et autres syndromes myéloprolifératifs chroniques .....	53
(1) Leucémies myéloïdes chroniques.....	53
(2) Polyglobulie vraie (ou polycythemia vera).....	54
(3) Thrombocytémie primitive.....	55
(4) Myélofibrose avec métaplasie myéloïde.....	55
<b>II. LES LEUCEMIES AIGUES .....</b>	<b>59</b>
<b>A. Etiologie.....</b>	<b>59</b>
<b>B. Epidémiologie .....</b>	<b>60</b>
<b>C. Pathogénie .....</b>	<b>63</b>
1. Leucémies aiguës lymphoblastiques.....	64
2. Leucémies aiguës myéloïdes.....	66
<b>D. Présentation clinique.....</b>	<b>68</b>
<b>E. Diagnostic .....</b>	<b>69</b>
1. Diagnostic clinique .....	69
2. Hémogramme, frottis sanguin et analyses sérologiques.....	70

3.	Myélogramme.....	74
a)	Techniques de ponction de moelle osseuse et critères d'utilisation.....	74
b)	Interprétation du myélogramme.....	76
4.	Marquages cytochimiques.....	79
a)	Conditions générales du marquage des cellules néoplasiques.....	79
b)	Principaux marqueurs des leucémies aiguës.....	80
5.	Immunophénotypage.....	82
a)	Principe de l'immunophénotypage.....	82
b)	Technique de cytométrie en flux.....	82
c)	Utilisation et intérêt de l'immunophénotypage.....	83
6.	Cytogénétique.....	87
<b>F.</b>	<b>Pronostic.....</b>	<b>88</b>
1.	Leucémies aiguës lymphoblastiques.....	89
2.	Leucémies aiguës myéloïdes.....	90
<b>G.</b>	<b>Traitement.....</b>	<b>91</b>
1.	Prise en charge du patient et traitement de soutien.....	92
2.	Traitements anticancéreux.....	93
a)	Agents thérapeutiques utilisés.....	93
b)	Protocoles de traitement.....	95
(1)	Leucémies aiguës lymphoblastiques.....	95
(2)	Leucémies aiguës myéloïdes.....	99
c)	Les greffes de moelle osseuse.....	103
d)	Conséquences et toxicité de la chimiothérapie.....	104
<b>III.</b>	<b>LES LEUCEMIES CHRONIQUES.....</b>	<b>107</b>
<b>A.</b>	<b>Etiologie.....</b>	<b>107</b>
<b>B.</b>	<b>Epidémiologie.....</b>	<b>108</b>
<b>C.</b>	<b>Pathogénie.....</b>	<b>110</b>
1.	Syndromes lymphoprolifératifs chroniques.....	110
2.	Syndromes myéloprolifératifs chroniques.....	115
<b>D.</b>	<b>Présentations cliniques.....</b>	<b>117</b>
<b>E.</b>	<b>Diagnostic.....</b>	<b>120</b>
1.	Hémogramme et frottis sanguin.....	120
a)	Leucémies lymphoïdes chroniques.....	121
b)	Leucémies myéloïdes chroniques.....	123
(1)	Leucémie granulocytaire chronique.....	123
(2)	Leucémies basophiles chroniques.....	124
(3)	Leucémies éosinophiles chroniques.....	125
(4)	Leucémies monocytaire et myélomonocytaire chroniques.....	127
(5)	Polyglobulie vraie.....	127
(6)	Thrombocythémie essentielle.....	128
2.	Electrophorèse.....	129
3.	PCR ou amplification en chaine par polymérisation.....	130
4.	Myélogramme, biopsies médullaire et splénique.....	132
5.	Marquages cytochimiques.....	135
6.	Immunophénotypage.....	136
<b>F.</b>	<b>Pronostic.....</b>	<b>138</b>
1.	Leucémies lymphoïdes chroniques.....	138
2.	Leucémies myéloïdes chroniques.....	139
<b>G.</b>	<b>Traitement.....</b>	<b>141</b>
1.	Leucémies lymphoïdes chroniques.....	141
a)	Décision et agents thérapeutiques.....	141
b)	Protocole thérapeutique.....	142
2.	Leucémies myéloïdes chroniques.....	145
a)	Leucémie granulocytaire chronique.....	145
b)	Leucémie basophile chronique.....	146
c)	Leucémie éosinophile chronique.....	146
d)	Polyglobulie vraie.....	147
e)	Thrombocythémie essentielle.....	147
	<b>CONCLUSION.....</b>	<b>149</b>
	<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>145</b>
	<b>ANNEXES.....</b>	<b>145</b>

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

ACVP : american college of veterinary pathologists  
ALAT : alanine aminotransférase  
ALSG : animal leukemia group study  
ANBE :  $\alpha$ -naphtaline butyrate estérase  
ANC : all nucleated cells in the bone marrow (incluant les lymphocytes, les macrophages, les mastocytes et les plasmocytes)  
AP : phosphatase alcaline  
BCR : B-cell receptor  
CD : cluster of differentiation  
CAE : chloracétate estérase  
CFU-GM : colony forming unit of granulocyte monocyte  
CIVD : coagulation intravasculaire disséminée  
COP : cyclophosphamide, vincristine, prednisone  
ECF-A : eosinophilic chemotactic factor of anaphylaxis  
ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay  
FAB-NCI : French American British and National Cancer Institute  
 $\gamma$ GT : gamma-glutamyl transférase  
GM-CSF : granulocyte monocyte colony stimulating factor  
M-CSF : macrophage colony stimulating factor  
GP : glycoprotein platelet  
GVH : graft versus host disease (maladie du greffon contre l'hôte)  
Hb : hémoglobine  
HLA-Dr : human leucocyte antigen, encore appelé complexe majeur d'histocompatibilité de classe II  
HTLV-1 : human T-lymphotropic virus type 1  
IFA : indirect fluorescent assay  
IGF-1 : insulin-like growth factor 1  
IL : interleukine  
IV : voie intra-veineuse  
LA : leucémie aiguë  
LAL : leucémie aiguë lymphoblastique  
LAM : leucémie myéloïde aiguë  
LBC : leucémie basophile chronique  
LC : leucémie chronique  
LE : leucémie éosinophile  
LGC : leucémie granulocytaire chronique  
LLC : leucémie lymphoïde chronique  
LMOc : leucémies monocytaires chroniques  
LMMoC : myélomonocytaires chroniques  
ml : millilitre  
MDS : syndromes myélodysplasiques  
MGG : coloration May-Grünwald Giemsa  
NEC : cellules non érythroïdes  
MNS : myeloid neoplasm subcommittee  
NK : cellule natural killer  
PAL : phosphatase alcaline  
PER : peroxidase  
PO : per os  
PV : polyglobulie vraie  
SBB : sudan black B  
SC : voie sous-cutanée  
SHE : syndromes hyperéosinophiliques  
TCR : T-cell receptor  
TE : thrombocytémie essentielle  
TNF $\alpha$  : tumor necrosis factor  
WHO : World Health Organization



## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Comparaison des classifications des syndromes myélodysplasiques chez l'homme et chez les carnivores domestiques d'après les données cytologiques (Hohenhaus, 2005).....	31
Tableau 2: Caractéristiques cytologiques des LAL, classifications FAB (Fournel-Fleury <i>et al.</i> , 1992).....	42
Tableau 3: Leucémies aiguës myéloïdes, classifications FAB (Bennett <i>et al.</i> , 1976 ; Jain <i>et al.</i> , 1991).....	49
Tableau 4: Classifications des syndromes lymphoprolifératifs (Fournel-Fleury <i>et al.</i> , 1992).	56
Tableau 5: Classifications des syndromes myéloprolifératifs chez les carnivores domestiques (Fournel-Fleury <i>et al.</i> , 1992).....	57
Tableau 6: Complications et signes cliniques des leucémies aiguës chez les carnivores domestiques (Dobson <i>et al.</i> , 2006).....	70
Tableau 7: Différences entre leucémies aiguës lymphoblastiques et stades V de lymphome canin(Dobson <i>et al.</i> , 2006).....	72
Tableau 8: Résumé des différents antigènes CD identifiés en médecine vétérinaire (Feldman <i>et al.</i> , 2000).....	84
Tableau 9: Marqueurs immunophénotypiques standards des leucémies en médecine humaine (McManus, 2005 ; Feldman <i>et al.</i> , 2000).....	85
Tableau 10: Panel d'immunophénotypage recommandé pour l'identification des lignées cellulaires des leucémies aiguës chez les carnivores domestiques (McManus, 2005 ; Villiers <i>et al.</i> , 2006).....	86
Tableau 11: Système de gradation clinique des LAL en médecine humaine (Cotter, 1983 ; Mashita <i>et al.</i> , 2006).....	89
Tableau 12: Traitement de soutien des leucémies aiguës (Feldman <i>et al.</i> , 2000).....	93
Tableau 13: Protocole de chimiothérapie des LAL (Morris et Dobson, 2001).....	97
Tableau 14: Protocole chimiothérapeutique des lymphomes canins (L-VCA) (Vail et Young, 2007).....	98
Tableau 15: Protocole chimiothérapeutique des lymphomes (COP) (Minelli <i>et al.</i> , 1998).....	99
Tableau 16: Protocole chimiothérapeutique des LAL (Morris et Dobson, 2001).....	100
Tableau 17: Protocole chimiothérapeutique des LAM canines (Rohrig, 1983).....	101
Tableau 18: Protocole chimiothérapeutique des LAM canines (Rohrig, 1983 ; Graves <i>et al.</i> , 1997).....	102
Tableau 19: Protocole chimiothérapeutique des LAM canines (Hamlin et Duncan, 1990).....	102
Tableau 20: Protocole chimiothérapeutique des LAM canines (Rohrig, 1983).....	102
Tableau 21: Démarche à suivre lors de toxicité hématologique (Magnol <i>et al.</i> , 2001).....	105
Tableau 22: Données hématologiques distinguant LGC et LMMoC en médecine humaine (Feldman <i>et al.</i> , 2000).....	127
Tableau 23: Différents types de CD mis en évidence lors du diagnostic de LLC et LMC chez le chien (Workman et Vernau, 2003 ; Leifer <i>et al.</i> , 1983).....	137
Tableau 24: Protocoles thérapeutiques des LLC (Vail et Young, 2007).....	143
Tableau 25: Autre protocole thérapeutique alternatif des LLC (Dobson <i>et al.</i> , 2006).....	144
Tableau 26: Protocole thérapeutique des LGC (Dobson <i>et al.</i> , 2006).....	146



## LISTE DES FIGURES

Figure 1: Physiologie de l'hématopoïèse (Breuer et Hermanns, 1998).....	14
Figure 2: L'hématopoïèse (Cordonnier et Fontaine, 2002). .....	15
Figure 3: Hématopoïèse et facteurs de régulation.....	18
Figure 4: Pathogénie des syndromes myélodysplasiques (Breuer et Hermanns, 1998).....	28
Figure 5: Myélogrammes retrouvés lors de MDS (coloration MGG, objectif 25 et 100) (Magnol <i>et al.</i> , 2001).....	34
Figure 6: Myélogramme de leucémies aiguës lymphoblastiques 1 et 2 (coloration MGG, objectif 100) (Magnol <i>et al.</i> , 2001). .....	42
Figure 7: Myélogrammes de leucémies aiguës myéloïdes M1 et M2 (coloration MGG, objectifs 100 et 40) (Feldman <i>et al.</i> , 2000). .....	45
Figure 8: Myélogramme d'un chat atteint de LAM-M4 (coloration MGG, objectif 100) (Feldman <i>et al.</i> , 2000). .....	46
Figure 9: Myélogrammes de LAM-M5a et LAM-M5b canines (coloration MGG, objectif 100) (Feldman <i>et al.</i> , 2000).....	47
Figure 10: Myélogrammes d'un chat atteint de LAM-M6Er et d'un chien atteint de LAM-M7 (coloration MGG, objectif 100) (Feldman <i>et al.</i> , 2000).....	48
Figure 11: Myélogramme et frottis sanguin de LLC féline (coloration MGG, objectif 100) (Feldman <i>et al.</i> , 2000). .....	51
Figure 12: Frottis sanguins de LLC à lymphocytes T et à grands lymphocytes (coloration MGG, objectif 100) (Feldman <i>et al.</i> , 2000). .....	52
Figure 13: Myélogramme de LMC (coloration MGG, objectif 40 et 100) (Feldman <i>et al.</i> , 2000).....	54
Figure 14: Frottis sanguin d'une LMC basophile canine et d'une LMC éosinophile féline (coloration MGG, objectif 100) (Feldman <i>et al.</i> , 2000).....	54
Figure 15: Myélogramme et frottis sanguin d'un chien atteint de thrombocytémie primitive (coloration MGG, objectif 40 et 100) (Feldman <i>et al.</i> , 2000).....	55
Figure 16: Cytogénèse des leucémies myéloïdes aiguës et chroniques chez les carnivores domestiques (Magnol <i>et al.</i> , 2001).....	58
Figure 17: Pathogénie des leucémies aiguës (Breuer <i>et al.</i> , 1998). .....	64
Figure 18: Classification des leucémies myéloïdes et des MDS à l'aide des résultats du myélogramme (Jain <i>et al.</i> , 1991).....	78
Figure 19: Algorithme permettant de distinguer les différentes LA à l'aide de marqueurs cytochimiques (Feldman <i>et al.</i> , 2000).....	81
Figure 20: Exemple de marquages immunocytochimiques à partir de prélèvement de moelle osseuse provenant d'un chien atteint de LAM-M7 (Suter <i>et al.</i> , 2007).....	86
Figure 21: Pathogénie des leucémies chroniques (Breuer et Hermanns, 1998).....	112



# INTRODUCTION

Les leucémies sont des pathologies cancéreuses des cellules sanguines rarement décrites chez les espèces canines et félines mais très bien connues en médecine humaine. Elles appartiennent au groupe des hémopathies malignes, largement représentées chez les carnivores domestiques par les lymphomes et les mastocytomes, et correspondent à une prolifération tumorale de cellules circulantes sanguines. L'origine du processus néoplasique située dans la moelle osseuse hématopoïétique constitue une caractéristique incontournable des leucémies et permet de les différencier d'autres pathologies apparemment très proches telles les plasmocytomes (et notamment le myélome multiple). Le caractère circulant des leucémies, associé à leur origine organique circonscrite, font de ces cancers des pathologies originales mais particulièrement difficile à prendre en charge.

Il existe de nombreux types de leucémies correspondant d'une part à leur évolution clinique et au stade cellulaire proliférant, et d'autre part aux différentes lignées cellulaires circulants dans le compartiment sanguin. Leur mise en évidence fait appel à des outils diagnostiques variés, dont l'utilisation n'est encore que peu répandue en médecine vétérinaire, et reste exceptionnelle, faisant de leucémies des maladies largement sous-diagnostiquées. Le pronostic est variable suivant la lignée sanguine intéressée et l'évolution clinique (selon que la leucémie est aiguë ou chronique). Ainsi, les leucémies peuvent s'avérer foudroyantes (telles les leucémies aiguës) ou bénéficier d'un pronostic beaucoup plus favorable, au point de ne pas juger indispensable la mise en place d'une thérapie anti-cancéreuse (leucémie chronique).

Les leucémies demeurent des maladies du sang peu connues en médecine vétérinaire mais qui profitent indéniablement des progrès considérables effectués chez l'homme.

L'objectif de cette étude est de faire la synthèse de l'ensemble des connaissances concernant les leucémies chez les carnivores domestiques rapportés dans la littérature vétérinaire ces quarante dernières années. Toutes les caractéristiques des leucémies, tant étiologique, pathogénique que diagnostique ou thérapeutique, seront abordées, et souvent éclairées par des références à la cancérologie humaine.



## **I. Définition et classification des leucémies**

Les cancers du système hématolymphopoïétique (ou hémopathies malignes) sont très courants dans l'espèce canine et féline. Les hémopathies malignes représentent 7 à 24% des néoplasies chez le chien, et se classent en deuxième position, derrière le fibrosarcome, parmi les tumeurs les plus fréquentes chez le chat. Les leucémies représentent seulement 10 % des hémopathies malignes. Les animaux souffrant de leucémies peuvent ne pas présenter de signes visibles ou spécifiques de la maladie (à l'encontre des lymphomes, très souvent objectivés par la visualisation d'une ou plusieurs masses tumorales). Le diagnostic repose ainsi sur une série d'analyses cytologiques explorant le sang et la moelle osseuse hématopoïétique.

La classification des hémopathies malignes distingue tout d'abord les leucémies des hématosarcomes ; cette première dichotomie se base sur des critères physiopathologiques, cliniques et diagnostiques. Les hématosarcomes, dont le groupe le plus important est représenté par les lymphomes, sont des tumeurs localisées à un ou plusieurs organes hématolymphopoïétiques autres que la moelle osseuse. En revanche, les leucémies sont caractérisées par une prolifération primitive dans la moelle osseuse hématopoïétique et par un envahissement secondaire mais inconstant du compartiment sanguin. En effet, il existe des leucémies "aleucémiques" dans les rares cas où la prolifération ne s'étend pas au sang.

Dans un premier temps nous allons aborder les étapes de l'hématopoïèse puis les processus de cancérisation, deux mécanismes indissociables dans le cas des leucémies. La connaissance de ces phénomènes est fondamentale pour la compréhension de la classification des leucémies, abordée secondairement, et de leur évolution clinique.

## ***A. L'hématopoïèse***

L'hématopoïèse est le terme utilisé pour désigner le processus de formation des cellules sanguines matures : érythrocytes, lymphocytes, granulocytes, monocytes et thrombocytes (schéma 1).

### **1. Cellule souche totipotente et lieux de l'hématopoïèse**

Les cellules souches se situent au commencement d'un long processus de multiplication, différenciation et maturation aboutissant à la production de toutes les cellules sanguines. Ces cellules souches totipotentes (appelées CFU-S, pour "Colony Forming Unit in Spleen") sont des cellules à haut pouvoir d'auto-renouvellement, peu différenciées et capables de s'engager vers les différentes lignées sanguines. Elles sont ainsi à l'origine de l'hématopoïèse. La plupart de ces cellules sont quiescentes (c'est-à-dire en phase G<sub>0</sub> du cycle mitotique) alors qu'une faible proportion est engagée dans le cycle de multiplication. Ces cellules sont présentes dans la moelle osseuse mais également dans le compartiment circulant en particulier chez le nouveau né (Aufderheide, 1981 ; Cordonnier et Fontaine, 2002; Fournel-Fleury, 2006).

La position très en amont des cellules souches au sein de l'hématopoïèse permet de comprendre les conséquences physiologiques, pathologiques mais aussi thérapeutiques de leur utilisation. D'un point de vue thérapeutique, par exemple, l'utilisation des cellules souches se conçoit comme moyen de restaurer l'hématopoïèse et d'apporter une réponse thérapeutique à des affections sévères altérant la fonction de la moelle osseuse hématopoïétique (Breuer et Hermanns, 1998). D'un point de vue pathologique, une transformation clonale de la cellule souche totipotente sera à l'origine d'une modification quantitative et qualitative des processus de multiplication et de maturation de l'ensemble des lignées sanguines. Ce processus est à l'origine des syndromes myélodysplasiques (MDS) se traduisant par des conséquences hématologiques parfois sévères, et qui constituent la première étape dans l'évolution des syndromes myéloprolifératifs aboutissant à une période de leucémie déclarée (Fournel-Fleury, 2006).

La division mitotique des cellules souches donne naissance à des cellules précurseurs déterminées engagées dans une voie de différenciation qui aboutiront par la suite à des cellules unipotentes capables de ne donner qu'un seul type cellulaire (érythrocytaire, thrombocytaire, granulocytaire, monocytaire ou lymphocytaire). Ces cellules précurseurs

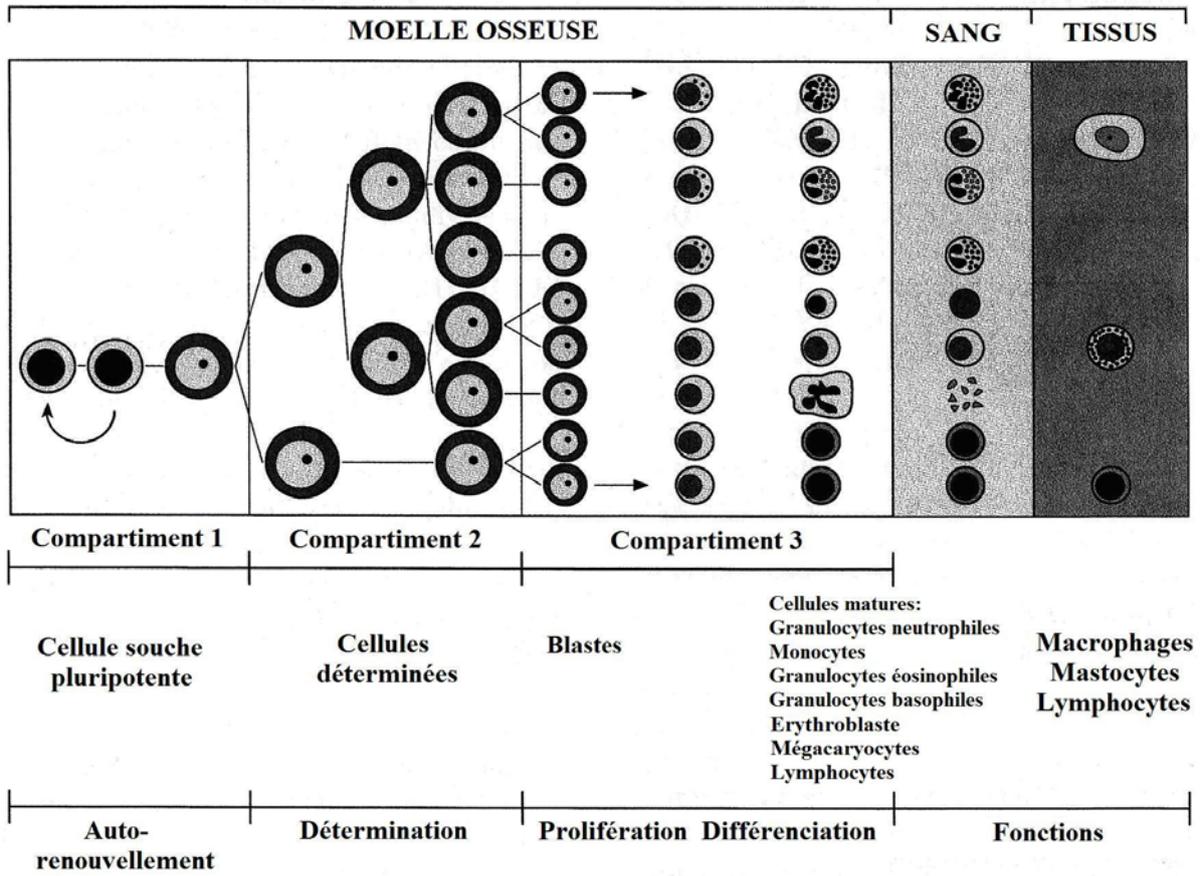
déterminées se scindent en deux groupes en fonction de la lignée qu'elles formeront ; on distingue ainsi les cellules précurseurs de la lignée myéloïde et celles de la lignée lymphoïde. Une fois engagées dans ces lignées, les cellules précurseurs perdent leur pouvoir d'auto-renouvellement (Aufderheide, 1981). Ces cellules ne sont pas identifiables morphologiquement, elles le deviendront à l'issue du processus de différenciation. Seule l'identification de leurs marqueurs de surface permet de les distinguer.

Les étapes de multiplication et de différenciation aboutissent à des cellules matures, fonctionnelles, qui sont amenées à quitter le compartiment médullaire pour gagner le sang.

Le système hématopoïétique comporte les éléments fonctionnels du sang (cellules matures), les cellules qui leur donnent naissance et les tissus hématopoïétiques (moelle osseuse hématopoïétique, foie, rate, nœuds lymphatiques et thymus).

La moelle osseuse hématopoïétique, compartiment central, est le siège de l'hématopoïèse et ainsi de la production de toutes les cellules sanguines. Cette moelle osseuse hématopoïétique est retrouvée dans les os plats et dans la tête des os longs. Il existe des moelles dites secondaires qui sont des sites intervenant lors d'insuffisance médullaire réelle ou relative lorsqu'il y a une forte augmentation des besoins en cellules sanguines ; ces sites sont la rate, le foie et les nœuds lymphatiques chez les carnivores domestiques (Cordonnier et Fontaine, 2002 ; Fournel-Fleury, 2006).

Figure 1: Physiologie de l'hématopoïèse (Breuer et Hermanns, 1998).

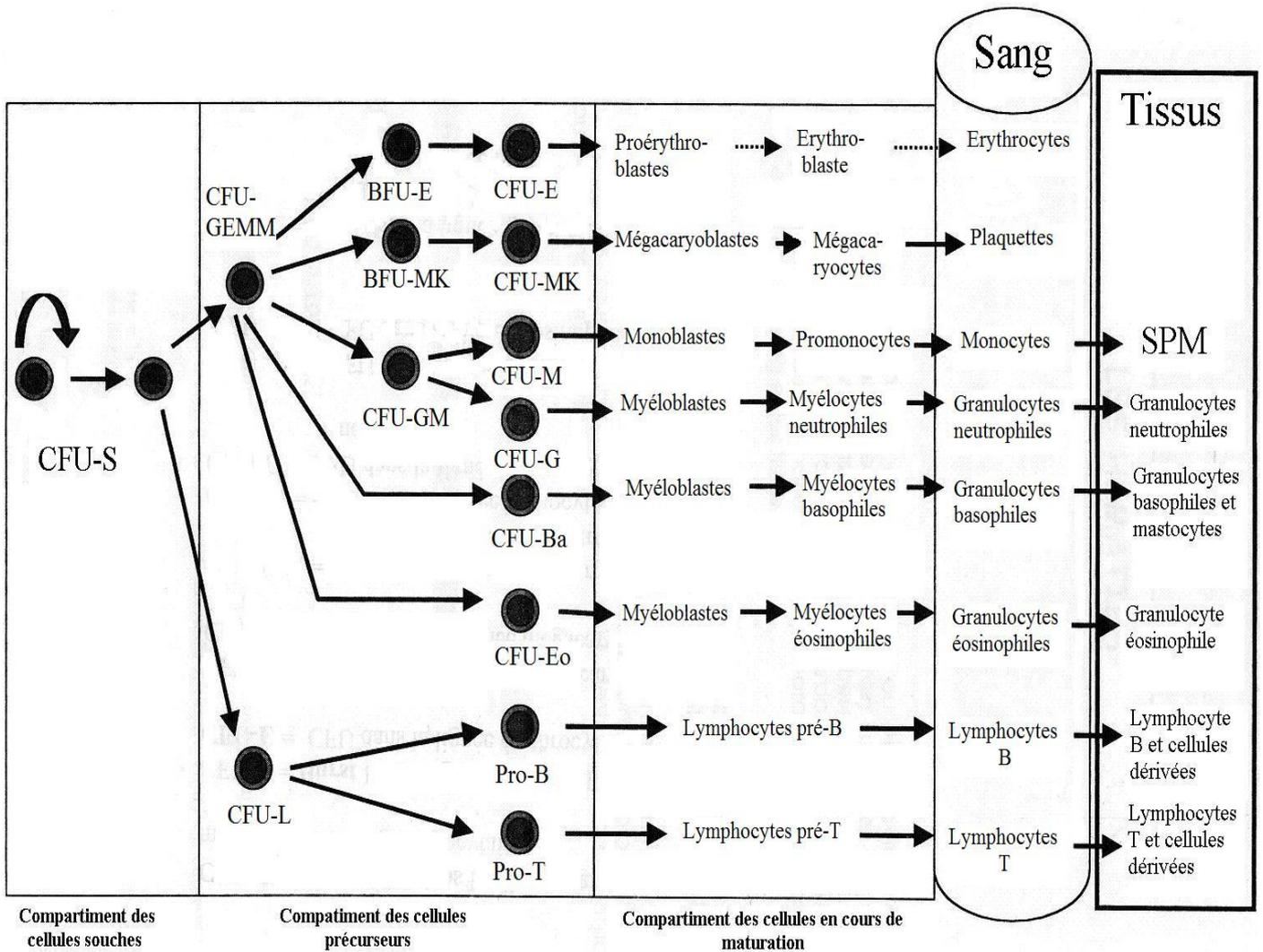


La rate fait office de réservoir de stockage/relargage des cellules sanguines en fonction des besoins physiologiques et des situations pathologiques. Suite à un certain nombre de stimulations, notamment le stress ou lors d'hémorragies, la rate peut libérer brutalement un pool plus ou moins important de cellules sanguines. Cela explique les variations quantitatives rapides et parfois conséquentes que peut subir l'hémogramme (Fournel-Fleury, 2006).

Le thymus est un organe lymphoïde central, siège de la multiplication et de la maturation des lymphocytes T. Il accueille uniquement les cellules précurseurs déterminées pour la lignée des lymphocytes T (Fournel-Fleury, 2006).

Les processus de détermination, multiplication et différenciation s'effectuent à la faveur d'un contexte environnemental favorable, régulé par différents facteurs agissant sur chaque étape de l'hématopoïèse.

Figure 2: L'hématopoïèse (Cordonnier et Fontaine, 2002).



Ba : lignée basophile ; BFU : Burst Forming Unit ; CFU : Colony Forming Unit ; Eo : lignée éosinophile ; E : lignée érythrocytaire ; G : lignée granulocytaire neutrophile ; GEMM : lignée granulocytaire, érythrocytaire, monocyttaire et mégacaryocytaire ; GM : lignée monocyttaire et granulocytaire neutrophile ; L : lignée lymphocytaire ; MK : lignée mégacaryocytaire ; S : spleen ; SPM : système des phagocytes mononuclés.

## 2. Facteurs humoraux intervenant dans l'hématopoïèse

La prolifération des cellules au cours de l'hématopoïèse est sujette à diverses influences stimulatrices et inhibitrices agissant sur les processus de mitose et d'apoptose. Ces facteurs conditionnent également la différenciation des cellules engagées dans l'hématopoïèse.

### *a) Facteurs stimulant la croissance et la différenciation cellulaire*

La stimulation de la prolifération est le résultat de l'action d'un grand nombre de facteurs de croissance qui agissent à différents niveaux du processus de genèse des cellules myéloïdes et lymphoïdes. Ces facteurs de croissance interviennent dans la multiplication et la maturation des cellules sanguines en stimulant les différentes lignées à partir de leurs précurseurs engagés dans les processus de différenciation, mais aussi tout au long des étapes aboutissant à la cellule fonctionnelle. Les principaux facteurs de croissance sont l'interleukine 3 (IL-3, agissant sur toutes les lignées), le GM-CSF (Granulocyte Monocyte Colony Stimulating Factor), le c-kit-ligand (facteur de croissance des cellules souches), le M-CSF (Macrophage Colony Stimulating Factor), le G-CSF (Granulocyte Colony Stimulating Factor), l'EPO (érythropoïétine), la thrombopoïétine et les interleukines IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9 et IL-11. Sous l'influence de ces molécules, une cascade de signaux transducteurs active des éléments de régulation comme des récepteurs cellulaires aux facteurs de croissance, d'autres signaux transducteurs et des facteurs de transcription (Aufderheide, 1981).

Chaque facteur a une action sur un ou plusieurs types cellulaires déterminés. Par exemple, l'érythropoïétine (produite par le parenchyme rénal) favorise la croissance de la lignée érythrocytaire, et la thrombopoïétine agit sur les mégacaryocytes. Les basophiles sont particulièrement sensibles à l'action de l'IL-4, et les éosinophiles à IL-5 (Fournel-Fleury, 2006).

Parallèlement, beaucoup d'hormones possèdent une action stimulatrice sur l'hématopoïèse de façon directe et indirecte. Les hormones sexuelles ont ainsi un rôle dans l'érythropoïèse ; les androgènes accroissent la sensibilité de la moelle osseuse à l'érythropoïétine, la testostérone augmente la synthèse de l'hème et l'incorporation du fer. En revanche, les œstrogènes ont une action inhibitrice sur la croissance des hématies. L'activité des hormones thyroïdiennes sur l'érythropoïèse est démontrée par l'anémie non régénérative que développent les patients hypothyroïdiens. Les hormones surrénaliennes et hypophysaires

(notamment le cortisol et l'hormone de croissance) possèdent également une action stimulatrice sur la lignée érythrocytaire. Leurs actions étant objectivées par les conséquences découlant des syndromes de privation ou lors d'hypoproduction de ces hormones (Aufderheide, 1981).

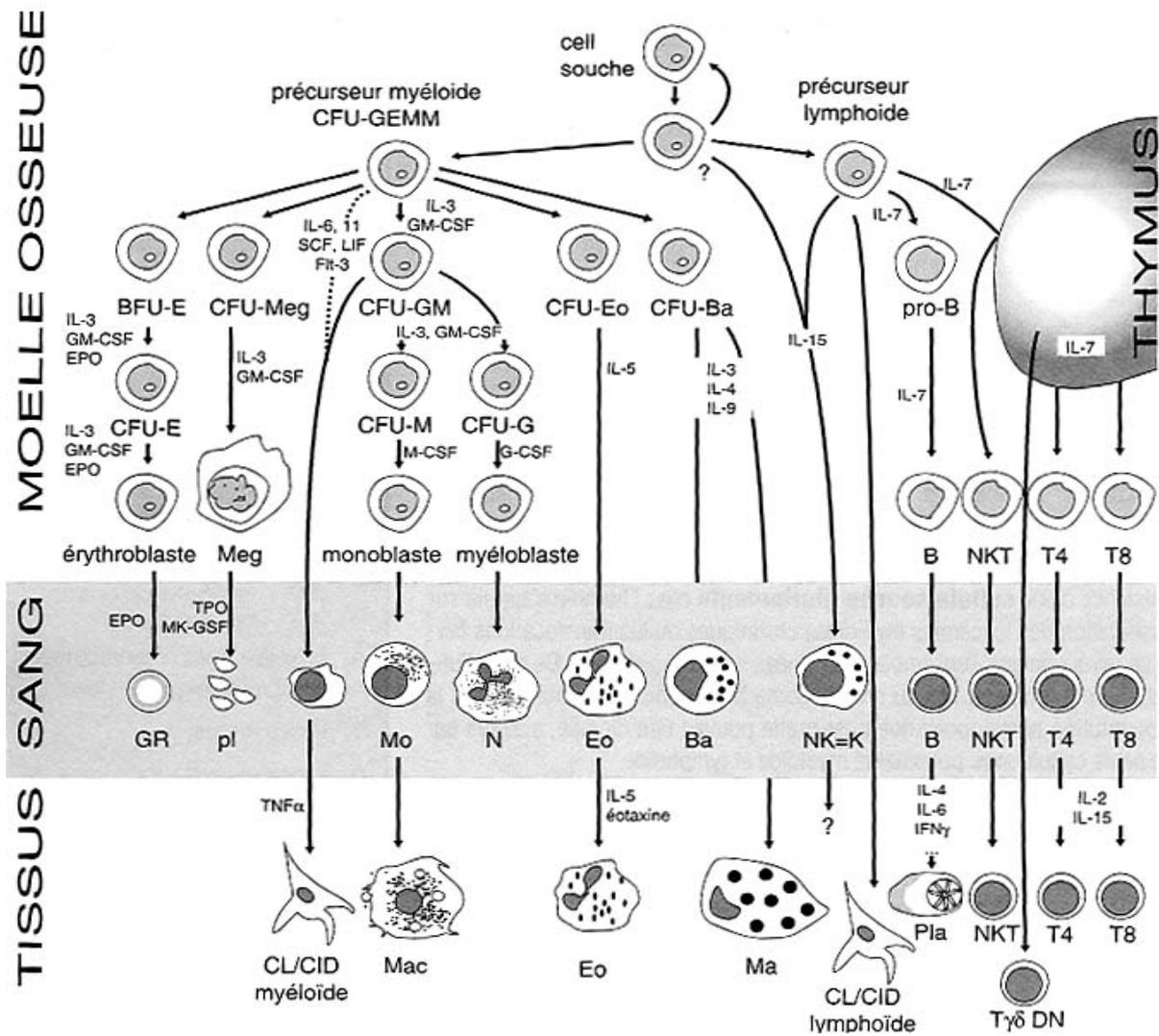
La lignée des granulocytes est contrôlée par une glycoprotéine circulante, le GM-CSF, ayant pour effet d'augmenter la production de granulocytes neutrophiles, de basophiles et de monocytes. L'action de ce facteur est de stimuler la production de cellules précurseurs myéloblastiques et monoblastiques (autrement appelées CFU-GM, Colony Forming Unit of Granulocyte Monocyte). Les macrophages, formes différenciées et tissulaires de la lignée monoblastique, libèrent le GM-CSF en réponse à un processus inflammatoire local. En outre, la libération du GM-CSF est activée par des endotoxines et certains médiateurs de la réponse immunitaire (Aufderheide, 1981 ; Ogilvie, 1995 ; Breuer et Hermanns, 1998).

La régulation de la production de granulocytes éosinophiles est indépendante des autres lignées granulocytaires et monocytaires. Les médiateurs de l'inflammation (histamine, acide arachidonique, certains peptides circulants et l'ECF-A (Eosinophilic Chemotactic Factor of Anaphylaxis) stimulent la lignée éosinophilique en agissant sur la CFU-Eo ("Eo" désignant la lignée éosinophile) (Aufderheide, 1981 ; Ogilvie, 1995).

La connaissance des mécanismes d'action de la prolifération des cellules sanguines permet de comprendre l'influence de ces différents facteurs sur cette étape de l'hématopoïèse. En revanche, les mécanismes de différenciation ne sont pas encore totalement élucidés.

Parmi ces facteurs de croissance et autres éléments de régulation de l'hématopoïèse, de nombreuses molécules sont codées par des proto-oncogènes, dont la mutation aura une conséquence dans l'apparition de phénomènes tumoraux (Aufderheide, 1981).

Figure 3: Hématopoïèse et facteurs de régulation.



B : lymphocyte B ; Ba : granulocyte basophile ; GR : globule rouge ; Eo : granulocyte éosinophile ; IL : interleukine ; Ma : mastocyte ; Mac : macrophage ; Meg : mégacaryocyte ; N : granulocyte neutrophile ; NK : natural killer ; pl : plaquettes.

### b) Facteurs inhibant la croissance et la différenciation cellulaire

Il existe également des molécules inhibitrices intervenant à différentes étapes de l'hématopoïèse.

Les molécules dérivant de la lactoferrine et de la transferrine, les interférons alpha et bêta, les prostaglandines E<sub>1</sub> et E<sub>2</sub>, le TNF $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor) et le TGF $\beta$  (Transforming Growth Factor) possèdent une action inhibitrice vis-à-vis de l'étape de multiplication des cellules sanguines (Aufderheide 1981; Raskin 1996). Les prostaglandines E<sub>1</sub> et E<sub>2</sub> ont un effet supprimeur sur la formation de CFU-M (M désignant la lignée

monocytaire), CFU-GM et CFU-G. Le TGF  $\beta$  agit en amont en inhibant la détermination des cellules souches, en diminuant l'action d'IL-3 et l'expression de c-kit (correspondant au CD<sub>117</sub>) (Raskin, 1996).

Ces facteurs de régulation de l'hématopoïèse sont sécrétés par l'environnement des cellules en cours de maturation : les cellules stromales (fibroblastes, cellules endothéliales médullaires, macrophages) et des organes distants de la moelle osseuse synthétisant des molécules solubles transitant par voie sanguine (hormones hypophysaires, thyroïdiennes). Le bon déroulement de l'hématopoïèse est donc tributaire du bon état de cet environnement.

### **3. Tissu hématolymphopoïétique et lignées cellulaires**

#### *a) Caractéristiques du tissu hématolymphopoïétique*

L'ensemble des cellules sanguines produites par la moelle constitue un tissu en renouvellement permanent. Cela permet de comprendre les trois caractéristiques principales du tissu hématolymphopoïétique : tout d'abord l'extrême labilité de ce tissu, en effet, les différents pools cellulaires contenus dans la moelle osseuse et le sang seront directement tributaires de l'homéostasie, des modifications organiques ou encore d'éventuelles infections. Deuxièmement, le tissu hématolymphopoïétique est caractérisé par sa grande fragilité, dans la mesure où la multiplication cellulaire permanente dont il est le siège l'expose aux conséquences pathologiques sévères d'un certain nombre d'agents (biologique, iatrogène) pouvant perturber la production des cellules sanguines. Enfin, la notion de cinétique au sein du tissu hématolymphopoïétique explique la nécessité de répétition des examens d'exploration de la fonction hématopoïétique (comme l'hémogramme) tant la vitesse de renouvellement de certaines catégories cellulaires est importante (Cordonnier et Fontaine, 2002 ; Fournel-Fleury, 2006).

La moelle osseuse hématopoïétique produit tous les précurseurs des cellules sanguines. Cependant, au sein de ce tissu, on observe un clivage entre deux types tissulaires : le tissu myéloïde et le tissu lymphoïde. La distinction lymphoïde/myéloïde est essentielle pour comprendre la composition physiologique et les modifications pathologiques dans les différentes affections de la moelle osseuse hématopoïétique. Cela permet également la compréhension de la classification de base des hémopathies malignes que l'on clive en lymphoïde ou en myéloïde, mais aussi leurs différences en terme de présentation clinique, de moyens diagnostiques et de possibilités thérapeutiques.

### *b) Lignée myéloïde*

Le tissu myéloïde regroupe les lignées des érythrocytes, des thrombocytes (autrement appelés plaquettes sanguines) et les lignées productrices de l'ensemble des leucocytes (à l'exception des lymphocytes) c'est-à-dire des polynucléaires (neutrophiles, éosinophiles et basophiles) et des monocytes (Cordonnier et Fontaine, 2002).

Les cellules myéloïdes effectuent la totalité de leur multiplication et de leur différenciation dans la moelle osseuse hématopoïétique. En outre, les cellules matures issues de cette lignée sont incapables de se diviser, ce qui permet de comprendre la nécessité de les produire de façon continue. La seule exception à ce phénomène de non renouvellement des stades matures concerne une catégorie tissulaire dérivée des monocytes sanguins : ce sont les histiocytes tissulaires qui dans certaines pathologies ont la capacité de se multiplier, formant notamment des granulomes (Fournel-Fleury, 2006).

Les cellules de la lignée plaquettaire sont d'origine médullaire et gagnent le sang sous une forme différente de leur forme terminale médullaire ; en effet, un grand nombre de thrombocytes (ou plaquettes sanguines) naissent de la fragmentation cytoplasmique d'un unique mégacaryocyte médullaire. Les thrombocytes présents dans le sang exercent leur fonction dans l'hémostase en cas de lésion de l'appareil vasculaire, et peuvent être stockés de façon transitoire dans la rate (pouvant abriter un tiers du contingent plaquettaire). La formation des plaquettes sanguines dure de 3 à 4 jours (Fournel-Fleury, 2006).

La lignée érythrocytaire connaît une évolution similaire à la lignée plaquettaire, à l'exception du processus de fragmentation ; ses cellules se multiplient et se différencient dans la moelle osseuse hématopoïétique, gagnent le sang et peuvent être stockées de façon conséquente dans la rate. La maturation de cette lignée comporte de nombreux intermédiaires et nécessite la présence de facteurs exogènes indispensables à son bon déroulement (acide folique, vitamine B<sub>12</sub>, B<sub>6</sub>, fer). La durée de formation des hématies est de 4 à 5 jours (Cordonnier et Fontaine 2002 ; Fournel-Fleury, 2006).

Comme les lignées plaquettaire et érythrocytaire, la lignée granulocytaire effectue l'intégralité de sa multiplication et de sa maturation dans la moelle osseuse. La différence par rapport aux lignées précédentes réside dans leur transit très court au sein du compartiment sanguin. En effet, les granulocytes gagnent rapidement les tissus où ils effectuent l'essentiel de leur fonction de phagocytose et de bactéricide. Leur passage sanguin ne dure ainsi qu'une

dizaine d'heures. La lignée monocyttaire connaît un parcours très semblable à celui de la lignée granulocytaire (Fournel-Fleury, 2006).

La durée de vie des cellules sanguines est variable selon la lignée auxquelles elles appartiennent. Les érythrocytes et les plaquettes ont comme point commun le compartiment sanguin dans lequel ils sont effectifs mais possèdent une durée de vie très différente. En effet, la durée de vie moyenne des hématies est de 100 jours (90 à 120 jours) alors que les plaquettes ne persistent en moyenne que 10 jours dans le sang. Au sein des leucocytes, les cellules issues des lignées granulocytaire et monocyttaire ne font qu'un passage rapide dans le sang puis gagnent les tissus ; les granulocytes et les monocytes demeurent environ 10 heures dans le compartiment sanguin. En revanche, ils demeurent beaucoup plus longtemps dans les tissus : 2 jours en moyenne pour les granulocytes, et parfois plus de 2 mois pour les macrophages (Aufderheide, 1981 ; Fournel-Fleury, 2006).

D'un point de vue quantitatif, les leucocytes sanguins sont environ 50 fois moins nombreux que les érythrocytes (dont la concentration sanguine moyenne s'élève à 5 millions/ml). Par ailleurs, la concentration sanguine plaquettaire est 10 fois moins importante que celles des érythrocytes (Aufderheide, 1981).

### *c) Lignée lymphoïde*

Toutes les cellules lymphoïdes (lymphocytes T, lymphocytes B et cellules "Natural Killer") proviennent d'une même cellule précurseur, encore appelée progéniteur lymphoïde commun, elle-même issue de la cellule souche médullaire.

Les précurseurs immatures de la lignée T sont ensuite exportés vers le thymus où ils subiront des processus de multiplication et de maturation. Le développement thymique des cellules lymphoïdes T est complexe et implique une série d'interactions avec une population de cellules présentatrices d'antigènes (cellules épithéliales thymiques, cellules dendritiques). Ces interactions déterminent si ces cellules en voie de différenciation expriment un TCR (T-cell receptor) capable de reconnaître des antigènes étrangers (sélection positive) et de reconnaître les auto-antigènes (sélection négative). Les cellules ne satisfaisant pas ces tests de fonctionnalité subissent des processus d'apoptose dans le thymus. La différenciation en lymphocytes  $CD_4^+$  et  $CD_8^+$  s'effectue dans le thymus, sous l'influence de facteurs de différenciation (surtout IL-7). Les lymphocytes T  $CD_4^+$  et  $CD_8^+$  matures quittent ensuite le thymus et gagnent les tissus lymphoïdes périphériques, notamment les nœuds lymphatiques, la rate et les formations lymphoïdes associées aux muqueuses. Malgré ces localisations

précises, les lymphocytes ne demeurent pas immobiles mais circulent continuellement grâce aux systèmes circulatoires sanguin et lymphatique. Ce redéploiement constant des lymphocytes est nécessaire pour optimiser les chances de contact avec un antigène spécifique et réguler une réponse immunitaire dans une région appropriée. Les lymphocytes T sont considérés comme naïfs jusqu'à ce qu'ils aient reconnu l'antigène vis-à-vis duquel ils ont acquis une spécificité. Après leur participation à la réponse immune, une population de lymphocytes T persiste et constitue un contingent de lymphocytes mémoire (Fournel-Fleury, 2006).

Les lymphocytes B sont définis par l'expression à leur surface du BCR (B-cell receptor) qui, à la faveur de recombinaisons génétiques, assure la diversité du répertoire des cellules de cette lignée. Les cellules B immatures subissent multiplication et maturation dans la moelle osseuse hématopoïétique chez l'adulte, et dans le foie chez le fœtus. Les processus de sélection des lymphocytes B sont semblables à ceux de la lignée T ; les lymphocytes B non fonctionnels ou auto-réactifs sont supprimés. Les lymphocytes B ont également comme particularité d'exprimer des immunoglobulines à leur surface et de se transformer en cellules sécrétrices d'immunoglobulines (encore appelées plasmocytes). Les lymphocytes B sont exportés de la moelle osseuse jusqu'aux organes lymphoïdes périphériques (follicules lymphoïdes des nœuds lymphatiques, pulpe blanche de la rate, lamina propria des muqueuses) et sont remis en circulation de la même manière que les lymphocytes T. L'activation des lymphocytes B s'effectue dans les tissus lymphoïdes, à la suite d'interactions avec les lymphocytes T  $CD_4^+$  auxiliaires (ou "helper"). Dans certains cas, les antigènes peuvent directement activer les lymphocytes B lorsqu'ils sont reconnus par les immunoglobulines de surfaces ; ces antigènes sont alors qualifiés de thymo-indépendants. Une fois activés, les plasmocytes migrent sous forme de précurseurs vers diverses formations lymphoïdes (nœuds lymphatiques, pulpe rouge de la rate, moelle osseuse, lamina propria des muqueuses). En outre, les lymphocytes possèdent également un contingent de cellules mémoires qui sont périodiquement stimulées par les cellules dendritiques ou à la faveur d'une vaccination.

Le tissu lymphoïde est minoritaire au sein de la moelle osseuse hématopoïétique et les cellules lymphoïdes sont davantage concentrées dans les organes lymphoïdes périphériques (nœuds lymphatiques, formations lymphoïdes associées aux muqueuses...). De surcroît, les cellules matures de la lignée lymphoïde sont effectrices mais également mémoires et conservent ainsi la capacité de se diviser sous l'effet des stimulations antigéniques. Ceci est à l'origine de la perpétuation d'une mémoire immunitaire et d'une réponse immunitaire d'autant plus efficaces que ces cellules immunitaires sont soumises à la répétition des

stimulations antigéniques (Breuer and Hermanns 1998). Les lymphocytes se différencient donc des cellules issues de la lignée myéloïde par leur lieu de vie (organes lymphoïdes périphériques) et par la durée de leur circulation sanguine qui peut atteindre plusieurs mois (Breuer et Hermanns, 1998).

La notion de durée de vie des cellules sanguines est à relier directement avec la notion de cinétique évoquée précédemment. En effet, si l'on considère la fugacité du passage sanguin des granulocytes, par exemple, on comprend combien il est important de suivre l'évolution de leur numération sanguine, et ainsi distinguer une leucocytose réactionnelle d'une leucocytose persistante caractérisant les syndromes myélo- ou lymphoprolifératifs (Aufderheide, 1981).

En réunissant les notions concernant la durée de vie des cellules sanguines, les processus de maturation des lignées et les concentrations sanguines de ces cellules d'origine myéloïde, on peut comprendre la composition de la moelle osseuse hématopoïétique relative aux différentes lignées. La lignée minoritaire est la lignée thrombocytaire ; ceci est dû au processus de fragmentation des cellules filles mégacaryocytaires. En effet, un faible nombre de ces cellules précurseurs entraîne la libération d'un grand nombre de plaquettes. Les deux autres lignées sanguines (leucocytaire et érythrocytaire) se partagent à part sensiblement égale l'essentiel de la moelle osseuse hématopoïétique. En effet, le passage sanguin très bref des leucocytes (exception faite des lymphocytes) et la courte durée de vie de certaines lignées leucocytaires (granulocytaires notamment) nécessitent un fort taux de renouvellement cellulaire. Cela explique la place importante des leucocytes au sein de la moelle osseuse, malgré une concentration sanguine nettement inférieure à celles des érythrocytes. On comprendra ainsi les répercussions (au sein de la moelle osseuse mais aussi dans le compartiment circulant) de la prolifération cancéreuse de ces lignées et les conséquences qu'elles subiront les unes par rapport aux autres (Raskin, 1996).

## ***B. Processus de cancérisation***

### **1. Etapes de la cancérisation et pathogénie**

#### *a) Prolifération tumorale dans la moelle osseuse*

La prolifération cancéreuse des lignées sanguines est toujours d'origine génétique (mutation induite par un virus, par des radiations ou par l'ingestion de certaines molécules). Elle s'explique par une anomalie de transcription des proto-oncogènes codant pour les facteurs de croissance activant la multiplication au sein des différentes lignées sanguines (Breuer et Hermanns, 1998).

Le stade cellulaire précis qui est la cible de la transformation tumoral est encore sujet à discussion (Breuer et Hermanns, 1998). L'hypothèse selon laquelle la transformation cancéreuse toucherait le stade de cellule souche totipotente prime sur les autres. En médecine humaine, le fait que les cellules blastiques, retrouvées lors des périodes de crises des leucémies myéloïdes chroniques, puissent être de nature lymphoïde, confirme l'hypothèse selon laquelle le dérèglement tumoral a bien lieu en amont du processus de détermination (Breuer et Hermanns, 1998).

La prolifération clonale des cellules malignes, accompagnée ou non d'un défaut de maturation, est à l'origine d'un envahissement de la moelle osseuse et d'un "étouffement" (myélophtisie) des lignées hématopoïétiques normales. L'insuffisance médullaire consécutive explique l'anémie, symptôme clinique majeur, et la thrombocytopénie, souvent sévère, responsable des troubles de l'hémostase.

La prolifération médullaire s'accompagne le plus souvent du passage des cellules malignes dans le sang circulant et d'une augmentation proportionnelle, sur l'hémogramme, de la lignée concernée, associée à une leucocytose globale (à l'exception de la lignée plaquettaire, n'appartenant pas aux leucocytes). Les cellules cancéreuses sont d'autant plus repérables sur le frottis sanguin qu'elles sont moins différenciées. Cependant, il existe des leucémies authentiquement "aleucémiques", c'est-à-dire non accompagnées du passage des cellules néoplasiques dans le sang circulant, en particulier lorsqu'elles intéressent des cellules blastiques de grande taille. Cela souligne l'intérêt de l'examen systématique de la moelle osseuse pour le diagnostic (Young et MacEwen, 2007).

L'évolution d'emblée multicentrique explique l'infiltration des principaux organes hématopoïétiques secondaires (le foie, la rate) et leur hypertrophie souvent massive. Cette

dernière fait également intervenir le développement *in situ* de foyers d'hématopoïèse extra-médullaire compensatrice.

Les syndromes myéloprolifératifs consistent donc en la prolifération cellulaire anormale, s'accompagnant parfois d'anomalies de maturation (surtout rencontrées lors de syndromes myélodysplasiques), concernant n'importe quelle lignée sanguine et pouvant parfois toucher plusieurs lignées en même temps ; ceci s'explique par le fait que la prolifération cancéreuse peut atteindre une cellule précurseur déterminée commune à plusieurs lignée (c'est le cas des lignées neutrophile et monocytaire qui partagent comme précurseur le GM-CFU) mais également un stade cellulaire encore plus précoce (Young et MacEven, 2007).

#### *b) Syndromes paranéoplasiques associés*

Conséquence à distance de la prolifération tumorale, ils sont liés aux produits de sécrétion tumoraux. Dans le cas des leucémies, ils regroupent trois aspects principaux :

- un syndrome fébrile constant, consécutif à la libération par les cellules néoplasiques de substances pyrogène endogènes ; il est fréquemment aggravé par une sensibilité particulière de l'animal aux infections, due à un état de déficit immunitaire latent induit ;
- une prédisposition particulière aux coagulations intravasculaires disséminées (CIVD), due essentiellement au relargage de substances thrombogènes par les cellules blastiques ; la CIVD est donc redoutable dans les leucémies aiguës et plus particulièrement dans les leucémies aiguës myéloïdes ;
- l'installation rare d'un syndrome d'hyperviscosité sanguine, dans les cas très particuliers des syndromes lymphoprolifératifs sécrétants. Il peut dominer le tableau clinique en raison de la sécrétion en grande quantité d'une immunoglobuline monoclonale par les cellules lymphocytaires B néoplasiques (on parle alors de gammopathies monoclonales en raison du profil électrophorétique caractéristique) (Raskin, 1996 ; Fournel-Fleury, 2006).
- L'hypercalcémie paranéoplasique parfois signalée demeure anecdotique et de cause inconnue.

Les leucémies s'accompagnent par ailleurs du cortège des manifestations générales liées au développement des phénomènes inflammatoires chroniques des cancers : perturbation du métabolisme du fer aggravant l'anémie centrale, hypoglycémie (Raskin, 1996).

En amont de ces leucémies qui sont le stade terminal de l'évolution des syndromes myéloprolifératifs se trouvent les syndromes myélodysplasiques (MDS) qui concernent surtout la moelle osseuse hématopoïétique.

## **2. Syndromes myélodysplasiques**

Les syndromes myélodysplasiques forment un groupe hétérogène d'affections ayant pour point commun une altération de développement des cellules souches hématopoïétiques, et sont caractérisés par des anomalies qualitatives des lignées myéloïdes, une moelle riche en cellules et des cytopénies sanguines. Aucune cause métabolique, infectieuse, nutritionnelle ou toxique n'a été mise en évidence avec certitude. Ces syndromes ont été décrits chez l'homme, le chien et le chat (Weiss, 2003).

### *a) Physiopathologie*

Les syndromes myélodysplasiques, encore appelés syndromes préleucémiques, vont, dans la plupart des cas, aboutir à une réelle leucémie dans leur forme terminale. Cependant, les stades premiers des myélodysplasies sont caractérisés par des anomalies de maturation de l'ensemble des lignées myéloïdes (et non lymphoïde) consécutives à l'atteinte clonale d'une cellule souche multipotente de ces lignées. Cela explique le caractère extensif des anomalies à l'ensemble des lignées qui se multiplient et se différencient dans la moelle osseuse (schéma 2). La prolifération cellulaire ne se restreint donc pas à un stade bloqué d'une lignée sanguine. L'évolution de ces anomalies de maturation tend à un blocage s'effectuant préférentiellement au niveau d'un stade précis d'une lignée : cela sera à l'origine du développement rapide d'une leucémie myéloïde aigue terminale (Fournel-Fleury, 2006).

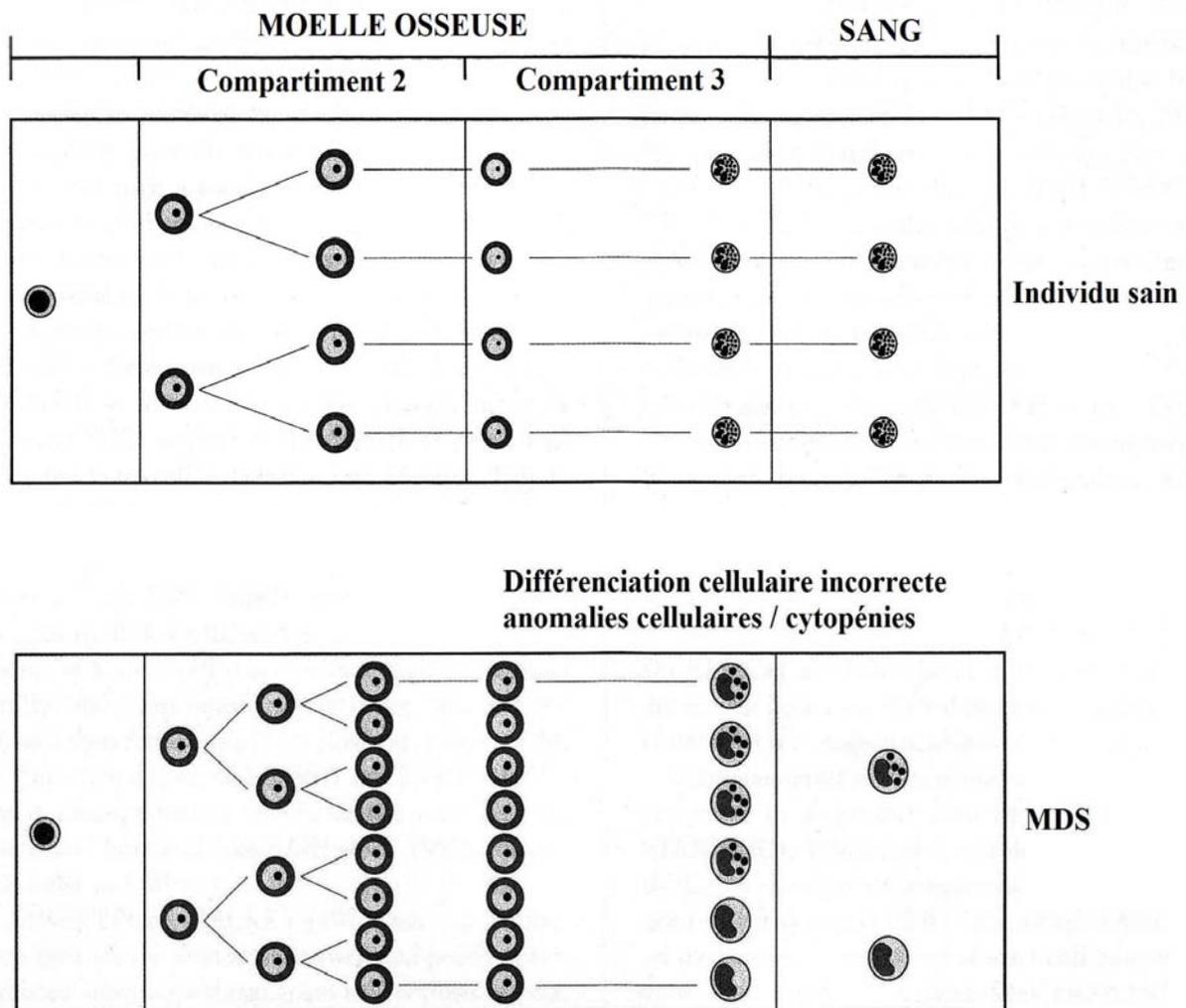
Les MDS se caractérisent par des anomalies sévères de l'hémogramme consécutives aux anomalies de maturation aboutissant à une mortalité intramédullaire importante. Par conséquent, ce phénomène sera à l'origine de cytopénies sanguines chroniques (schéma 3) s'aggravant de façon différentielle sur une lignée par rapport à une autre en fonction du stade évolutif. L'atteinte de la lignée érythrocytaire est la plus fréquente et se manifeste par une

anémie de plus en plus sévère, à caractère arégénératif ou très hyporégénératif. Le second, révélé par le frottis sanguin, est l'apparition de cellules morphologiquement anormales et/ou de cellules fonctionnellement anormales induisant des troubles divers selon la lignée touchée. On retrouve de façon constante des anomalies cytoplasmiques (granulations anormales, gigantisme), nucléaires (fragmentation, hypo- ou hypersegmentation, anomalie de forme) qui caractérisent la dysplasie médullaire (Hohenhaus, 2005). Une fibrose médullaire est également fréquente chez l'homme et le chat. Les MSD seront ainsi à l'origine d'hémorragie (lorsque cela concerne la lignée plaquettaire) et/ou d'une tendance aux infections répétées (lorsque la lignée granulocytaire est touchée). Face à l'apparition d'une anémie arégénérative, il convient d'effectuer un myélogramme qui est véritablement le support diagnostique des myélodysplasies. Le myélogramme permettra de visualiser les anomalies morphologiques, les signes de dysplasie sévère sur les lignées sanguines et il permettra de mesurer l'importance de la mortalité cellulaire spontanée (Hohenhaus, 2005).

Les conséquences de l'évolution leucémique des myélodysplasies pourront également être suivies à l'aide de myélogrammes successifs ; ils mettront alors en évidence une augmentation des blastes médullaires signant la tendance au blocage de plus en plus marqué d'une ou plusieurs lignées à un stade immature. On pourra ainsi observer une augmentation de la blastose médullaire de 5 à 20% (la blastose médullaire est inférieure à 2% chez un individu sain). Au-delà de 20% de blastes présents dans la moelle hématopoïétique, le clinicien établira le diagnostic de leucémie (Fournel-Fleury, 2006).

Le pourcentage de blastes médullaires déterminant la leucémie varie selon les sources bibliographiques ; plusieurs auteurs considèrent ainsi que le diagnostic de MDS peut encore s'appliquer en utilisant 30% comme valeur supérieure de la blastose médullaire (Raskin, 1996 ; Magnol *et al.*, 2001).

Figure 4: Pathogénie des syndromes myélodysplasiques (Breuer et Hermanns, 1998).



Les anomalies morphologiques sont également retrouvées sur le myélogramme. On parle de dysmégacaryopoïèse (micromégacaryocytes, mégacaryocytes à gros noyau non segmenté, mégacaryocytes plurinucléés, mégacaryocytes vacuolisés), de dysérythropoïèse (érythroblastes multinucléés, à noyau fragmenté, à cytoplasme feuilleté, à ponctuations basophiles) et de dysgranulopoïèse (augmentation des stades jeunes, persistance de la basophilie cytoplasmique, hypo- ou hypersegmentation nucléaire), montrant l'atteinte simultanée des trois lignées myéloïdes (Breuer et Hermanns, 1998 ; Fournel-Fleury, 2006).

Cliniquement, les signes d'appel des MDS seront les conséquences organiques des anomalies des lignées touchées. Chez le chien, une asthénie, une anémie, des saignements fréquents, des infections récurrentes, une hyperthermie et une splénomégalie (lorsque la maladie évolue depuis plusieurs mois) seront en faveur d'un MDS (Magnol *et al.*, 2001). Les

MDS peuvent également ne présenter aucun symptôme ; le diagnostic se fera grâce aux informations fournies par l'héмограмme (Fournel-Fleury *et al.*, 1992).

### *b) Classification des syndromes myélodysplasiques*

La classification des MDS en médecine humaine s'appuie sur des caractéristiques morphologiques et quantitatives des cellules sanguines, de la moelle osseuse, et distingue cinq sous-types :

- l'anémie réfractaire (historiquement réfractaire aux traitements vitaminiques) ;
- l'anémie réfractaire accompagnée de sidérobastes en forme d'anneau (érythroblastes riches en sidérosomes, granulations cytoplasmiques contenant du fer et colorés en bleu-vert à la coloration de Perls) ;
- l'anémie réfractaire accompagnée d'un excès de blastes ;
- l'anémie réfractaire accompagnée d'un excès de blastes en cours de maturation ;
- la leucémie myélomonocytaire chronique (Raskin, 1996).

Les trois derniers sous-types sont souvent regroupés en raison de leur forte propension à évoluer en leucémie myéloïde aigue. Le groupe des leucémies myélomonocytaires chroniques est de très mauvais pronostic (en raison de la faible espérance de vie des patients ayant contracté cette maladie) et souvent classé (en médecine humaine et vétérinaire) parmi les leucémies myéloïdes chroniques. En médecine vétérinaire, l'utilisation des mêmes outils de classification a permis d'isoler des cas de MDS similaires à trois des cinq sous-types précédemment cités : l'anémie réfractaire, l'anémie réfractaire accompagnée d'un excès de blastes, et l'anémie réfractaire accompagnée d'un excès de blastes en cours de maturation. Une classification vétérinaire précise des MDS reste à établir afin d'évaluer cliniquement les différents cas et d'en déterminer un pronostic. On parvient cependant à isoler les MDS érythroïdes des autres sous-types. Une étude concernant 181 cas de troubles myéloprolifératifs félines montre que le MDS érythroïde (MDS-Er) fut démontré dans 3,9% des cas étudiés. Les données de blastose médullaires s'échelonnaient entre 2% et 12,5% avec une valeur moyenne égale à 5,4%. En outre, la part de cellules érythroïdes de la moelle osseuse était supérieure à 50%, ce qui différencie les MDS-Er des autres MDS. Le deuxième sous-type de MDS isolé à la faveur de cette étude est le MDS-RC (Myelodysplastic Syndrome-Refractory Cytopenia subtype) dont le MDS à anémie réfractaire est l'équivalent humain. Une étude montre que sur 21 chats atteints de MDS-RC, seulement trois d'entre eux (soit 14%) avaient un pourcentage de blastes médullaires inférieur à 5% (Raskin, 1996). Cette

catégorie de MDS est cependant assez large pour recouvrir certains cas de thrombocytopénies réfractaires caractérisés par une dysmégacaryopoïèse et une hyperplasie mégacaryocytaire mais n'étant pas accompagnés d'une hyperblastose médullaire. Enfin, les MDS-EB (Myelodysplastic Syndrome-Excess Blasts) constituent la troisième catégorie. En médecine humaine, l'équivalent de ce syndrome est de très mauvais pronostic car entre 40 et 60% des patients déclarent une leucémie myéloïde aigue par la suite. La blastose médullaire varie de 5 à 30%. Ce sous-type recouvre également les leucémies myéloïdes aleucémiques ou subaigues ayant une dysplasie médullaire ainsi qu'une blastose médullaire inférieures à 30% (Raskin, 1996).

La classification des MSD en médecine vétérinaire ainsi que le pronostic associé s'appuient généralement sur la classification FAB (French-American-British) utilisée en médecine humaine ; les sous-types présentant un taux de blastes médullaires élevé sont de mauvais pronostic et évoluent souvent en leucémie. Cependant, ce système ne prend pas en compte les anomalies du caryotype ni les mutations génétiques souvent associées aux syndromes myélodysplasiques et qui influencent le pronostic (Hohenhaus, 2005).

Chez l'homme, l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) a récemment modifié la classification FAB ; les anémies réfractaires avec un excès de blastes ont été subdivisées en deux groupes selon la valeur de la blastose médullaire. Le premier groupe comporte celles ayant une blastose comprises entre 5 et 10%, le second groupe concerne celles ayant une blastose comprise entre 10 et 20%. En outre, les leucémies myélomonocytaires chroniques ne sont plus incluses au sein de cette nouvelle classification. Cette nouvelle dichotomie tend à améliorer l'appréciation du pronostic en médecine humaine. Cet avantage n'a pas encore été évalué en médecine vétérinaire (Weiss, 2003).

Tableau 1: Comparaison des classifications des syndromes myélodysplasiques chez l'homme et chez les carnivores domestiques d'après les données cytologiques (Hohenhaus, 2005).

<b>Données cytologiques</b>	<b>Classification FAB</b>	<b>Classification vétérinaire</b>
Blastose médullaire < 5%	Anémie réfractaire	MDS-Er Pourcentage médullaire érythroïde > 50%
Blastose médullaire < 5% associée à la présence de sidéroblastes	Anémie réfractaire présentant des sidéroblastes à anneaux	MDS-RC Pourcentage médullaire érythroïde < 50%
Blastose médullaire comprise entre 5 et 20%	Anémie réfractaire avec un excès de blastes	MDS-EB Pourcentage médullaire érythroïde < 50%
Blastose médullaire comprise entre 20 et 30% Blastose périphérique > 5%	Anémie réfractaire avec un excès de blastes en cours de différenciation	MDS-EB Pourcentage médullaire érythroïde < 50%
Blastose médullaire comprise entre 5 et 30% Monocytose > 10 <sup>6</sup> cellules/ml	Leucémie myélomonocytaire chronique	Leucémie myélomonocytaire chronique

Bien que l'étiologie des MDS soit encore mal connue, on a mis en évidence l'existence de facteurs prédisposants chez l'homme : la fumée de cigarette, le benzène, la radiothérapie, des traitements à base d'agents alkylants (cyclophosphamide, chlorambucil). Des anomalies de caryotypes et des mutations génétiques ont été associées à la présence de syndromes myélodysplasiques chez l'homme. La région la plus souvent atteinte est celle présente sur le bras long du cinquième chromosome. Des gènes impliqués dans l'hématopoïèse ont été localisés dans cette région et incluent les séquences codant pour le M-CSF, le GM-CSF, l'IL-4 et les récepteurs au facteur de croissance plaquettaire. Ces mutations ont été retrouvées chez 10 à 25% des patients atteints. Chez le chat, le virus leucémogène félin est prédisposant et près de 80% des chats ayant un MDS sont porteurs du virus (Hohenhaus, 2005). La fréquence d'apparition des MDS n'est pas la même dans l'espèce féline et canine ; en effet, les chats sont seize fois plus touchés par ce syndrome (Fournel-Fleury, 2006).

Une autre étude menée sur trois ans par le service de cytologie de l'université vétérinaire du Minnesota consista à analyser la moelle osseuse de patients (félins) afin d'évaluer la présence de myélodysplasies et de les caractériser. Cette étude admettait la subdivision des MDS en deux catégories : les MDS primaires (résultant d'une probable altération génétique des cellules souches hématopoïétiques) et les MDS secondaires (fréquemment associées à une composante iatrogène). Sur 220 moelles observées, 30 contenaient des cas de dysplasies. Parmi ces dysplasies, 27 furent suivies ; douze furent caractérisées de MDS primaires et quinze de MDS secondaires. Parmi les syndromes myélodysplasiques primaires, quatre furent classés dans la sous catégorie des anémies réfractaires, et huit dans celles des myélodysplasies au sens stricte. Le suivi de ces animaux révèle que les cas d'anémie réfractaire furent caractérisés par une anémie non régénérative non accompagnée d'une leucopénie ni d'une thrombopénie, et ayant une espérance de vie prolongée (supérieure à 6 mois). Les cas de myélodysplasie primaire furent caractérisés par une pancytopénie (réduction globale du contingent plaquettaire, érythrocytaire et granulocytaire), une blastose médullaire supérieure à 5%, des éléments de dysplasie de toutes les lignées sanguines, et associés à une espérance de vie très courte (14 jours en moyenne). La distinction entre anémie réfractaire primaire et myélodysplasie primaire revêt ainsi un intérêt thérapeutique mais également pronostique (Breuer, Hermanns et al. 1999). Les traitements mis en place lors d'anémie réfractaire permettent d'allonger de façon significative l'espérance de vie ; les chiens ayant reçu un traitement à base d'érythropoïétine et de prednisolone, et pour lesquels un suivi a été effectué, ont survécu au minimum 6 mois. En revanche, les myélodysplasies primaires possèdent une évolution nettement plus sombre en raison de leur tendance à évoluer vers la leucémie myéloïde aigue (Breuer, *et al.*, 1999).

Chez le chien, les syndromes myélodysplasiques secondaires ont été associés à des cas de lymphomes, de myélofibroses, de thrombocytopénie à médiation immune, d'anémie hémolytique à médiation immune. Les MDS ont également été décrits chez des chiens exposés à des radiations ionisantes (Weiss, 2003).

Actuellement, l'utilité de classer les MDS secondaires de la même façon que les MDS primaires n'a pas été démontrée. Tous les cas de MDS secondaires rapportés montrent une blastose médullaire inférieure à 5%. Les syndromes primaires et secondaires ne peuvent pas être différenciés par une analyse cytologique seule ; les causes de MDS secondaires sont donc à rechercher. Le diagnostic de myélodysplasie primaire pourra être prononcé seulement si les hypothèses néoplasiques, virales, iatrogènes et d'intoxication ont été écartées (Weiss, 2003).

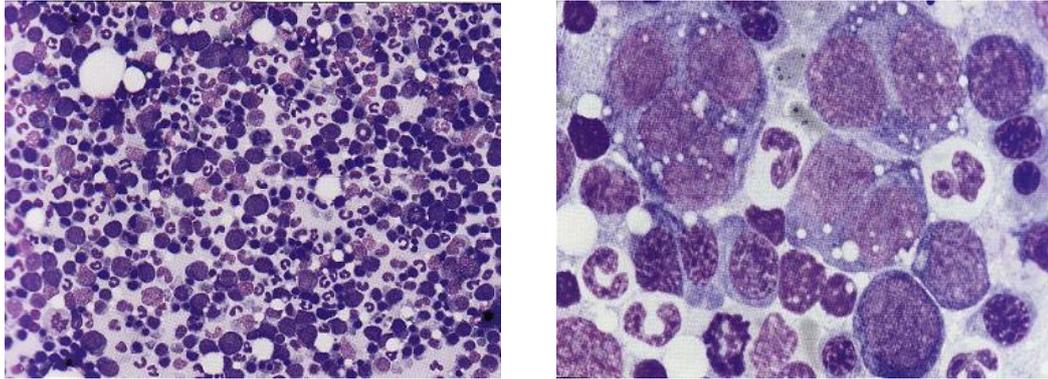
L'analyse d'un myélogramme effectué chez un chat atteint d'un syndrome myélodysplasique révèle un faible taux de blastes médullaires, une désorganisation de l'hématopoïèse notamment de la lignée mégacaryocytaire (ce qui correspond aux critères diagnostiques des MDS chez l'homme). Comme chez le chien, les MDS félines sont subdivisés en deux formes (primaire et secondaire) selon leur étiologie (cause inexpliquée pour les MDS primaires ou résultant de l'action d'agents exogènes pour des MDS secondaires). Chez un chat atteint d'un MDS, une étude allemande (Breuer *et al.*, 1999) a mis en évidence la présence de particules virales (spécifique d'un rétrovirus de type C) au sein de la moelle osseuse hématopoïétique parallèlement à un test ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) positif pour le virus leucémogène félin, ce qui suggérerait que FeLV (Feline Leukemia Virus) est l'agent responsable. Quant au FIV (Feline Immunodeficiency Virus), aucune particule virale correspondant à ce virus n'a été découverte chez les chats atteints de MDS, cependant, cette hypothèse ne doit pas être écartée car des troubles non spécifiques de la moelle osseuse ont été retrouvés chez des chats atteints du FIV. Il faut préciser que le terme MDS ne s'appuyait pas sur des descriptions histopathologiques précises dans ce cas. En médecine humaine, aucune cause virale n'a été démontrée dans le cas des syndromes myélodysplasiques (Breuer, *et al.*, 1999 ; Weiss et Smith, 2000).

### *c) Diagnostic différentiel*

Le diagnostic différentiel des myélodysplasies fait intervenir les anémies centrales à médiation immunes qui sont beaucoup plus fréquentes. Leur étiologie est assez floue, on peut suspecter néanmoins une cause infectieuse sous-jacente (leishmaniose, ehrlichiose) provoquant secondairement une réaction à médiation immune. L'épidémiologie (affection fréquente) et le contexte infectieux de ces anémies (notamment la présence concomitante d'une hyperthermie) permettent d'écarter l'hypothèse d'une cause auto-immune (Fournel-Fleury, 2006). Chez l'homme, le parvovirus B19 a été identifié comme une cause d'anémie centrale à médiation immune (McManus, 2005). A l'hémogramme, on observe une anémie chronique avec des poussées évolutives (crises d'hémolyse transitoires), cette anémie pouvant être arégénérative et sévère, ou présenter une réticulocytose faible, fluctuante, traduisant une forte irrégularité de l'érythropoïèse. Au niveau médullaire, on observe de façon inconstante une hyperplasie érythroïde, une hypoplasie érythroïde ou une érythroblastopénie selon le niveau d'attaque des anticorps sur la lignée érythroïde. Lors d'hyperplasie érythroïde, la destruction apparaît sur les stades matures. Les stades jeunes de la lignée sont alors très

majoritaires et présentent des anomalies morphologiques (encore appelées dysérythropoïèse) très semblables à celles observées lors des MDS. On retrouve ainsi des anomalies cytoplasmiques, nucléaires et une mort intra-médullaire importante de la lignée érythroïde à différents stades de maturation.

Figure 5: Myélogrammes retrouvés lors de MDS (coloration MGG, objectif 25 et 100) (Magnol *et al.*, 2001).



La figure de gauche (objectif 25) illustre la richesse médullaire et l'importance du contingent de blastes, face aux cytopénies sanguines, et en particulier à l'anémie arégénérative sévère, signalées par l'hémogramme. La figure de droite (objectif 100) montre l'importance des blastes érythroïdes associés à la présence de cellules plurinucléées qui interrogent sur leur origine mégacaryocytaire ou érythroïde atypique.

La distinction entre ces deux syndromes se fera d'une part grâce à la réalisation d'un test de Coombs et d'autre part par la recherche de signes indirects de la maladie sous-jacente. Le test de Coombs direct est très souvent positif lors d'anémies centrales à médiation immune, notamment lorsque ce test est réalisé à froid. La recherche de signes d'infections sous-jacentes passe par la reconnaissance sur le myélogramme d'une lymphocytose à grands lymphocytes granuleux et d'une monocytose dans le cas d'une ehrlichiose, et d'une plasmocytose accompagnée de granulomes histiocytaires à macrophages épithélioïdes dans le cas d'une leishmaniose. Ces différences sont difficilement discernables et nécessitent l'expérience d'un hématologiste avisé (Fournel-Fleury, 2006).

D'autres pathologies doivent également être envisagées lors du diagnostic différentiel : la leucémie aigue, la dysérythropoïèse congénitale, une déficience en vitamine B<sub>12</sub>, en acide folique, une intoxication au plomb ou un traitement à base de vincristine (Hohenhaus 2005). La distinction se fera sur la base des commémoratifs et d'autres signes cliniques caractéristiques de chacune de ces affections : troubles nerveux et digestifs pour l'intoxication au plomb, signes digestifs pour la déficience en acide folique. Le dosage de l'acide folique et

de la vitamine B<sub>12</sub> permettra aussi d'exclure ces causes (Hohenhaus 2005). De surcroît, une réponse positive à un traitement donné (supplémentation en cobalamine, par exemple) permet d'exclure l'hypothèse envisagée. Enfin, une cause congénitale a été mise en évidence chez le caniche nain (Feldman *et al.*, 2000).

#### *d) Pronostic*

Le pronostic varie considérablement selon le type de MDS. L'influence de la blastose médullaire a ainsi une importance non négligeable ; les patients ayant un faible taux de myéloblastes médullaires ont ainsi de meilleures chances de survie. Les chiens souffrant de MDS-RC ou de MDS-Er peuvent survivre plusieurs mois voire quelques années alors que ceux souffrant de MDS-EB ne survivent en général que quelques semaines. Chez le chat, l'anémie réfractaire est de meilleur pronostic (avec une médiane de survie de 5±25 mois) que les autres types de MDS (médiane de survie de 2±2 mois) (Weiss, 2003).

Chez le chien, le traitement a une réelle influence sur l'espérance de vie s'il est pratiqué de façon agressive; c'est particulièrement vrai pour les MDS-RC et les MDS-Er (Hohenhaus, 2005).

#### *e) Traitements*

##### (1) Transfusion sanguine

Elle est souvent nécessaire en raison de l'anémie engendrée par la myélodysplasie. La transfusion d'hématies est réservée aux animaux présentant une anémie asymptomatique. La transfusion de plaquettes ou de granulocytes n'est pas réalisable.

## (2) Facteurs de croissance de l'hématopoïèse

Ils agissent sur tous les stades cellulaires de l'hématopoïèse mais leur efficacité thérapeutique sur les MDS n'a pas été pleinement objectivée. Les facteurs de croissances disponibles sont le G-CSF ("G" désignant le lignée granulocytaire), l'érythropoïétine et le GM-CSF. L'EPO féline, canine et le G-CSF ont pu être synthétisés mais ne sont pas encore commercialisés. Cependant, l'EPO humaine a été utilisée avec succès dans le cas de MDS érythroïde chez le chien (Hohenhaus, 2005). En effet, trois chiens traités par de l'EPO humaine, à raison de 50 à 2000 unités/kg administrée trois fois par semaine, ont montré une augmentation de la valeur des hématocrites et une survie prolongée. Bien que le nombre de cas soit faible, l'efficacité de l'utilisation de l'EPO est clairement démontrée. Pour les cas de MDS-EB, l'EPO améliore la cytopénie sanguine mais n'allonge pas l'espérance de vie (Weiss, 2003).

## (3) Stéroïdes

Les glucocorticoïdes et les hormones stéroïdes anabolisantes ont été décrits dans des protocoles de traitement des syndromes myélodysplasiques. En médecine humaine, les glucocorticoïdes ne sont pas utilisés tant que l'étiologie de la maladie n'a pas été identifiée comme étant à médiation immune. L'utilisation du danazol (antigonadotrope, néanmoins utilisé dans des cas de MDS) chez l'homme a montré une amélioration de 50% de l'anémie et de la thrombopénie ; ces patients avaient une anémie à médiation immune [8, 9].

## (4) Agents immunosuppresseurs

Différents types d'agents immunosuppresseurs ont été utilisés en médecine vétérinaire. L'utilisation d'azathioprine et de cyclosporine n'a pas montré d'effet convaincant sur les MDS (Weiss, 2003).

## (5) Associations d'agents chimiothérapeutiques

La cytosine arabinoside (ou cytarabine), utilisée à dose faible et constante, était connue pour induire une différenciation des cellules appartenant aux lignées touchées par la dysplasie. Cette caractéristique n'est désormais plus d'actualité en médecine humaine. L'utilisation combinée de plusieurs molécules chimiothérapeutiques a été effectuée chez des patients ayant une myélodysplasie à haut risque d'évoluer vers une leucémie myéloïde aigue. L'utilisation d'anthracyclines chez des patients atteints de MDS a prouvé leur efficacité dans le

rétablissement d'une hématopoïèse normale, mais ne confère aucune amélioration de l'espérance de vie [9]. Dans deux cas de MDS canins, l'association d'une transfusion sanguine et d'une chimiothérapie (à base de cyclophosphamide ou de cytarabine) a provoqué une amélioration objectivée par une remontée de l'hématocrite et par une survie supérieure à un an et demi (Weiss, 2003). Chez le chat, on utilise surtout la prednisolone, la cytarabine, la cyclosporine A, la daunorubicine (appartenant à la classe des anthracyclines) et la vincristine (agent antiméiotique largement utilisée dans le traitement des lymphomes) (Weiss, 2003).

#### (6) Immunothérapie

L'utilisation de l'interféron alpha chez des chats FeLV positifs montre une réduction significative de l'apparition de complications dont l'issue est souvent fatale pour l'animal. L'interféron oméga est également préconisé lors des phases symptomatiques chez les chats infectés par le virus leucémogène félin (Weiss, 2003).

#### (7) Transplantation de moelle osseuse

Lorsque le protocole de transplantation est correctement réalisé, il s'agit du seul traitement curatif des myélodysplasies en médecine humaine. Sa pratique, réservée aux personnes âgées de moins de 65-70 ans, est malheureusement limitée. En effet, la greffe de moelle osseuse est réservée aux patients souffrant d'une leucémie aiguë lymphoïde ou myéloïde, et se trouvant en situation d'échec thérapeutique. De surcroît, cela implique la réalisation d'un protocole de conditionnement (c'est-à-dire la préparation du patient pour la greffe de cellules souches hématopoïétiques) qui est myélo-ablatif et vise à éliminer les cellules malignes résiduelles afin d'optimiser la réussite de la greffe. Un traitement immunosuppresseur agressif est également mis en place lors d'allogreffes. Ce conditionnement aboutissant à la destruction quasi-totale de la moelle osseuse est donc très fragilisant et présente des risques de toxicité (cardiaque, rénale, pulmonaire, cutanée). La chimiothérapie conditionnant la greffe est également accompagnée d'une irradiation corporelle totale très délétère : stérilité définitive, endocrinopathies, cataractes et fibrose pulmonaire (lors d'irradiation forte) chez l'adulte, retard du développement mental et troubles de croissance chez l'enfant. A la suite de l'opération de greffe, le sujet est placé dans un environnement le plus stérile possible (pour une durée de 3-4 semaines jusqu'à 6 mois) et suit un traitement immunosuppresseur lourd afin de minimiser les conséquences de la réaction de

Graft versus Host (GVH), encore appelée maladie du greffon contre l'hôte. En médecine vétérinaire, la transplantation de moelle osseuse demeure expérimentale (Hohenhaus, 2005).

Le traitement des MDS-EB est avant tout palliatif ; l'administration d'antibiotiques à large spectre est conseillée dans les cas de neutropénie sévère, d'hyperthermie ou de septicémie (Weiss, 2003).

Les MDS sont donc des maladies à part entière, caractérisés par une moelle riche, envahies par des cellules morphologiquement anormales bloquées à des stades variables de leur maturation, et par une pancytopenie périphérique. Ils sont bien connus chez l'homme chez qui ils constituent souvent des états préliminaires à l'apparition de véritables leucémies aiguës, ce qui explique leur dénomination de "syndromes préleucémiques". Cependant, ils ne sont pas obligatoirement une étape dans le processus d'évolution leucémique. En effet, les leucémies aiguës peuvent survenir sans dysplasie hématopoïétique.

Les leucémies sont, comme les MDS, caractérisées par une prolifération cellulaire primitive dans la moelle osseuse hématopoïétique, mais aboutissement plus ou moins rapidement à un envahissement du compartiment sanguin.

La classification de référence en médecine vétérinaire correspond à la classification FAB (s'appuyant avant tout sur critères cytologiques) établie en médecine humaine, cette dernière ayant été remaniée en 2001 par l'Organisation Mondiale de la Santé. Cette nouvelle référence se base sur des observations cliniques (notamment les réponses aux traitements), sur l'immunophénotypage des cellules prolifératives et fait appel aux marqueurs immunocytochimiques et immunohistochimiques caractérisant ces cellules (McManus, 2005).

### ***C. Classification des leucémies***

La classification des leucémies trouve son origine dans l'organisation du tissu hématolymphopoïétique. Ce tissu s'articule entre plusieurs compartiments dont la moelle osseuse hématopoïétique qui occupe une position centrale dans la production et la distribution (via le sang) des cellules qu'elle produit. Les leucémies vont intéresser dans un premier temps les deux compartiments que sont la moelle osseuse et le sang, avant d'être multicentriques et ainsi envahir les organes périphériques comme le foie, la rate et les nœuds lymphatiques.

## 1. Outils de classification

Une grande variété d'outils diagnostiques tels que la microscopie photonique et électronique, les marquages cytochimiques, les analyses cytogénétiques, les analyses moléculaires ou encore l'immunophénotypage sont utilisés en médecine humaine pour classer les leucémies et ainsi déterminer un pronostic et mettre en place un protocole thérapeutique. L'immunophénotypage utilisant la technique d'analyse par cytométrie en flux a été utilisée en médecine vétérinaire pour faire la distinction entre des syndromes leucémiques lymphoïdes et myéloïdes chez le chat (Raskin, 1996). Cependant, malgré de nombreux essais d'application des techniques humaines aux carnivores domestiques, les outils de classification des leucémies en médecine vétérinaires restent l'analyse cytomorphologique médullaire et/ou sanguine, et les réactions de marquages immunocytochimiques (Raskin, 1996).

La classification selon le mode évolutif est la plus importante car elle explique l'évolution et l'expression clinique, ainsi que les moyens diagnostiques hématologiques de ces affections. Cette classification oppose les leucémies aiguës aux leucémies chroniques, et est complétée par la classification distinguant la lignée myéloïde de la lignée lymphoïde (Evans et Gorman, 1987 ; Fournel-Fleury *et al.*, 1992).

## 2. Classification des leucémies aiguës

Les leucémies aiguës (LA) résultent de la prolifération de cellules hématopoïétiques très immatures qualifiées de blastes et caractérisées par un fort pouvoir prolifératif. Par conséquent, ce type de leucémie connaîtra une évolution très rapide ; environ un mois en l'absence de traitement (Fournel-Fleury *et al.*, 1992).

Le stade cellulaire touché par la prolifération dans le cas des leucémies aiguës est physiologiquement très minoritaire au sein de la moelle osseuse hématopoïétique (du fait de la pyramide de maturation) et toujours absent du compartiment circulant (ces cellules n'ayant ni la vocation ni les récepteurs de surface adéquats pour gagner le sang). Ces blastes sont à l'origine d'un envahissement rapide de la moelle osseuse et d'un "étouffement" des autres lignées sanguines non concernées par la prolifération. La conséquence de cette incidence sur les autres lignées est une cytopénie sévère retrouvée de façon constante dans les leucémies aiguës. La deuxième conséquence est l'apparition d'une blastose sanguine faisant suite au passage des blastes de la lignée proliférante de la moelle vers le sang. Cependant, dans certains cas, la blastose sanguine n'est pas observée si les blastes ne possèdent pas les

récepteurs leur permettant de gagner le sang ; l'hémogramme de ces leucémies aiguës n'est alors caractérisé que par des cytopénies isolées. La moelle osseuse est caractérisée par une blastose élevée qui s'installe rapidement (Evans et Gorman, 1987). Le diagnostic de leucémie aiguë est posé dès lors que la blastose médullaire dépasse 30% du comptage total du myélogramme. Parallèlement à cette prolifération des blastes, on constate une insuffisance médullaire sur les autres lignées d'autant plus accentuée que la leucémie évolue dans le temps (Evans et Gorman, 1987).

Au-delà de l'établissement du diagnostic de leucémie aiguë, qui est l'étape la plus importante du diagnostic hématologique, il y a un intérêt au typage de la leucémie aiguë. La première dichotomie au sein de ce typage consiste à séparer les leucémies aiguës lymphoïdes (LAL) des leucémies aiguës myéloïdes (LAM). Cette première distinction est fondamentale car ces deux types de leucémie ne présentent pas le même pronostic à court et moyen terme et ne bénéficient pas du même protocole thérapeutique. En effet, le traitement des LAL existe et est très semblable à celui des lymphomes malins. En revanche, aucun traitement n'a prouvé son efficacité contre les LAM, celles-ci étant ainsi d'un pronostic beaucoup plus sombre (MacEwen et Hess, 1977).

Le diagnostic différentiel entre ces deux formes de leucémies aiguës est d'abord morphologique et s'effectue d'après les données cytologiques relatives à chacune des deux maladies. Ceci est possible si certaines cellules concernées par le processus tumoral ont gardé la capacité de se différencier vers des stades ultérieurs, permettant à l'hématologue de reconnaître la lignée où siège la prolifération. En revanche, lorsque les blastes sont trop indifférenciés, on a recours à des techniques d'immunocyto-marquage pour la lignée lymphoïde permettant de mettre en évidence la présence de récepteurs de surface des cellules B ou des cellules T. Le recours à des techniques d'immuno-cytochimie et de cyto-enzymologie permettra, par le biais de la révélation d'enzymes spécifiques, de reconnaître une leucémie myéloïde et parfois la lignée concernée par la prolifération (Fournel-Fleury *et al.*, 1992).

#### *a) Leucémies aiguës lymphoblastiques*

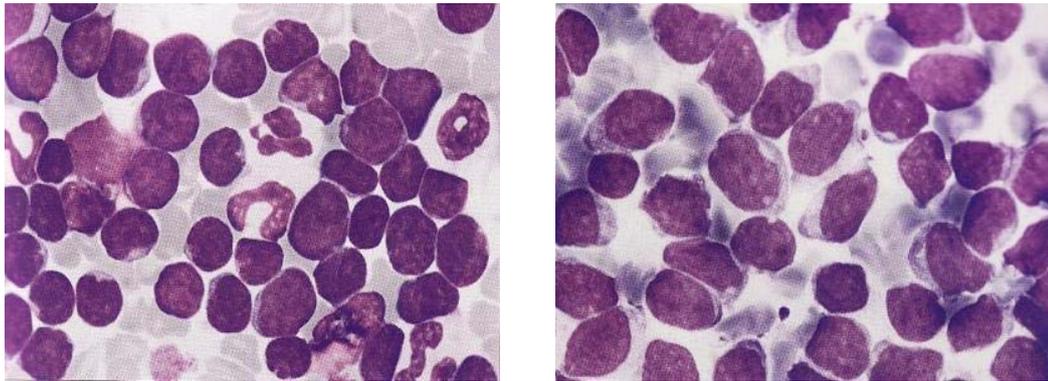
Les leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) se définissent comme une infiltration maligne de la moelle osseuse et des organes lymphoïdes par des blastes lymphoïdes peu différenciés (Fournel-Fleury *et al.*, 1992). Elles représentent 5 à 10% des hémopathies malignes du chien (MacEwen et Hess, 1977). Comme la plupart des LA, elles prédominent

chez les sujets d'âge moyen (5-6 ans), de grande race avec une fréquence particulière chez le Berger Allemand (27% des cas) (Matus, *et al.*, 1983).

Les LAL peuvent être classées, suivant les recommandations du groupe FAB, en trois types, LAL-1, LAL-2, LAL-3, en fonction des critères morphologiques des blastes :

- Les LAL-1 sont caractérisées par des petites cellules à noyau régulier et nucléole peu visible (Leifer et Matus., 1985).
- Les LAL-2, plus fréquentes chez le chien (Leifer et Matus, 1985), se caractérisent par des blastes de plus grande taille, à noyau irrégulier, nettement nucléolé.
- Les LAL-3, correspondant aux cellules de type Burkitt de l'homme, n'ont fait l'objet d'aucune description chez le chien (Fournel-Fleury *et al.*, 1992).

Figure 6: Myélogramme de leucémies aiguës lymphoblastiques 1 et 2 (coloration MGG, objectif 100) (Magnol *et al.*, 2001).



La figure de gauche montre un myélogramme de LAL-1, on y retrouve de petits blastes lymphoïdes difficiles à distinguer de petits lymphocytes. Sur la figure de droite, on retrouve les caractéristiques de la LAL-2, avec de grandes cellules blastiques à noyaux irréguliers et nucléolés, sans granulation cytoplasmique visible.

Tableau 2: Caractéristiques cytologiques des LAL, classifications FAB (Fournel-Fleury *et al.*, 1992).

<b>Caractéristiques morphologiques</b>	<b>LAL-1</b>	<b>LAL-2</b>	<b>LAL-3</b>
<b>Taille cellulaire</b>	petite	grande et variable	grande et homogène
<b>Chromatine nucléaire</b>	homogène, finement condensée parfois mottée	hétérogène	homogène, finement mottée
<b>Forme nucléaire</b>	régulière, rares indentations	irrégulière, indentée	régulière, ronde à ovale
<b>Nucléole</b>	peu visible	un ou plusieurs, volumineux	un ou plusieurs, très visibles
<b>Quantité de cytoplasme</b>	faible	variable, parfois assez abondant	moyenne
<b>Basophilie du cytoplasme</b>	faible	marquée	très intense
<b>Vacuoles cytoplasmiques</b>	variable	variable	souvent nombreuses

Cette classification, utilisée il a encore quelques années en médecine humaine et retrouvée dans certaines publications vétérinaires (Fournel-Fleury *et al.*, 1992), n'a en réalité jamais été adoptée par les pathologistes vétérinaires (McManus, 2005).

Les LAL ne doivent pas être confondues avec l'infiltration leucémique secondaire à un lymphome malin multicentrique. Dans les LAL, la rapidité d'évolution, l'infiltration prépondérante du foie et de la rate antérieure à l'adénopathie, la sévérité de la prolifération médullaire responsable d'emblée d'insuffisance de l'hématopoïèse permettent en général le diagnostic différentiel.

### *b) Leucémies aiguës myéloïdes*

Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) sont des hémopathies malignes de la moelle osseuse comportant plus de 30% de blastes myéloïdes au vue du myélogramme (Fournel-Fleury *et al.*, 1992). Cette définition quantitative permet de faire la distinction entre LAM et états myélodysplasiques dans lesquels le contingent de blastes est inférieur à 30% (Bennett *et al.*, 1976; Bennett *et al.*, 1982). Le terme de blastes myéloïdes fait référence aux précurseurs de l'ensemble des cellules myéloïdes, granulocytaires, monocytaires ou mégacaryocytaires. Selon le type de blastes présents et le contingent cellulaire associé, granulocyttaire, monocyttaire ou érythrocytaire, on distingue sept types de LAM. L'identification de ces différentes LAM s'appuie sur les critères cytologiques des cellules malignes de la moelle et du sang, et sur leurs caractéristiques enzymatiques.

Il convient de rappeler quelques précisions terminologiques à ce stade de la classification. Le terme de maturation décrit des changements morphologiques associés au développement des fonctions cellulaires, la notion de différenciation, quant à elle, fait référence à l'engagement d'une cellule dans une lignée cellulaire. Ainsi, une LAI concerne des cellules non engagées dans une lignée cellulaire. Dans le cas d'une LAM-M0, les cellules sont engagées dans une lignée mais n'ont pas encore subie une maturation permettant de les distinguer morphologiquement ; le recours à l'immunophénotypage ou à la microscopie électronique est nécessaire. Enfin, dans le cas de LAM-M1, les cellules sont complètement engagées dans la lignée granulocyttaire, la cellule reste morphologiquement immature et son phénotype est identifiable par l'utilisation de marquage cytochimiques conventionnels [14].

L'ALSG (Animal Leukemia Group Study), la WHO et le FAB-NCI ont précisé que le terme de leucémie aigue myéloïde (et non myéloblastique) recouvrait toutes les leucémies

aiguës ayant différents phénotypes morphologiques (cela comprend les lignées granulocytaire, monocytaire, érythrocytaire, monocytaire et mégacaryocytaire). D'autre part, les terminologies d'autres noms de leucémies sont informatives quant au phénotype précis des cellules néoplasiques ; par exemple, les leucémies aiguës myéloblastiques font référence à la lignée granulocytaire et se divisent en M0, M1 et M2, c'est-à-dire leucémies myéloblastiques sans différenciation minimale, leucémies myéloblastiques sans maturation et leucémies myéloblastiques avec maturation [14].

(1) Leucémie aiguë indifférenciée : LAI

Cette catégorie de leucémie concerne des cellules ne pouvant pas être reconnues d'après des critères morphologiques, et n'ayant pas de marqueurs (ni cytochimique ni immunologique) caractéristiques d'aucune des lignées connues. Ces cellules présentent un noyau excentré, un nucléole distinct, quelques granulations cytoplasmiques azurophiles, un cytoplasme modérément basophile et parfois des pseudopodes (Feldman *et al.*, 2000).

(2) Leucémie aiguë myéloïde sans maturation : LAM-M0

Dans ce cas, ce sont des myéloblastes (donc cellules appartenant à la lignée myéloïde) qui prolifèrent. Ces cellules n'étant pas différenciables morphologiquement, c'est la présence d'antigènes caractéristiques de la lignée myéloïde qui atteste de leur spécificité. Par ailleurs, l'immunophénotypage permet d'écarter toute appartenance à la lignée lymphoïde (Feldman *et al.*, 2000).

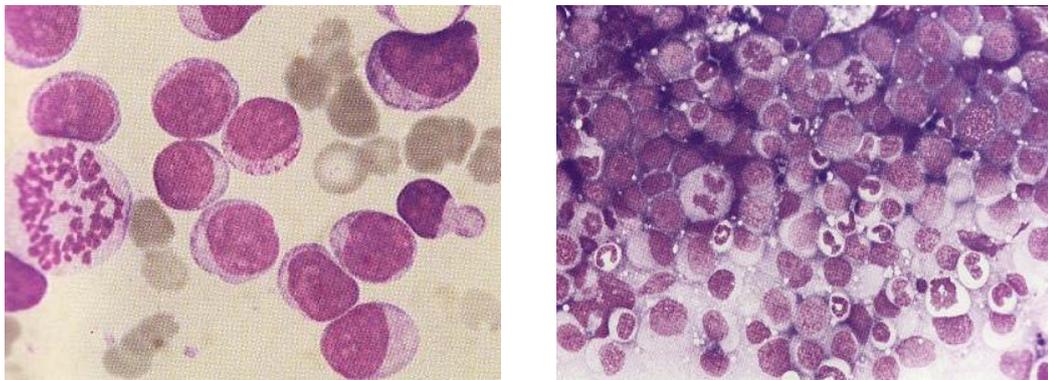
(3) Leucémies aiguës granulocytaires : LAM-M1, LAM-M2 et LAM-M3

On distingue la LAM-M1, myéloblastique avec maturation granuleuse minimale ; la LAM-M2, myéloblastique avec maturation granuleuse ; la LAM-M3, promyélocytaire (cellules caractérisées par une chromatine mottée, des granules azurophiles plus nombreux par rapport aux myéloblastes et un ratio nucléo-cytoplasmique plus bas que les myéloblastes). Chez le chien, on rencontre essentiellement les sous-types M1 et M2 (Couto, 1985 ; Keller *et al.*, 1985). Le sous-type M2 peut être subdivisé en M2B et M2E en fonction de la maturation basophile ou éosinophile des blastes. En médecine humaine, la maturation basophile des blastes a été observée dans des cas de LAM-M3 et de LAM-M2B ; cette maturation est associée à une translocation génétique entre les chromosomes 6 et 9 observée dans les cellules

tumorales. Au début des années 90, deux nouveaux sous-types furent proposés afin de distinguer les différenciations éosinophile et basophile, de la même façon que les LAM mégacaryoblastiques (LAM-M7). Il fut convenu que la désignation M2B serait réservée aux cas de M2 à différenciation neutrophilique associé à une nette augmentation des blastes basophiles. Cependant, dans le cas de prolifération de blastes basophiles, il n'est pas certain que la composante basophile soit la conséquence d'une prolifération clonale tumorale de la lignée basophile ou d'une prolifération néoplasique neutrophile associée à une prolifération basophile concomitante (Bounous *et al.*, 1994).

Le diagnostic repose sur le myélogramme par mise en évidence d'un contingent de blastes nettement nucléolés supérieur à 30%, à cytoplasme basophile plus ou moins chargé de granulations azurophiles évoquant l'origine granulocytaire. Dans la plupart des cas, et en particulier dans les formes très indifférenciées (LAM-M1), le profil cytoenzymologique est nécessaire pour l'identification de la lignée (Fournel-Fleury *et al.*, 1992).

Figure 7: Myélogrammes de leucémies aiguës myéloïdes M1 et M2 (coloration MGG, objectifs 100 et 40) (Feldman *et al.*, 2000).



La figure de gauche montre un myélogramme de LAM-M1, caractérisé par une population monotone de blastes sans signe de maturation granuleuse, à l'exception de très rares grains azurophiles dans quelques cellules. Sur la figure de droite, on distingue bien la prédominance d'une population de blastes, une maturation partielle de la lignée granuleuse, allant jusqu'aux polynucléaires neutrophiles, caractéristiques d'une LAM-M2. On note par ailleurs de nombreuses images de mitose.

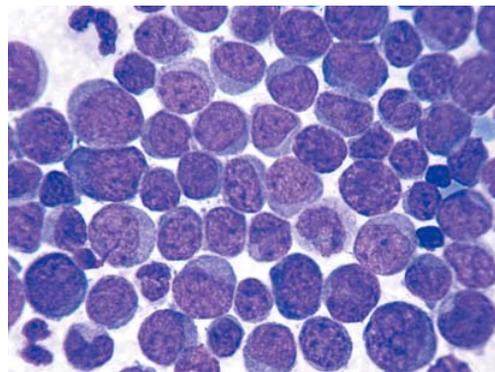
#### (4) Leucémie aiguë myélomonocytaire : LAM-M4

Elle apparaît plus fréquemment dans l'espèce canine que les LAM granulocytaires (Couto, 1985 ; Fournel-Fleury *et al.*, 1992). Elle se caractérise, sur myélogramme, par la prolifération d'une double population de blastes d'aspect soit myéloblastique soit monoblastique (noyau rond à légèrement irrégulier, chromatine fine, cytoplasme basophile et

agranulaire). L'aspect myéloblastique est caractérisé par un fort rapport noyau/cytoplasme ( $> 1,5$  pour les myéloblastes de type M1, ce rapport diminue en fonction du type de myéloblaste, c'est-à-dire du type M1 au type M4, le type M3 n'étant pas décrit chez l'animal), une chromatine fine et dentelée, un nucléole proéminent, et des granules azurophiles (moins de 15 pour le type 2 et plus de 20 pour le type 3) (Feldman 2000). A l'hémogramme, elle se caractérise par l'existence d'un double contingent granuleux (atypique) et monocytaire (Fournel-Fleury *et al.*, 1992).

Cependant, certaines formes très indifférenciées sont presque exclusivement constituées de cellules blastiques (de 86 à 90%) dont l'appartenance à la catégorie myélomonocytaire ne peut être affirmé que par leurs caractéristiques cytochimiques (Jain *et al.* 1981).

Figure 8: Myélogramme d'un chat atteint de LAM-M4 (coloration MGG, objectif 100) (Feldman *et al.*, 2000).



On peut noter l'importante prédominance de blastes à très faible maturation neutrophilique et le fort rapport noyau/cytoplasme de ces cellules.

#### (5) Leucémie aiguë monocytaire : LAM-M5

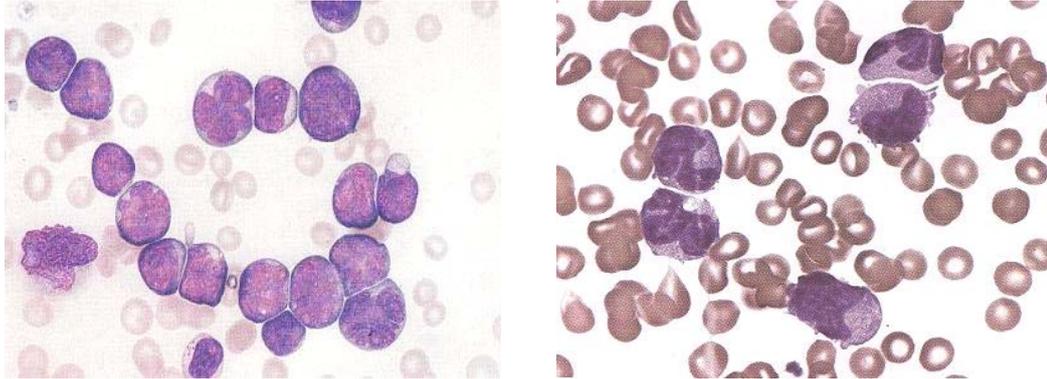
Elle est caractérisée par la prolifération médullaire et sanguine d'une population de cellules monocytaires plus ou moins différenciées (monoblastes ou monocytes). Le pourcentage de cellules issues de la lignée monocytaire, parmi les cellules non érythroïdes de la moelle osseuse, dépasse 80% (Jain *et al.*, 1991). Les monocytes, même différenciés présentent de nombreuses anomalies morphologiques (grande taille, atypies nucléaires, hyperbasophilie cytoplasmique) [11, 26].

Les réactions cytochimiques sont caractéristiques de cette lignée : la réaction d'estérase non spécifiques est positive, et peut être inhibée par le fluorure de sodium (Couto 1985).

Il existe deux catégories de leucémies aiguës monocytaires (LAM-M5a et LAM-M5b) que l'on distingue grâce au degré de maturité des monocytes. Les monoblastes et

promonocytes sont prédominants dans les cas de LAM-M5a (> 80% des cellules non érythroïdes présentes dans la moelle osseuse). En revanche, les LAM-M5b sont caractérisées par un pourcentage de promonocytes et monocytes différenciés compris entre 30 et 80% des cellules non érythroïdes de la moelle osseuse.

Figure 9: Myélogrammes de LAM-M5a et LAM-M5b canines (coloration MGG, objectif 100) (Feldman *et al.*, 2000).



La photo de gauche montre un myélogramme de LAM-M5a, on peut y reconnaître de monoblastes à grands noyaux irréguliers contenant une chromatine finement motée, et à cytoplasme légèrement basophile. La photo de droite (LAM-M5b) montre la prédominance de monocytes immatures au sein de la moelle osseuse.

#### (6) Leucémie aiguë à composante érythroblastique ou érythroleucémie : LAM-M6

La plupart des hématologues vétérinaires s'accordent maintenant pour considérer que, comme en médecine humaine, appartiennent à ce groupe toutes les leucémies aiguës à dominante d'érythroblastes (plus de 50%), dans la mesure où il existe toujours un contingent de blastes myéloïdes (Grindem et Buoen, 1989). Ce contingent myéloblastique et monoblastique représente au moins 30% des cellules non érythroïdes de la moelle osseuse.

On tend donc à rassembler sous le terme LAM-M6 trois entités autrefois séparées chez les carnivores domestiques :

- la réticuloendothéliose ou leucémie aiguë de précurseurs très indifférenciés de la lignée rouge, décrite exclusivement chez le chat (Grindem et Buoen, 1989) ;
- la myélose érythémique ou leucémie érythroïde aiguë (M6Er) (Grindem et Buoen, 1989) ;
- l'érythroleucémie au sens strict (M6), où les blastes myéloïdes représentent plus de 30% du contingent non érythroïde. Les entités accompagnées d'un contingent non

érythroïde comportant moins de 30% de blastes appartiennent aux syndromes myélodysplasiques et non aux leucémies aiguës (Grindem et Buoen, 1989).

Plus fréquente chez le chat, la LAM-M6 est exceptionnelle chez le chien ; seuls quelques cas spontanés sont décrits. Elle peut également être déclenchée expérimentalement par irradiation (Fournel-Fleury *et al.*, 1992).

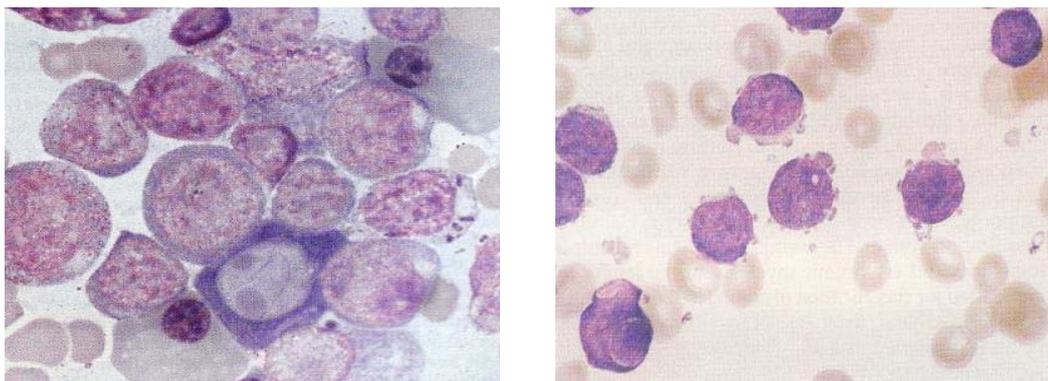
#### (7) Leucémie mégacaryoblastique : LAM-M7

Affection rarissime et peu décrite chez les carnivores domestiques, elle se caractérise par une prolifération maligne de mégacaryocytes immatures ou de leurs précurseurs dans la moelle osseuse et les autres tissus hématopoïétiques, en particulier la rate (Shull *et al.*, 1986).

L'hémogramme est caractérisé le plus souvent par :

- une thrombocytopénie sévère, accompagnée de plaquettes circulantes anormales d'un point de vue morphologique (plaquettes géantes, hypo- ou hyper-granuleuses) et fonctionnel (défaut d'agrégation), expliquant les signes hémorragiques ;
- la présence de blastes circulants indifférenciés s'apparentant à des blastes lymphoïdes, mais caractérisés par un noyau dense, des vacuoles et des expansions bulleuses cytoplasmiques (Messick *et al.*, 1990) ;
- une anémie arégénérative et une leucopénie.

Figure 10: Myélogrammes d'un chat atteint de LAM-M6Er et d'un chien atteint de LAM-M7 (coloration MGG, objectif 100) (Feldman *et al.*, 2000).



On reconnaît des rubriblastes sur la photo de gauche (LAM-M6Er) et des mégacaryoblastes (dont le contour cytoplasmique est irrégulier) sur la photo de droite (LAM-M7).

La prolifération blastique décrite, mais de taille plus variable, est retrouvée sur le myélogramme, parfois associé à des mégacaryocytes atypiques. L'utilisation de marqueurs immunologiques (en particulier l'anticorps polyclonal antifacteur VIII) paraît actuellement, en médecine vétérinaire comme en médecine humaine, le meilleur moyen d'identifier cette lignée.

Tableau 3: Leucémies aiguës myéloïdes, classifications FAB (Bennett *et al.*, 1976 ; Jain *et al.*, 1991).

<b>Abréviation</b>	<b>Caractéristiques</b>
<b>LAI</b>	Blastes négatifs pour toutes les réactions cytochimiques et les marqueurs phénotypiques
<b>LAM-M0</b>	Blastes dont la différenciation myéloïde ne peut être certifiée que par microscopie électrique ou d'après immunophénotypage
<b>LAM-M1</b>	Blastes > 90% des CNE ; granulocytes ou monocytes < 10% ; blastés PO ou NS positifs > 3%
<b>LAM-M2</b>	Blastes > 30% ANC et < 90% CNE ; granulocytes > 10% ; monocytes < 20%
<b>LAM-M3</b>	Promyélocytaire : non rapportée chez les carnivores domestiques
<b>LAM-M4</b>	Myéloblastes + monoblastes > 30% ANC et CNE ; granulocytes > 20% ; monocytes > 20% ; cellules ENS positives > 20% CNE
<b>LAM-M5</b>	Monocytes + monoblastes > 80% CNE
<b>M5a</b>	Monoblastes > 80% CNE
<b>M5b</b>	Monoblastes > 30% et < 80% CNE
<b>LAM-M6</b>	Erythroblastes > 50% ANC ; myéloblastes > 30% CNE
<b>M6 Er</b>	Erythroblastes > 50% ANC ; blastés non érythroïdes + pro-érythroblastes > 30% ANC
<b>LAM-M7</b>	Mégacaryocytes > 30% CNE ; mégacaryocytes atypiques ; blastés Facteur VIII et GpIIb-IIIa positifs

ANC : total des cellules nucléées ; CNE : cellules non érythroïdes ; ENS : estérase non spécifiques ; Er : érythroïde ; FAB : franco-américano-britannique ; LAI : leucémies aiguë indifférenciée ; LAM : leucémie aiguë myéloïde ; PO : peroxydases ; NS : noir Soudan.

### 3. Classification des leucémies chroniques

Les leucémies chroniques résultent de la prolifération de cellules hématopoïétiques ayant conservé leur capacité de maturation. Cette prolifération, s'effectuant à un stade différencié appelé "cyte" caractérisé par un faible pouvoir prolifératif, connaît une évolution beaucoup plus lente (de l'ordre d'un an sans traitement). Pour la lignée granulocytaire, les caractéristiques morphologiques de ces cellules sont identiques à celles des granulocytes circulants (cellule mature à noyau d'aspect polylobé) (Evans et Gorman, 1987 ; Fournel-Fleury, 2006).

Les leucémies chroniques se caractérisent par un envahissement du compartiment vasculaire sanguin par des cellules matures à faible pouvoir prolifératif. Ces cellules différenciées ont toujours la capacité de gagner le territoire sanguin et s'y accumulent progressivement. Les leucémies chroniques sont donc caractérisées par une très forte cytose sanguine. Selon la lignée concernée, on observe une leucocytose neutrophilique, une érythrocytose (encore appelée polyglobulie) ou une thrombocytose (concernant la lignée plaquettaire). Les cellules tumorales gagnant progressivement le sang n'étouffent pas les autres lignées médullaires ; par conséquent, il n'y a pas d'insuffisance médullaire ni de cytopénie sanguine durant la première phase d'évolution des leucémies chroniques. Parallèlement, on constate une cytose médullaire correspondant à la prolifération de la lignée tumorale concernée (Fournel-Fleury, 2006). En outre, certaines leucémies chroniques comme les leucémies lymphoïdes chroniques peuvent être accompagnées d'une hyperviscosité sanguine, conséquence d'une sécrétion excessive d'immunoglobulines par les lymphocytes proliférants (Fournel-Fleury *et al.*, 1992).

Il convient de préciser que l'évolution des leucémies chroniques, comme celle des leucémies aiguës, peut comporter des phases cliniques aiguës (anémie, thrombopénie, neutropénie). L'utilisation de moyens diagnostiques appropriés est donc indispensable car le pronostic des leucémies aiguës est beaucoup plus sombre que celui des leucémies chroniques (Evans et Gorman, 1987).

a) *Leucémie lymphoïdes chroniques et syndromes lymphoprolifératifs sécrétants apparentés*

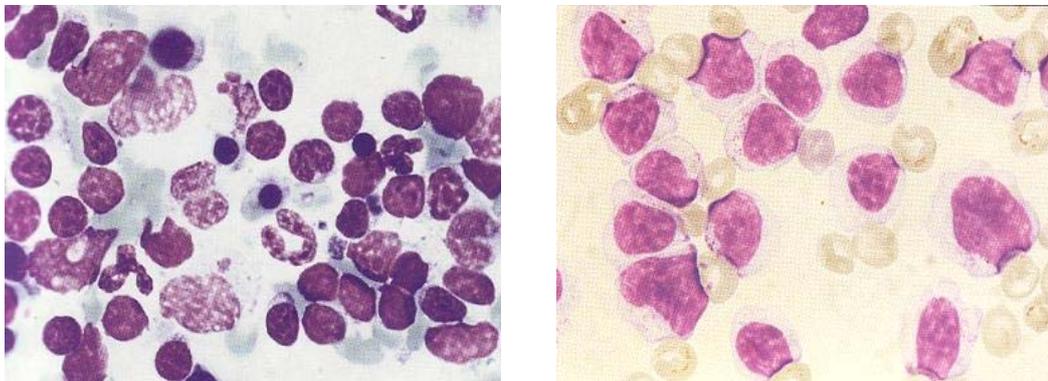
(1) Leucémies lymphoïdes chroniques

Elles se caractérisent par une prolifération maligne de petits lymphocytes d'aspect morphologique proche des lymphocytes normaux (Fournel-Fleury *et al.*, 1992).

Chez le chien comme chez l'homme, ce sont le plus souvent des hémopathies de la lignée B atteignant le sujet adulte âgé (moyenne d'âge de 9,5 ans dans l'espèce canine) (Leifer et Matus, 1985). Contrairement à l'homme chez lequel la majorité des LLC à cellules B sont non sécrétantes, des études statistiques réalisées chez le chien (Leifer et Matus, 1985 ; Leifer et Matus, 1986) montrent que plus de 50% des LLC sont sécrétantes.

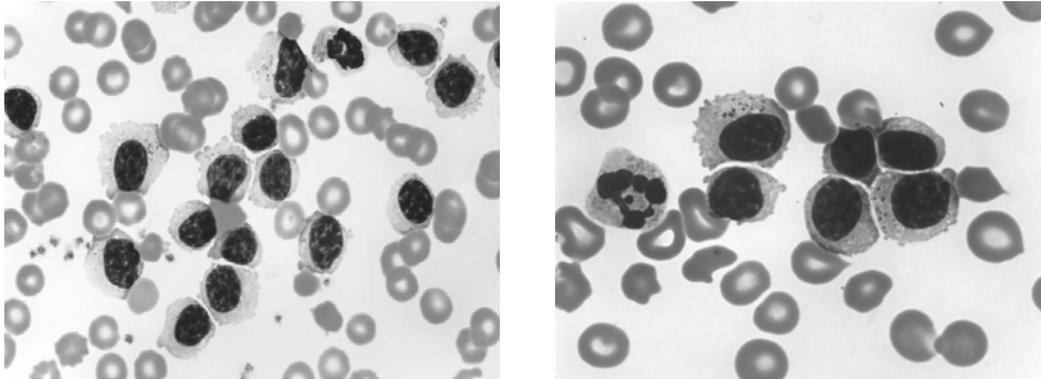
A côté de ces LLC classiques, des proliférations à grands lymphocytes granuleux ont été observées chez le chien, et qualifiées soit de lymphocytoses, soit de LLC. Ces formes semblent se rapprocher des LLC à cellules T de l'homme (représentant moins de 5% des LLC en Europe) (Fournel-Fleury *et al.*, 1992).

Figure 11: Myélogramme et frottis sanguin de LLC féline (coloration MGG, objectif 100) (Feldman *et al.*, 2000).



Sur la photo de gauche, on note une infiltration importante par de petits lymphocytes différenciés. Il n'existe cependant pas d'insuffisance médullaire comme en témoignent les autres lignées érythroïdes et myéloïdes, bien représentées. La photo de droite est une image de frottis sanguin de LLC, on distingue des grands lymphocytes à granulations azurophiles et à cytoplasme étendu en clair.

Figure 12: Frottis sanguins de LLC à lymphocytes T et à grands lymphocytes (coloration MGG, objectif 100) (Feldman *et al.*, 2000).



La photo de gauche montre des lymphocytes à cytoplasme volumineux et contenant de fines granulations azurophiles. La photo de droite illustre une LLC à large lymphocytes, on remarque la taille très augmentée des lymphocytes proliférants.

## (2) Myélome multiple et macroglobulinémie

- Myélome multiple, maladie de Kahler ou plasmocytome:

Le myélome multiple se définit comme une prolifération plasmocytaire maligne primitive de la moelle osseuse et des autres tissus. Elle se caractérise généralement par une sécrétion d'immunoglobulines monoclonales (IgA ou IgG), des lésions osseuses et une extension à d'autres organes (foie, rate). Par son infiltration primitive de la moelle osseuse, le myélome multiple s'apparente au groupe des LLC (même si le passage des plasmocytes malins dans le sang est rare) s'observant dans les formes évolutives de masse tumorales évoluée.

Le terme de leucémie plasmocytaire s'applique à ces formes à dissémination sanguine importante (20% des leucocytes du sang), mais qui ne constituent pas une entité fondamentalement différente (Thrall, 1981).

- Macroglobulinémie de Waldenström :

La macroglobulinémie de Waldenström est une hémopathie lymphoïde B encore plus rare caractérisée par :

- une prolifération d'un clone B à différents stades de maturation aboutissant à l'association de lymphocytes, lymphoblastes et plasmocytes à localisation médullaire, splénique et ganglionnaire ;
- la présence d'une immunoglobuline monoclonale exclusivement de classe  $\mu$  (Fournel-Fleury *et al.*, 1992).

Il est important de préciser que ni le myélome multiple, ni la macroglobulinémie de Waldenström, ne satisfont pleinement les critères de définition des leucémies. En effet, ces pathologies consistent en une prolifération plasmocytaire tumorale à localisation médullaires stricte, et les cellules cancéreuses ne gagnent en aucun cas la circulation sanguine, contrairement aux leucémies chroniques (lymphoïdes et myéloïdes) pour lesquelles on retrouve des concentrations cellulaires sanguines très élevées. Le myélome multiple et la macroglobulinémie de Waldenström sont donc fréquemment traitées à part dans la littérature (Feldman *et al.*, 2000).

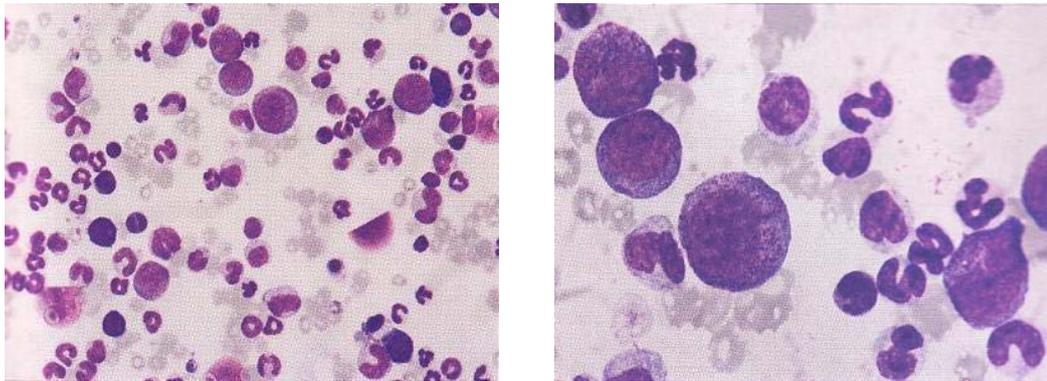
*b) Leucémies myéloïdes chroniques et autres syndromes myéloprolifératifs chroniques*

On peut rassembler dans ce groupe les syndromes myéloprolifératifs non lymphoïdes suivants : la leucémie myéloïde chronique (LMC), la polyglobulie vraie (ou *polycythemia vera*), la thrombocytémie essentielle, la myélofibrose avec métaplasie myéloïde.

(1) Leucémies myéloïdes chroniques

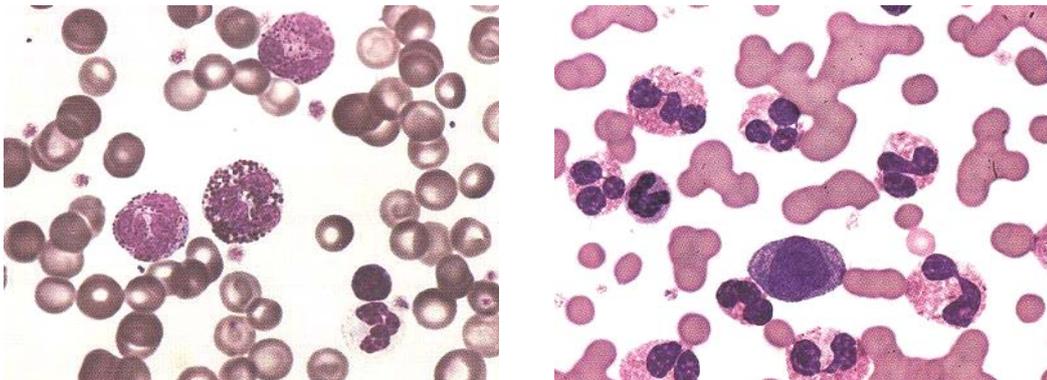
Elle se définit comme une prolifération clonale d'une cellule myéloïde pluripotente, à l'origine d'une myéloprolifération intéressant essentiellement la lignée granuleuse avec persistance de ses capacités de maturation. Assez rare chez les carnivores domestiques, elle concerne avant tout la lignée granuleuse neutrophilique mais il existe néanmoins des leucémies chroniques basophiles (surtout chez le chien), des leucémies chroniques éosinophiles (surtout chez le chat) et des leucémies chroniques mastocytaires (rarissimes) (Evans et Gorman, 1987).

Figure 13: Myélogramme de LMC (coloration MGG, objectif 40 et 100) (Feldman *et al.*, 2000).



Sur la photo de gauche, on peut voir une moelle osseuse riche en lignée granuleuse avec maturation normale et large prédominance de polynucléaires matures. La LMC est indistinguable, sur le myélogramme, d'une hyperplasie myéloïde. Les données de l'hémogramme sont indispensables. La photo de droite montre, au plus fort grossissement, les détails de la maturation de la lignée granuleuse proliférante.

Figure 14: Frottis sanguin d'une LMC basophile canine et d'une LMC éosinophile féline (coloration MGG, objectif 100) (Feldman *et al.*, 2000).



A gauche, on peut voir trois grands granulocytes basophiles, de taille anormalement augmentée, à noyau polylobé et dont le nombre de granulations cytoplasmique est réduit. Sur la photo de droite, on reconnaît plusieurs éosinophiles, à noyau polylobé et à multiples granulations rouge-orangée.

## (2) Polyglobulie vraie (ou polycythemia vera)

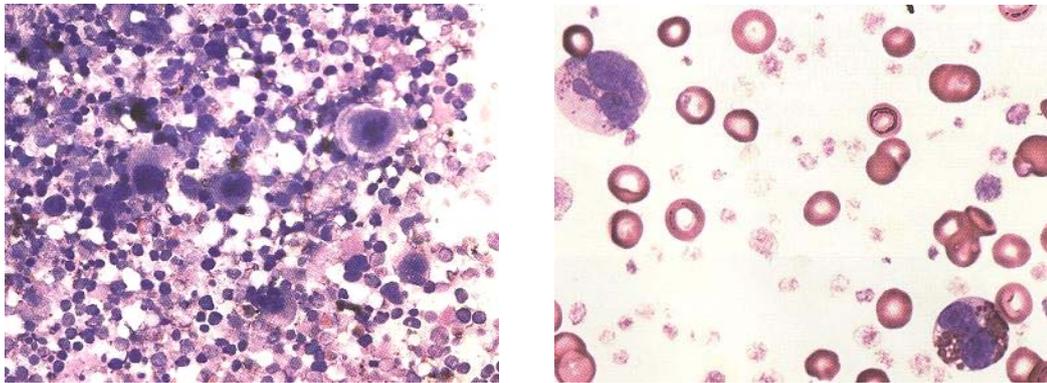
Considérée comme le plus fréquent des syndromes myéloprolifératifs chroniques en médecine humaine ; son diagnostic demeure exceptionnel chez les carnivores domestiques. Elle se définit comme une augmentation de l'hématocrite et du nombre d'érythrocytes d'origine primitivement médullaire. Dans l'espèce canine, ce syndrome paraît essentiellement médullaire et érythroïde, ce qui le distingue de la maladie humaine où la polyglobulie

intéresse toutes les lignées. Pour cette raison, certains auteurs proposent de lui donner le nom plus approprié d'érythémie ou d'érythrocytose primitive (Harvey, 1981).

### (3) Thrombocytémie primitive

La thrombocytémie primitive (encore appelée thrombocytémie essentielle) est un syndrome myéloprolifératif chronique, caractérisé par une thrombocytose sanguine (supérieure à  $1000 \times 10^9/L$ ) consécutive à une prolifération médullaire des mégacaryocytes et un tableau clinique de thrombose et d'hémorragies dues à des anomalies fonctionnelles plaquettaires (Tablin *et al.*, 1989).

Figure 15: Myélogramme et frottis sanguin d'un chien atteint de thrombocytémie primitive (coloration MGG, objectif 40 et 100) (Feldman *et al.*, 2000).



La photo de gauche illustre un myélogramme de thrombocytémie primitive : la moelle osseuse est hyperplasique et contient un nombre important de mégacaryocytes à des stades de maturation différents. Sur le frottis sanguin (à droite), on distingue un nombre anormalement élevé de plaquettes.

### (4) Myélofibrose avec métaplasie myéloïde

Il s'agit d'un syndrome myéloprolifératif chronique développé à partir d'une cellule souche hématopoïétique pluripotente. Elle est caractérisée par l'association d'une prolifération des trois lignées, érythroïde, granulocytaire et mégacaryocytaire combinée à une myélofibrose progressive et à une métaplasie myéloïde du foie et de la rate. Elle ne s'accompagne pas de cytose sanguine majeure, et n'est donc pas une leucémie au sens stricte (Feldman *et al.*, 2000).

Les leucémies et les divers syndromes lympho- et myélo-prolifératifs apparentés des carnivores domestiques sont de mieux en mieux connus et paraissent très proches des entités définies en médecine humaine. L'uniformisation actuelle des classifications facilite à la fois ce parallélisme et la précision de leur identification en médecine vétérinaire.

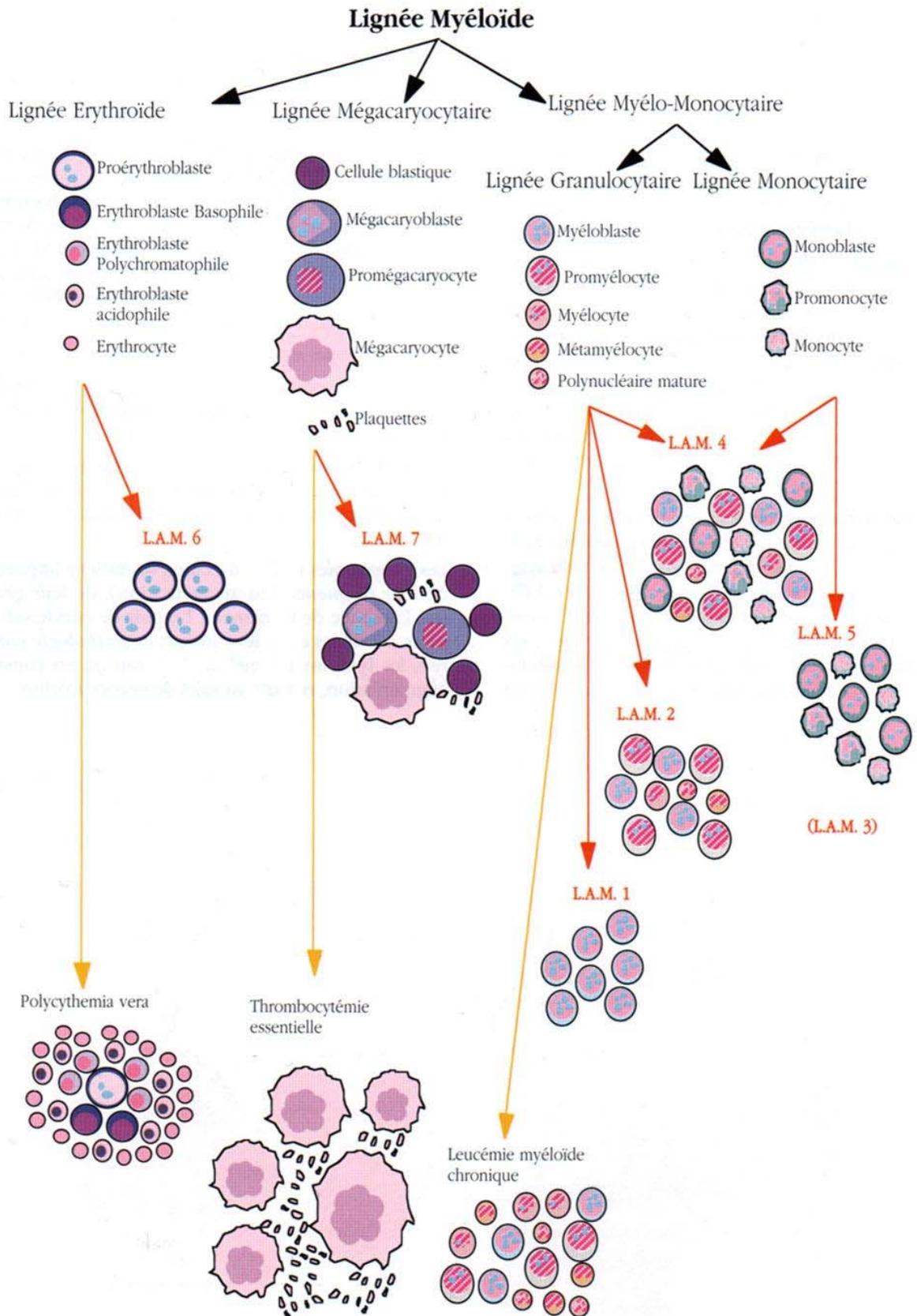
Tableau 4: Classifications des syndromes lymphoprolifératifs (Fournel-Fleury *et al.*, 1992).

	Dénomination actuelle	Equivalents
<b>Leucémies aiguës lymphoïdes</b>	LAL	
<b>Sous-type à petites cellules</b>	LAL-1	
<b>Sous-type à grandes cellules</b>	LAL-2	
<b>Sous-types à cellules de type Burkitt</b>	LAL-3	
<b>Leucémies lymphoïdes chroniques</b>	LLC	

Tableau 5: Classifications des syndromes myéloprolifératifs chez les carnivores domestiques (Fournel-Fleury *et al.*, 1992).

	Dénomination actuelle	Equivalents
<b>Leucémies aiguës myéloïdes</b>	LAM	
	LAM-M0	Non différenciée
	LAM-M1	
	LAM-M2	Granulocytaires
	LAM-M3	
	LAM-M4	Myélomonocytaires
	LAM-M5	Monocytaires
	LAM-M6	Erythrocytaire
	LAM-M7	Mégacaryoblastique
<b>Leucémies myéloïdes chroniques</b>		
<b>LMC éosinophile</b>		
<b>LMC basophile</b>	LMC	
<b>LMC neutrophile</b>		
<b>LMC myélomonocytaires</b>		
<b>LMC mastocytaire</b>		
<b>Polyglobulie vraie</b>		Polycythemia vera
<b>Thrombocytémie essentielle</b>		
<b>Myélofibrose avec métaplasie myéloïde</b>		Splénomégalie myéloïde

Figure 16: Cytogénèse des leucémies myéloïdes aiguës et chroniques chez les carnivores domestiques (Magnol *et al.*, 2001).



## II. Les leucémies aiguës

Les leucémies aiguës sont caractérisées par la prolifération de cellules peu matures, qualifiées de blastes, et par une durée d'évolution courte (de l'ordre d'un mois) en l'absence de traitement. Comme nous l'avons vu précédemment, on distingue deux grandes catégories de proliférations illustrant le clivage fondamental dans la différenciation entre les différentes lignées hématopoïétiques : on parlera ainsi de leucémie aiguë lymphoïde (ou lymphoblastique) et de leucémie aiguë myéloïde.

### A. *Etiologie*

Les causes de la prolifération cellulaire sont d'origine génétique et aboutissent à l'expression d'oncogènes qui vont agir sur les étapes de la formation des cellules sanguines. Plusieurs facteurs iatrogènes ont montré leur influence sur les mutations génétiques à l'origine du dérèglement de l'hématopoïèse. Comme chez l'homme (Varet et Buzyn, 2003), les effets du benzène, de la phénylbutazone (Presley *et al.*, 2006), d'agents chimiothérapeutiques anticancéreux (agents alkylants, nitroso-urées (lomustine, carmustine), inhibiteurs de la topoisomérase II (étoposide, procarbazine), anthracyclines) et des radiations ionisantes (surtout associées aux chimiothérapies) sont associés à l'apparition de LA (Tolle *et al.*, 1983 ; Feldman *et al.*, 2000 ; Varet et Buzyn, 2003). Parallèlement, l'implication d'agents biologiques comme certains rétrovirus a été démontrée, notamment dans l'espèce féline. Il s'agit du virus leucémogène félin (FeLV) et du virus de l'immunodéficience féline (FIV) qui sont mondialement répandus (Chen *et al.*, 1998 ; Feldman *et al.*, 2000). Malgré sa dénomination de virus leucémogène, la plupart des infections au FeLV ne sont pas associées à la présence d'une leucémie. Dans les rares cas d'installation d'une leucémie dans un contexte viral, les leucémies myéloïdes sont majoritaires (notamment l'érythroleucémie) en comparaison des leucémies lymphoïdes (Feldman *et al.*, 2000). Il existe également des prédispositions génétiques aux mutations causant les leucémies aiguës, et plus largement tous les types de leucémies. Des mutations spontanées à l'origine d'inactivation d'anti-oncogènes peuvent également survenir.

Chez le chien, aucun rétrovirus n'a été démontré comme étant leucémogène, cependant, plusieurs cas ont révélé l'implication de rétrovirus comme étant une cause potentielle de leucémie lymphoïde. En effet, des particules virales bourgeonnant à la surface des lymphocytes leucémiques ont été décrites chez un chien. Le virus ressemblait à un oncovirus de type C appartenant à la sous-famille des rétrovirus leucémogènes félins et bovins (Ghernati *et al.*, 2000). Une autre étude a mis en évidence des particules virales isolées à partir de cellules cancéreuses chez un chien souffrant de leucémie lymphoblastique ; ces particules appartenaient à un lentivirus (Safran *et al.*, 1992). Cependant, la détection de particules issues de rétrovirus chez des chiens leucémiques ne confirme pas nécessairement que ce virus soit la cause directe de la maladie. Chez l'homme, les translocations chromosomiques sont à l'origine de modifications d'expression d'oncogènes, aboutissant à un dérèglement de l'hématopoïèse et ainsi à l'installation d'une leucémie (Jandl, 1991). Des anomalies chromosomiques ont été rapportées dans les cas de LAM et de LAL canines. Cependant, la réalisation d'un caryotype chez le chien restant difficile, l'identification des facteurs génétiques responsables des maladies myélo- et lympho-prolifératives devrait être réalisée avec l'application des techniques utilisées en génétique humaine (Grindem et Buen, 1986 ; Reimann *et al.*, 1998).

Ainsi, les causes de leucémies dans l'espèce canine restent plus floues que dans l'espèce féline.

## ***B. Epidémiologie***

Chez le chien, les leucémies sont des affections rares et représentent 10% des cancers hématopoïétiques. Parmi ce pourcentage, les leucémies lymphoïdes sont largement majoritaires (9%) par rapport aux leucémies myéloïdes (et autres syndromes myéloprolifératifs) représentant seulement 1% des cancers hématopoïétiques (Fournel-Fleury *et al.*, 1992 ; Jain, 1993 ; Vail et Young, 2007). L'âge de l'animal est le facteur influençant le mode évolutif le plus important ; les leucémies aiguës touchent préférentiellement les chiens d'âge moyen (5,5 ans en moyenne). Une étude menée sur 30 chiens (âgés de 1 à 12 ans) atteints de LAL a révélé que 27% d'entre eux avaient moins de 4 ans, avec une moyenne d'âge de 6,2 ans (Presley *et al.*, 2006). En outre, un cas de LAL a été rapporté chez un chiot Greyhound âgé de 12 semaines (Adams *et al.*, 2004). L'influence de la race est peu établie à l'exception de la race Berger Allemand qui est prédisposée aux LAL (Matus *et al.*, 1983). En

revanche, aucune prédisposition sexuelle n'a été réellement démontrée (Bennett *et al.*, 1982; Fournel-Fleury *et al.*, 1992). Cependant, la même étude concernant 30 cas de LAL révèle que davantage de mâle étaient touchés, le ratio mâle/femelles étant de 3/2 [35].

Il a longtemps été admis que les LAL étaient la forme de leucémie la plus couramment rencontrée chez le chien (Workman et Vernau, 2003), bien que certaines sources (Vail et Young, 2007) affirment que près de 50% des leucémies aiguës initialement diagnostiquées comme touchant la lignée lymphoïde aient été reclassées comme LAM suite aux examens d'immunophénotypage. Les LAM furent reconnues comme étant plus fréquentes suite à une étude relativement récente (Vernau et Moore, 1999) menée sur 38 cas de leucémies aiguës canines. Cet ajustement épidémiologique trouve son explication dans l'utilisation récente des méthodes appliquées en médecine humaine (immunophénotypage, cytochimie) afin de caractériser la lignée concernée par la prolifération cancéreuse ; le diagnostic ne se base plus uniquement sur la morphologie des cellules.

Chez le chat, les leucémies aiguës sont beaucoup plus fréquentes que dans l'espèce canine. En outre, les leucémies aiguës myéloïdes sont 16 fois plus fréquentes dans l'espèce féline (Fournel-Fleury *et al.*, 1992). Cette différence est clairement liée à l'implication du virus leucémogène félin dans la survenue des syndromes prolifératifs hématopoïétiques. En effet, chez le chat, ce virus est responsable de 100% des LAL et d'environ 90% des LAM (Leifer et Matus, 1985).

Une étude rétrospective menée aux USA au début des années 1980 par CR Dorn évalue le ratio LAL/lymphome dans l'espèce canine et féline : ce rapport était alors de 224/100.000 pour les chats, et de 30/100.000 pour les chiens. Cependant ce résultat, obtenu par un centre hospitalier vétérinaire gérant des cas référés, semble être biaisé par le fait que les vétérinaires généralistes réfèrent davantage les cas de leucémies et prennent plus facilement en charge les cas de lymphomes (Modiano *et al.*, 1998 ; Couto, 2003). D'après la base de données de l'université vétérinaire de Perdue, la prévalence des cas de LAL et de LAM entre 1987 et 1997 dans l'espèce canine et féline a été calculée :

- espèce féline : LAM = 0,05% (75/165.836) ; LAL = 0,06% (99/165.836) ;
- espèce canine : LAM = 0,02% (85/531.388) ; LAL = 0,08% (424/531.388).

Ces résultats sont à pondérer car pour la majorité des cas de leucémies félines (3.344/165.386) la lignée touchée n'a pas été déterminée ou précisée. En outre, 0,02% (29/165.386) des leucémies félines et 0,02% (91/531.388) des leucémies canines ont été qualifiées de leucémies à cellules non différenciées (Feldman *et al.*, 2000).

La dynamique actuelle de diagnostic des leucémies aiguës (et des leucémies en général) semble changer en raison de la réalisation plus systématique d'héogrammes lors de la prise en charge des cas ou lors d'examens de routine ; cela permettrait une meilleure détection des cas et l'incidence des leucémies s'en trouverait augmentée. En outre, la meilleure détection des maladies causées par les rétrovirus félines aurait pour effet de diminuer l'incidence des leucémies aiguës (Feldman *et al.*, 2000).

Les fréquences d'apparition des différents sous-types de LAM sont assez disparates chez les deux espèces étudiées. Les sous-types M1, M2, M4 et M6 sont considérés comme les plus fréquents chez le chat. En outre, les LAM concernant la lignée monocyttaire (M5) sont plus communes dans l'espèce féline (Feldman *et al.*, 2000). Chez le chien, le type M4 (touchant la lignée myélomonocytaire) prédomine largement et se place devant les sous-types granulocytaires M1 et M2 (Grindem *et al.*, 1985 ; Jain, 1993).

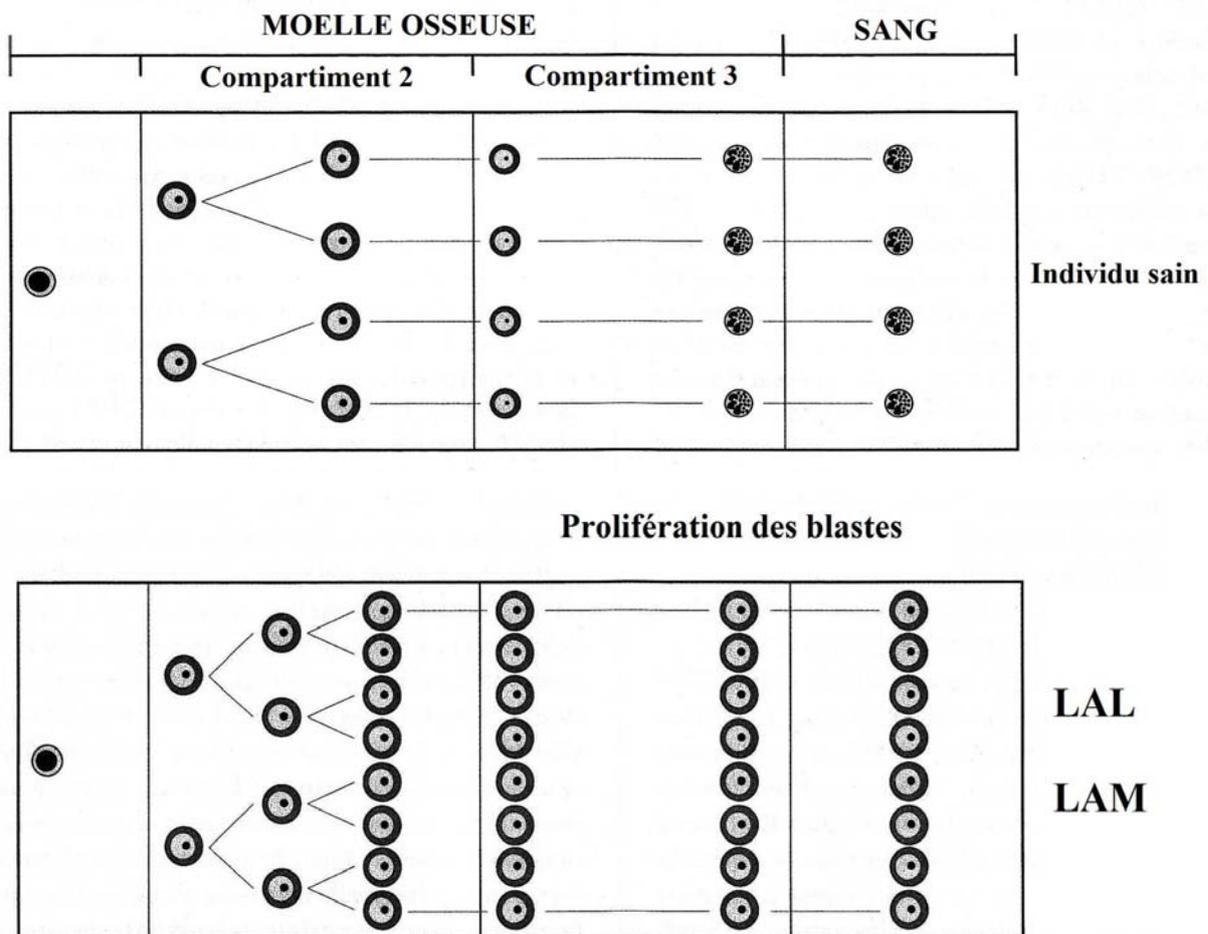
Au sein du groupe des LAL, les proliférations de chacune des lignées lymphoïdes (lignée T, lignée B et lignée des NK ou Natural Killer) n'ont pas la même fréquence d'apparition. Les données quant à la prévalence d'une lignée par rapport à une autre sont variables, cependant, on constate une prédominance de la lignée B. Une étude menée sur 38 cas de leucémies aiguës (myéloïde et lymphoïde) révèle que dans 16% des cas, la prolifération cancéreuse concernait la lignée B, contre 8% pour la lignée T (Vernau et Moore, 1999).

Dans l'espèce humaine, l'incidence des leucémies aiguës lymphoïdes est de 3 pour 100.000 habitants/an dans les pays occidentaux. Les LAL sont les leucémies aiguës les plus fréquentes chez les enfants, en revanche, après 15 ans, ce sont les LAM qui se déclarent le plus souvent. En effet, l'incidence des LAM s'accroît avec l'âge, et représente la première cause d'hospitalisation prolongée dans les services d'hématologie pour adultes (Varet et Buzyn, 2003).

### ***C. Pathogénie***

Comme abordé précédemment, les leucémies aiguës sont la conséquence d'une prolifération clonale de cellules malignes issues d'une lignée lymphoïde ou myéloïde, et demeurant à un stade immature. Les conséquences de cette prolifération sont donc un envahissement médullaire très rapide par la population de blastes néoplasiques à l'origine d'une insuffisance médullaire concernant les autres lignées sanguines. Le passage sanguin est inconstant et peut être important lorsqu'il a lieu. Il sera aisément décelable par la constatation d'une forte blastose sanguine à l'hémogramme. L'envahissement de certains organes périphériques (notamment le foie et la rate) fait suite à ce passage sanguin. D'autres localisations de la dissémination des blastes ont été décrites ; ainsi diverses infiltrations du tissu nerveux, des formations lymphoïdes associées aux muqueuses intestinales et des poumons ont été rapportées (Vernau *et al.*, 2000 ; Mori *et al.*, 2001).

Figure 17: Pathogénie des leucémies aiguës (Breuer et Hermanns, 1998).



LAL : leucémie aiguë lymphoblastique ; LAM : leucémie aiguë myéloblastique ;

Les compartiments 2 et 3 représentent schématiquement les lieux de différenciation et de maturation.

## 1. Leucémies aiguës lymphoblastiques

Chez le chien et le chat, l'infiltration médullaire par les lymphoblastes est à l'origine d'anémies de degrés variables, d'une thrombopénie et souvent d'une neutropénie ; cette dernière est davantage retrouvée dans l'espèce canine (Young et Mac Ewen, 2007).

Les hémogrammes effectués lors de LAL peuvent être très différents selon les cas ; en effet les LAL peuvent connaître plusieurs phases caractérisées par divers degrés d'envahissement sanguin par les blastes et par une cytopénie plus ou moins marquée des lignées non proliférantes :

- une phase leucémique, caractérisée par une hyperleucocytose (malgré la neutropénie) résultant en grande partie du passage des cellules lymphoblastiques dans le

compartiment circulant. Les blastes lymphoïdes représentent entre 80 et 100% des leucocytes circulants (Fournel-Fleury *et al.*, 1992). Cette lymphoblastose sanguine est généralement supérieure à 14.000 cellules/mm<sup>3</sup>, peut être souvent beaucoup plus importante, elle est alors comprise entre 60.000 et 100.000 cellules/mm<sup>3</sup>, et dépasse parfois 100.000 cellules/mm<sup>3</sup>, parvenant même à 500.000 cellules/mm<sup>3</sup> (Matus *et al.*, 1983 ; Couto, 1985 ; Morris *et al.*, 1993 ; Reagan et DeNicola, 1998) ;

- une phase subleucémique, caractérisée par un nombre de leucocytes circulant modéré à réduit (4.000 à 14.000 cellules/mm<sup>3</sup>) et comprenant peu de blastes (Feldman *et al.*, 2000) ;

- une phase aleucémique qui se distingue des deux précédentes par une leucopénie sanguine et par l'absence de blastes circulants (Feldman *et al.*, 2000).

La prolifération de la lignée cancéreuse entraîne le phénomène de myéloptisie aboutissant à un étouffement des autres lignées, et ainsi à une cytopénie ou à une pancytopénie dans les cas les plus avancés. Cela explique les anémies fréquemment rencontrées (dans plus de 50%) des cas de LAL [18, 22]. En général, ces anémies sont normocytaires normochromes et non régénératives. L'apparition d'une thrombocytopénie est également fréquente, elle concerne entre un tiers et la moitié des cas de LAL chez le chien (Presley *et al.*, 2006). Ces thrombocytopénies sont modérées à sévères, avec des numérations plaquettaires inférieures à 50.000 plaquettes/mm<sup>3</sup> (Matus *et al.*, 1983). Les neutropénies sont également communes en cas de LAL ; une étude rapporte que 65% des chiens atteints de LAL étaient neutropéniques (< 3.000 cellules/mm<sup>3</sup>), et deux-tiers d'entre eux avaient une numération neutrophilique inférieure à 1.000 cellules/mm<sup>3</sup> (Vernau et Moore, 1999).

Les LAL ne doivent pas être confondues avec l'infiltration leucémique secondaire à un lymphome multicentrique. Dans les cas de LAL, la rapidité d'évolution, l'infiltration prépondérante du foie et de la rate antérieure à l'adénopathie, l'importance de la prolifération médullaire responsable d'emblée d'insuffisances hématopoïétiques permettent de faire la distinction (Fournel-Fleury *et al.*, 1992). En outre, la réalisation d'un hémogramme comme unique examen diagnostique ne permet pas toujours de différencier ces deux entités, notamment dans l'espèce féline où 25% des lymphomes s'accompagnent d'un envahissement sanguin par les cellules lymphoïdes cancéreuses et se rapprochent ainsi d'un profil sanguin leucémique (Theilen et Madwell, 1979). Afin d'effectuer la distinction entre LAL et lymphome, mais également entre LAL et LLC, on a recours à l'immunophénotypage des cellules cancéreuses. En effet, la présence à la surface cellulaire du marqueur CD<sub>34</sub> est une

information importante pour caractériser la maladie : les LAL sont CD<sub>34</sub> positives et se distinguent des LLC et des lymphomes à infiltration médullaire qui sont CD<sub>34</sub> négatifs (Young et MacEwen, 2007).

## 2. Leucémies aiguës myéloïdes

De la même façon que lors de LAL, le phénomène aigu de la prolifération de blastes de la lignée myéloïde aboutit à un étouffement de la moelle osseuse et par conséquent à l'apparition de cytopénies des autres lignées (anémie, thrombocytopénie et neutropénie sont courantes) (Feldman *et al.*, 2000). Le passage sanguin des blastes myéloïdes est également inconstant. Suivant les cas, on observera des numérations de leucocytes sanguins très variables, allant de la leucopénie à la leucocytose sévère (jusqu'à 150.000 cellules/mm<sup>3</sup>) (Vail et Young, 2007). Les phases subleucémique et aleucémique développés dans le paragraphe précédent sont applicables aux LAM.

L'envahissement des organes périphériques est, comme pour les LAL, secondaire à l'envahissement médullaire, et concerne la rate, le foie, les nœuds lymphatiques, et plus rarement les reins, le cœur, le système nerveux et les amygdales (Vail et Young, 2007). Le pourcentage de myéloblastes médullaires obtenu suite à la réalisation d'un myélogramme est une donnée essentielle pour le diagnostic de LAM.

D'après l'ensemble des cas rapportés dans la littérature et des études réalisées, les leucémies aiguës myélomonocytaires sont, chez les carnivores domestiques, le type de leucémie aiguë le plus représenté (Barthel, 1974 ; Ragan *et al.*, 1976 ; Linnabary *et al.*, 1978 ; Rohrig, 1983 ; Raskin et Krehbiel, 1985 ; Hamlin et Duncan, 1990 ; Graves *et al.*, 1997 ; Nagashima *et al.*, 2005 ; Hisasue *et al.*, 2008 ; Mylonakis *et al.*, 2008). Cependant, les marquages cytochimiques et l'immunophénotypage ne sont que très peu disponibles en médecine vétérinaire (cela est surtout vrai pour les marquages cytologiques, les marquages histologiques étant bien répandus), il en est de même pour la microscopie électronique. Ceci, associé à la rareté des cas (non diagnostiqués ou non rapportés), explique que le typage des leucémies relève davantage du processus expérimental que de la réalité clinique. Dès lors, il est difficile de distinguer précisément les signes cliniques suivant les différents types de leucémies aiguës (Young et MacEwen, 2007).

La rétrospective la plus importante concernant les leucémies aiguës chez les carnivores domestiques a été effectuée en 1993 par un des membres de l'ALSG (Nemi Jain) et s'est appuyée sur l'analyse de 181 moelles osseuses de chats suspects de leucémie myéloïde aiguë (Jain, 1993). L'étude a porté principalement sur les modifications observées sur l'hémogramme et au myélogramme. L'anamnèse, les signes cliniques, les résultats des examens cliniques et d'imagerie des animaux n'ont pas été pris en compte. En utilisant les critères énoncés par l'ALSG (Evans et Gorman, 1987), 8 cas de LAI, 99 cas de LAM et 39 cas de MDS ont pu être identifiés. La moelle osseuse des chats restants était le siège d'anomalies non spécifiques (21 cas) ou d'hyperplasie (14 cas). Les sous-types de LAM les plus rencontrés furent M1 (22 chats soit 20,6%), M2 (34 chats soit 31,8%), soit plus de la moitié des cas en totalité, et M6 qui représentaient 29% des chats, avec 21 cas de M6 et 10 cas de M6 Er. Les moins représentés furent les sous-types suivant : LAI (7,5%), M4 (5 chats soit 4,7%), M5 (7 chats soit 6,5%) et M7 (aucun chat). Une augmentation des éosinophiles (> 5% des ANC) fut constatée dans 25% des cas de LAM-M2. Parmi eux, deux chats ayant un taux d'éosinophiles supérieur à 10%, la terminologie fut précisée et devint LAM-M2Eos. En outre, de nombreuses anomalies de lignées parmi les différents cas furent relevées : on nota une dysérythropoïèse marquée chez les chats M6 et M6Er. Une dysplasie concernant plusieurs lignées toucha les chats M2. Une dysgranulopoïèse caractérisée par des métamyélocytes géants fut observée chez les chats à hyperplasie médullaire. Par ailleurs, les taux les plus élevés de blastes médullaires concernaient les LAI et les sous-types M1 et M5a (monoblastique), alors que les taux les plus bas revenaient aux M6Er. Le pourcentage de blastes médullaires n'était pas systématiquement prédictif de la sévérité de la leucocytose périphérique. Les taux moyens de leucocytes sanguins les plus élevés, relevés pour les LAI, étaient compris dans l'intervalle des valeurs usuelles. Les trois taux leucocytaires sanguins les plus importants concernaient les types M5 (en moyenne 197.317 cellules/mm<sup>3</sup>), M4 (en moyenne 107.480 cellules/mm<sup>3</sup>) et M1 (en moyenne 50.545 cellules/mm<sup>3</sup>). Les taux élevés de leucocytes sanguins n'étaient pas prédictifs de taux de blastes sanguins comparables. En effet, les 2/3 des chats M5 étaient aleucémiques, et leur taux de blastes sanguins restait faible. D'une façon plus générale, 1/3 des chats pour lesquels le diagnostic de leucémie était posé, étaient en réalité aleucémiques. Les taux de blastes périphériques (sanguins) les plus élevés furent constatés chez les chats M1 et M4. Seuls 20% des chats leucémiques avaient un taux de blastes sanguins supérieur ou égal à 30%, cela signifiant que 80% des chats requéraient l'analyse de leur myélogramme pour confirmer le diagnostic. La lecture des hémogrammes révéla une anémie dans 91,3% de cas, et, parmi les 82 chats pour lesquels le taux de

plaquettes sanguines avait été mesuré, une thrombocytopenie dans 51,2% des cas. Une thrombocytose excédant 1 million de plaquettes/mm<sup>3</sup> fut constatée à deux reprises : dans le cas d'une leucémie aiguë M2 et M6Er (Jain, 1993).

Cependant, les données hématologiques de cette étude ne sont mises en regard ni avec les données cliniques ni avec l'évolution des cas afin de fournir des informations pronostiques quant aux divers sous-types de LAM. Les conséquences paranéoplasiques ne sont pas abordées ; alors que d'autres études précisent les organes infiltrés (la rate reste le premier lieu d'infiltration néoplasique, devant le foie et les nœuds lymphatiques). L'anémie et la thrombocytopenie sont souvent associées à des signes cliniques tels qu'une léthargie et une propension aux saignements fréquents (Couto, 1985 ; Grindem *et al.*, 1985 ; Blue *et al.*, 1988).

#### ***D. Présentation clinique***

Les motifs de consultations recouvrent souvent un abattement marqué, une dysorexie voire une anorexie, une hyperthermie persistante inexplicée et des saignements des muqueuses. Plus rarement, l'animal est présenté pour troubles digestifs, respiratoires ou oculaires.

Le tableau clinique caractéristique d'un cas de leucémie aiguë comprend des signes non spécifiques comme une léthargie, une asthénie, un amaigrissement très rapide voir une cachexie, des signes traduisant les troubles hématologiques (anémie, déficit en plaquettes sanguines) de l'animal telles une coloration blanche de la peau et des muqueuses "blanc porcelaine", un purpura fréquent, des ecchymoses fréquentes, des épanchements sanguins articulaires (Morris *et al.*, 2001) et des signes oculaires (des hémorragies conjonctivales et rétinienne, des hyphémas), et des signes qui témoignent de l'envahissement de certains organes par les cellules tumorales : une hépatomégalie, une splénomégalie parfois massive, une lymphadénopathie souvent peu marquée (Fournel-Fleury *et al.*, 1992 ; Vail et Young, 2007), une infiltration rétinienne (Morris et Dobson, 2001) et des signes neurologiques (neuropathies, parésie). Le syndrome fébrile est constant dans le cas des LA ; il est dû à la libération par les cellules néoplasiques de substances pyrogènes endogènes, et est souvent aggravé par une sensibilité particulière de l'animal aux infections due à un état de déficit immunitaire (Fournel-Fleury *et al.*, 1992). L'animal peut néanmoins présenter une

hypothermie lorsque les propriétaires rapportent un abattement progressif depuis plusieurs jours à plusieurs semaines. D'autres symptômes concernant l'appareil urinaire (une polyurie associée à une polydipsie) (Vail et Young, 2007) et digestif (diarrhée, vomissements, borborygmes) (Rohrig, 1983) sont également décrits. Enfin, des infections secondaires à l'immunodéficience engendrée par la pancytopénie sont parfois observées et se traduisent souvent par des lésions cutanées (Morris, 2001).

La symptomatologie est variable selon le mode évolutif de la maladie (aiguë ou chronique) mais reste constante suivant les différents types de leucémies aiguës. On note cependant certaines particularités selon le sous-type de leucémies rencontré. On rapporte ainsi une tendance marquée aux saignements lors de LAM-M7 (touchant la lignée mégacaryocytaire) (Fournel-Fleury *et al.*, 1992).

## ***E. Diagnostic***

### **1. Diagnostic clinique**

Le diagnostic clinique de leucémie est clairement différent selon le mode évolutif de la maladie. Les leucémies aiguës se caractérisent au stade déclaré par une évolution galopante entraînant la mort de l'animal par insuffisance médullaire et/ou CIVD. Une dégradation brutale de l'état général de l'animal (datant de quelques jours à quelques semaines) associée à des signes cliniques sévères mais non spécifiques (évoqués précédemment) sont attribués aux troubles hématologiques, conséquences de la prolifération tumorale (tableau 6) (Dobson *et al.*, 2006 ; Presley *et al.*, 2006).

La gravité des signes cliniques ainsi que leur vitesse d'apparition permettent, dans certains cas, de distinguer précocement les deux principaux types de leucémies aiguës : en effet, les LAM sont plus agressives que les LAL et aboutiront à une dégradation plus rapide de l'état général de l'animal. En outre, les LAM prédisposent davantage à des infections généralisées (ou sepsis) et à des hémorragies incontrôlées dues au phénomène de CIVD. Les LAL sont, quand à elles, plus infiltrantes (notamment au niveau hépatique et splénique) (Dobson *et al.*, 2006).

Cependant, le diagnostic de leucémie aiguë est rarement définitif, ou même possible, si le clinicien se fonde uniquement sur la symptomatologie de l'animal. Une série d'examens d'investigation visant à explorer les compartiments sanguin et médullaire sont systématiquement effectués en cas de suspicion de LA. Ces examens permettent, sinon

d'effectuer le diagnostic de leucémie aiguë, au moins de le confirmer. En outre, ils se révèlent indispensables pour évaluer l'avancement de la maladie et apprécier son degré de gravité.

Tableau 6: Complications et signes cliniques des leucémies aiguës chez les carnivores domestiques (Dobson *et al.*, 2006).

<b>Complications</b>	<b>Signes cliniques</b>
<b>Cytopénie(s), conséquence de la myélophthisie :</b>	Léthargie
- <b>Anémie non régénérative</b>	Hyperthermie
- <b>Neutropénie</b>	Pétéchies, ecchymoses
- <b>Thrombocytopénie</b>	Saignements gingivaux
<b>CIVD</b>	Saignements généralisés
<b>Infiltrations organiques (notamment hépatique)</b>	Signes d'insuffisance hépatique : vomissement, diarrhée, amaigrissement
<b>Hypercalcémie</b>	Polyurie, polydipsie Anorexie, vomissements Bradycardie
<b>Hyperviscosité sanguine</b>	Signes neurologiques Signes oculaires (vaisseaux rétiniens de taille augmentée et tortueux) Signes d'insuffisance rénale

## **2. Hémogramme, frottis sanguin et analyses sérologiques**

Après avoir considéré les données historiques et cliniques, il convient d'effectuer une série de tests hématologiques et biochimiques afin d'étayer l'hypothèse leucémique et de détecter la présence de complications (Dobson *et al.*, 2006).

La réalisation d'un hémogramme est conseillée en premier lieu et permet de révéler la prolifération sanguine de la lignée tumorale (pouvant n'être pas détectable lors des phases subleucémique ou aleucémique) et la diminution des lignées sanguines saines

Dans le cas des LAL, la lymphocytose peut être très marquée ( $> 100.000$  cellules/mm<sup>3</sup>) ou discrète à normale ( $< 4.000$  cellules/mm<sup>3</sup>). Dès lors, il faut considérer l'évolution de cette lymphocytose dans le temps (il faut donc répéter les examens hématologiques) et ainsi exclure

toute lymphocytose (de 10.000 à 15.000 cellules/mm<sup>3</sup>) induite par une libération de catécholamines suite à un stress ou à une excitation [35]. La persistance d'une lymphocytose importante est un argument en faveur d'une LAL, cependant, il convient d'éliminer une maladie dont les signes cliniques généraux (abattement, vomissement, amaigrissement) pourraient évoquer une leucémie aiguë et qui provoque également une lymphocytose : il s'agit de l'hypoadrénocorticisme (encore appelé maladie d'Addison) [35]. Les numérations de lymphocytes observés sont généralement inférieurs à 10.000 cellules/mm<sup>3</sup>, et on peut écarter cette hypothèse en l'absence d'une hyponatrémie associée à une hyperkaliémie (rappelons qu'un ratio Na/K inférieur à 24 est en faveur d'une maladie d'Addison) (Stockham *et al.*, 2003; Médaille et Briend-Marchal, 2008). Les cas de stades V de lymphomes chez le chien sont parfois accompagnés d'une lymphocytose pouvant évoquer une LAL (Dobson *et al.*, 2006). Moins de 20% des cas de lymphomes canins sont accompagnés d'une lymphocytose (Vail et Young, 2007). Selon une étude réalisée sur 75 chiens atteints de lymphome, seulement huit d'entre eux présentaient une lymphocytose, et 30 étaient lymphopéniques (Madewell, 1986). La lymphocytose chez des chiens atteints de lymphomes était modérée, avec des numérations lymphocytaires comprises entre 10.000 et 20.000 cellules/mm<sup>3</sup>, et une moyenne bien inférieure à celles des LAL. D'une façon plus systématique, il faut considérer une lymphocytose supérieure à 20.000 cellules/mm<sup>3</sup> comme pathognomonique d'une LAL en début d'évolution (Couto, 2003 ; Presley *et al.*, 2006). Chez le chien, la LAL se distingue d'un stade V de lymphome par une lymphadénopathie très modérée à absente, et par une infiltration médullaire beaucoup plus sévère. En outre, il faut rappeler que le marqueur CD34 est exprimé par les cellules tumorales lors de LAL mais ne l'est pas en cas de lymphome (Dobson *et al.*, 2006). Le marqueur CD34 est uniquement exprimé par les cellules souches et par les cellules précurseurs (cellules non différenciées et situées très en amont dans le processus d'hématopoïèse) des lignées myéloïdes et lymphoïdes (Villiers *et al.*, 2006).

Tableau 7: Différences entre leucémies aiguës lymphoblastiques et stades V de lymphome canin (Dobson *et al.*, 2006).

<b>Signes cliniques</b>	<b>LAL</b>	<b>Lymphome stade V</b>
<b>Cytopénie</b>	Sévère	Modérée
<b>Lymphocytose</b>	Sévère à très sévère	Modérée
<b>Lymphadénopathie</b>	Modérée	Marquée
<b>Hépatosplénomégalie</b>	Présente	Présente
<b>Etat général</b>	Dégradation marquée	Souvent bon
<b>CD34</b>	Positif	Négatif

LAL : leucémie aiguë lymphoblastiques.

L'examen du frottis sanguin est indissociable du recueil des données chiffrées de l'hémogramme et fournit, selon l'analyse avertie du biologiste ou l'œil attentif du clinicien, des informations précieuses sur le diagnostic du type de leucémie. Dans les cas de leucémies aiguës, le frottis est caractérisé par un nombre important de cellules d'aspect blastique (absence de différenciation). En cas d'anémie (accompagnant très fréquemment les leucémies aiguës), le frottis doit être lu avec attention afin d'écarter les hypothèses infectieuses de certains parasites érythrocytaires tels *Hemobartonella* ou *Ehrlichia* (Feldman *et al.*, 2000). Le diagnostic différentiel des infections bactériennes comprend également les rickettsioses qui sont à l'origine d'anémies parfois sévères (s'accompagnant cliniquement par l'apparition de pétéchies sur des muqueuses très pâles associées à un abattement et un amaigrissement prononcés). Pour compléter les recherches d'agents infectieux, il convient d'effectuer des tests sérologiques (ELISA ou IFA) afin d'isoler certains rétrovirus, notamment dans l'espèce féline chez laquelle le FIV et le FeLV expliquent souvent la survenue des leucémies (Feldman *et al.*, 2000).

Les lymphoblastes observés en cas de LAL sont distinguables des lymphocytes normaux (contrairement aux cellules tumorales des leucémies lymphoïdes chroniques). Ces cellules sont deux à trois fois plus grandes que les cellules lymphoïdes normales, présentent un noyau légèrement indenté, une chromatine immature mouchetée, un à plusieurs nucléoles et un cytoplasme basophile (Cowell et Tyler, 1989 ; Presley *et al.*, 2006). En revanche, la distinction entre LAM et LAL est très difficile à l'aide du frottis sanguin. En effet, les cellules tumorales de ces deux types de leucémies sont au stade de blastes et morphologiquement très proches (Grindem *et al.*, 1986). En revanche, les marquages cytochimiques permettent de faire cette distinction.

Néanmoins, l'observation des cellules blastiques suite à un prélèvement sanguin, une aspiration de moelle osseuse ou d'autres organes (tels le foie ou la rate), et après coloration (coloration standard de Romanowsky ou MGG), suffit parfois à différencier certaines lignées cellulaires. Dans le cas des LAM, outre les myéloblastes, des progranulocytes contenant des granulations azurophiles caractéristiques sont présents. Les noyaux des blastes des leucémies LAM-M4 sont polymorphes et souvent ronds ou lobés, et le cytoplasme peut contenir de très grandes granulations azurophiles. Les blastes des leucémies mégacaryoblastiques (M7) peuvent contenir des vacuoles et présenter des bourgeonnements cytoplasmiques. Des plaquettes de taille anormalement élevée et de forme inhabituelle peuvent être présentes. Cependant, l'observation de ces particularités est souvent inconstante, rendant le recours au marquage cytochimique ou à l'immunophénotypage incontournable. De surcroît, plusieurs études rétrospectives (Young et MacEwen, 2007) rapportent une modification diagnostique après la réalisation de marquages cytochimiques. La distinction essentielle restant celle opposant LAM et LAL afin de fournir des informations pronostiques.

Les analyses biochimiques permettent de détecter les complications paranéoplasiques, notamment l'hypercalcémie, la CIVD ainsi que les déficiences organiques. Ces dernières étant souvent les conséquences de l'infiltration de l'organe par les cellules tumorales. Le taux de calcium sanguin peut aider au diagnostic de leucémie aiguë, cependant, la calcémie reste modérée dans le cas des leucémies aiguës primaires. L'hypercalcémie est également rencontrée en cas d'hypoadrénocorticisme chez le chien (maladie présentant des signes cliniques proches de ceux des LA) et survient dans 20 à 40% des cas de lymphomes (Dhaliwal *et al.*, 2003).

Une hyperprotéïnémie associée à une hyperalbuminémie sont souvent rencontrées notamment lors des LAM (Comazzi *et al.*, 2000 ; Mylonakis *et al.*, 2008). Le foie est souvent un des premiers organes affectés par la leucémie ; l'augmentation des paramètres biochimiques hépatiques tels que les ALAT, les PAL et les  $\gamma$ GT traduisant l'atteinte de cet organe. Il convient également d'évaluer la fonction hémostatique pouvant être altérée en cas de CIVD et d'atteinte hépatique (notamment chez le chat) ; cela inclut la réalisation des temps de coagulation, de tests de coagulation sur lame, et, dans le cas d'une suspicion de CIVD, le dosage des produits de dégradation de la fibrine (PDF) et de la fibrine (D-dimères) (Dobson *et al.*, 2006).

Le recours à l'imagerie médicale (radiographie thoracique et échographie abdominale) est indiqué dans la recherche d'infiltration néoplasique d'organes tels que le foie, la rate et les poumons (Dobson *et al.*, 2006).

### 3. Myélogramme

#### *a) Techniques de ponction de moelle osseuse et critères d'utilisation*

Le prélèvement de moelle osseuse et son analyse sont réalisés dans un second temps de la démarche diagnostique, suite aux données anormales et persistantes de l'hémogramme. L'aspiration de moelle osseuse est la technique la plus couramment utilisée, cependant, la biopsie médullaire peut être nécessaire si on suspecte une aplasie médullaire, une hypoplasie médullaire ou une myélofibrose (Feldman *et al.*, 2000). Certaines études recommandent d'effectuer ces deux techniques de façon concomitante (Harvey, 1984 ; Couto, 1985 ; Dunn, 1990 ; Morris *et al.*, 1993), cependant, le statut clinique de l'animal, souvent critique en cas de LA, doit être pris en compte avant d'envisager ces examens qui nécessitent une anesthésie de l'animal. Il y a peu de complications suite aux aspirations et aux biopsies médullaires. Les risques d'infections sont minimisés par l'utilisation d'une technique opératoire la plus stérile possible ; des hémorragies, même en cas de thrombocytopénie avérée, sont rarement observées.

La ponction de moelle osseuse hématopoïétique doit être réalisée dans l'os spongieux. Les sites de prélèvements sont fonction de la taille de l'animal. Ainsi, les lieux d'élection possibles sont les suivants :

- les crêtes iliaques chez les grands chiens et les chats, ce prélèvement fournit les résultats d'une qualité la plus constante ;
- la fosse trochanterienne pour les chats, les chiens de petite race et les animaux jeunes n'ayant pas atteint leur taille adulte ;
- la tête humérale chez le chien et le chat ;
- les 3<sup>ème</sup> et 5<sup>ème</sup> sternèbres chez les jeunes chiens de grande taille ;
- les jonctions chondrocostales (7<sup>ème</sup> et 9<sup>ème</sup> cotes) chez les chiens de grande race (Magnol *et al.*, 2001 ; Grindem *et al.*, 2002).

La ponction de moelle osseuse ne nécessite pas d'anesthésie générale chez le chien, une sédation et une anesthésie locale suffisent. En revanche, l'anesthésie générale est

systematique chez le chat (Magnol *et al.*, 2001). Le matériel nécessaire au prélèvement inclut un trocart de Mallarmé (18/10<sup>ème</sup>, 15/10<sup>ème</sup> pour les chiens et 12/10<sup>ème</sup> pour les chats), une aiguille et une seringue de 10 ml à usage unique, une lame de scalpel et une paire de ciseaux mousse. Tout ce matériel doit être stérile (Magnol *et al.*, 2001). L'étalement du prélèvement requiert une dizaine de lame lavées et dégraissées.

La zone d'élection est tondue et préparée de manière chirurgicale afin de réunir les conditions d'asepsie. Puis 1,5 à 3 ml d'anesthésique local sont injectés dans la peau, les tissus sous-cutanés et sous le périoste au niveau du site de cytoponction (Grindem *et al.*, 2002). Après avoir repéré le site de ponction par palpation digitée, la peau est incisée à la lame sur un centimètre et les tissus mous sont disséqués jusqu'au périoste. Le trocart est positionné à la surface selon l'angulation optimale : pour la crête iliaque, l'angle est de 45° vers l'avant, médialement, afin d'éviter la fosse iliaque (Grindem *et al.*, 2002). Puis une pression modérée est appliquée et l'ensemble trocart-mandrin est enfoncé progressivement, sans changement d'axe, en tournant le trocart dans le sens anti-horaire. Il est normal de constater une résistance importante, en revanche, il n'existe pas chez le chien de sensation de crissement ni de rupture nette de la table osseuse comme on peut le retrouver chez l'homme. L'accès à la cavité médullaire peut être associé à une diminution de la résistance, même si cette impression n'est pas évidente lors de prélèvement dans la crête iliaque (Magnol *et al.*, 2001). Lorsque le trocart se trouve dans la cavité médullaire, le mandrin est retiré et la seringue est solidarisée au trocart ; plusieurs aspirations brutales sont alors effectuées pour décoller les grains de moelle, jusqu'à l'aspiration de quelques gouttes de moelle. La plupart des animaux manifestent des signes de douleur lors de ces aspirations brusques. En cas d'échec à la première tentative, on peut retirer la seringue, renfoncer le trocart et avancer un peu le trocart. Si les aspirations restent infructueuses, il faut retirer la seringue et le trocart, et vérifier que celui-ci n'est pas obstrué par un fragment osseux ; l'ensemble trocart-mandrin est alors réimplanté en un lieu voisin. Une fois la moelle obtenue, l'ensemble trocart-mandrin est retiré doucement par mouvements de rotation et la peau est suturée (Magnol *et al.*, 2001).

L'avantage principal de la technique d'aspiration de moelle osseuse par rapport à la biopsie consiste en la possibilité d'évaluer individuellement la morphologie des cellules (Evans et Gorman, 1987 ; Cowell et Tyler, 1989) : les techniques de marquage cytochimiques ou immunologiques peuvent ainsi être menées sur ce type de prélèvement mais sont peu disponibles en France. Cependant, l'aspiration médullaire, contrairement à la biopsie, peut ne pas refléter la véritable cellularité de la moelle osseuse, notamment en ce qui concerne les mégacaryocytes. La biopsie retranscrit plus fidèlement les relations anatomiques du

compartiment médullaire et révèle ainsi d'une meilleure façon les différentes lésions de la moelle osseuse (fibrose, amyloïdose, aplasie ou hypoplasie médullaire) (Feldman *et al.*, 2000).

#### *b) Interprétation du myélogramme*

L'argument diagnostique incontournable et définitif des leucémies aiguës se trouve dans leur définition, et est fourni par le myélogramme : le diagnostic de LA est fixé lorsque le pourcentage de blastes médullaire dépasse 30% de l'ensemble des cellules présentes dans le prélèvement effectué. Suivant la classification FAB, utilisée il y a encore quelques années en médecine humaine, l'ALSG précise que le diagnostic de LA est valable si ce même taux de cellules blastiques est retrouvé dans la moelle osseuse et/ou dans le sang . Plus récemment, ce pourcentage a été revu à la baisse par la WHO (il est désormais fixé à 20% de blastes parmi les ANC) sur la base d'observations cliniques : certaines pathologies caractérisées par une dysplasie médullaire (classées parmi les "MDS à anémie réfractaire accompagnés d'un excès de blastes") et par un taux de blastes compris entre 20% et 30% se révélèrent aussi agressives qu'un sous-type de LAM ("LAM à dysplasie touchant plusieurs lignées" appartenant à la nouvelle classification établie en médecine humaine), cela signifiant que ces deux pathologies doivent être considérées comme une seule (Arber *et al.*, 2003). Cependant, des anomalies cytogénétiques ainsi que des différences de comportement face au traitement, font de ces deux pathologies deux entités à part entière (Meckenstock *et al.*, 1998), et la WHO a ainsi modifié l'intervalle de taux de blastes médullaires (compris entre 10% à 19%) définissant les MDS à anémie réfractaire accompagnés d'un excès de blastes.

Le myélogramme révèle son utilité notamment en cas de leucémies aleucémique et subleucémique, lorsque peu ou pas de cellules blastiques sont présentes dans le sang. En outre, en cas de suspicion de LAL, il est vivement conseillé de réaliser un myélogramme en cas de cytopénie ou en cas de lymphocytose (à partir de 14.000 cellules/mm<sup>3</sup>) durable. Néanmoins, certaines sources assurent que le myélogramme peut ne pas être indispensable si l'examen du frottis sanguin est suffisamment univoque, surtout dans l'espèce canine lorsque la lymphocytose est particulièrement marquée (Grindem *et al.*, 2002).

Déterminer la lignée des blastes médullaires, dans le cas de leucémies aiguës, à l'aide de leurs seules caractéristiques morphologiques n'est que très rarement possible. Le recours à d'autres techniques telles le marquage histochimique de la moelle, l'immunophénotypage

(analysant les antigènes de surface des cellules néoplasiques) est donc incontournable. Il faut également rappeler que l'examen du myélogramme peut ne pas être suffisant pour distinguer une LAL d'un lymphome stade V (Grindem, Neel et al. 2002; Presley, Mackin et al. 2006). Des lymphocytes mûres de petite taille sont observés sur le myélogramme de sujets sains, dans des proportions n'excédant pas 10% des ANC ; le taux de lymphocytes mûres reste inférieur à 5% des ANC dans la majorité des cas (Grindem *et al.*, 2002). En revanche, leur augmentation (> 30%) au sein de la moelle osseuse évoquerait une LLC. L'architecture de la moelle osseuse se trouve également modifiée. Au cours des premières phases des LAL, la moelle est infiltrée ponctuellement, puis d'une manière plus générale au fur et à mesure qu'apparaît la pancytopenie. La survenue d'une pancytopenie est due à la combinaison de trois facteurs : l'épuisement des nutriments captés par les cellules néoplasiques, l'encombrement stérique du compartiment médullaire, et la diminution de la vascularisation de la moelle osseuse .

L'ALSG recommande de suivre les critères établis au cours de leur étude (datant de 1991) qui proposait de vérifier si les règles de la classification humaine des LAM étaient applicables aux modèles canin et félin (Jain *et al.*, 1991). Des prélèvements de sang et de moelle osseuse sont nécessaires, et 200 cellules sont comptées afin de déterminer le pourcentage de chacun des leucocytes sanguins et le pourcentage de blastes présents dans le compartiment médullaire et sanguin. Dans la moelle osseuse, le nombre de blastes est reporté à celui des ANC et des NEC, puis caractérisés à l'aide de marqueurs cytochimiques (Feldman *et al.*, 2000). La différenciation neutrophilique est identifiée à l'aide d'une coloration positive des blastes au noir Soudan B, aux peroxydases et à la chloracétate estérase. La lignée monocytaire est marquée par des estérases non spécifiques (alpha-naphtaline acétate estérase ou alpha-naphtaline butyrate estérase), surtout lorsque celles-ci sont inhibées par le fluorure de sodium ; dans l'espèce canine, les cellules de la lignée monocytaire peuvent également contenir quelques granulations positives aux peroxydases. L'acétylcholinestérase est un marqueur des mégacaryocytes chez le chien et le chat. En outre, un immunomarquage positif au facteur de Von Willebrandt (facteur VIII) et aux glycoprotéines à la surface des blastes permet d'identifier les précurseurs des mégacaryocytes (Bolon *et al.*, 1989 ; Messick *et al.*, 1990). Les phosphatases alcalines ne marquent que rarement les cellules normales chez le chien et le chat, et des réactions positives à ce marqueur ont été rapportées dans des cas de leucémies myéloïdes M1, M2 et M4. Cependant, des résultats positifs suite à l'utilisation de ce marqueur dans la recherche de LAL canines, conduisent à émettre des réserves quant à sa

spécificité. Enfin, l'oméga-exonucléase et la chloracétate estérase sont des marqueurs spécifiques de la lignée basophile (en cas de M2) (Mears *et al.*, 1997). Les différents taux cellulaires et blastiques évoqués ci-dessus sont ensuite interprétés (schéma 5).

Figure 18: Classification des leucémies myéloïdes et des MDS à l'aide des résultats du myélogramme (Jain *et al.*, 1991).

Pourcentage de cellules appartenant à la lignée érythroïde au sein de la moelle osseuse					
< 50%			> 50%		
Blastes médullaires (parmi les ANC)		Blastes médullaires (parmi les NEC)		Blastes médullaires incluant les rubriblastes (parmi les ANC)	
< 30%	> 30%	> 30%	< 30%	< 30%	> 30%
MDS LMC	LAI LAM	M6	MDS-Er		M6Er

ANC : total des cellules nucléées présentes dans la moelle osseuse ; LAI : leucémie aiguë indifférenciée ; LAM : leucémie aiguë myéloïde (M1 à M5 et M7) ; LMC : leucémie myéloïde chronique ; MDS : syndrome myélodysplasique ; MDS-Er : syndrome myélodysplasique à prédominance érythroïde ; M6 : leucémie aiguë érythroïde ; M6Er : leucémie aiguë érythroïde à prédominance érythroïde.

## 4. Marquages cytochimiques

### *a) Conditions générales du marquage des cellules néoplasiques*

La première étape dans l'identification et la classification des tumeurs du système s'appuie sur les caractéristiques morphologiques des cellules néoplasiques (blastés et/ou cellules faiblement différenciées). Cette première investigation est souvent suivie par des tests plus spécifiques afin de connaître le type cellulaire concerné par la prolifération. Les cellules non distinguables morphologiquement ont davantage de chance d'être identifiées après marquage cytochimique. L'utilisation de marqueurs cytochimiques affine très souvent le diagnostic et modifie parfois les résultats de l'identification morphologique initiale (Jain *et al.*, 1991 ; Jain, 1993).

Le principe général du marquage cytochimique repose sur la reconnaissance d'enzymes ou de molécules présentes dans les cellules tumorales, et que l'on retrouve à l'identique chez les cellules d'individus sains. Cependant, quelques modifications relatives aux altérations de développement des cellules tumorales peuvent survenir (Cohn *et al.*, 1987). En outre, il convient d'utiliser un panel de marqueurs (plutôt qu'un ou deux) afin de contourner d'éventuelles divergences pouvant survenir entre les cellules néoplasiques et les cellules saines appartenant à une même lignée. Les limites des marquages cytochimiques sont atteintes lorsque les divergences entre cellules tumorales et cellules saines ne permettent pas d'effectuer un marquage correct, mais reposent aussi sur la faible disponibilité de certains marqueurs, notamment ceux de la lignée lymphoïde. Le diagnostic immunologique reste la seule alternative (Weiss, 2001).

En général, les cellules lymphoïdes ne sont marquées qu'avec une faible quantité de marqueurs, et une coloration négative ne confirme pas automatiquement l'hypothèse de LAL mais permet d'envisager plus sérieusement une LAI (Feldman *et al.*, 2000). D'une façon plus systématique, le diagnostic cytochimique des LAL se fait par exclusion (exclusion de l'origine myéloïde). L'intensité du marquage est très souvent faible voire absente dans le cas des cellules non différenciées ; ceci est dû au faible nombre d'enzymes et/ou de constituants cellulaires contenus dans le cytoplasme, les lysosomes et la membrane cellulaire. En revanche, certaines enzymes (les myéloperoxydases contenues dans les granulations des granulocytes, par exemple) sont parfois davantage présentes à des stades primitifs de la maturation (Feldman *et al.*, 2000). Un principe fondamental dans la compréhension des

marquages cytochimiques est qu'un résultat positif est bien plus interprétable d'un marquage négatif : ce test possède donc une bonne valeur prédictive positive.

Outre l'intensité du marquage, la répartition cellulaire du marquage a une portée diagnostique. La coloration des lymphocytes T par les estérases non spécifiques est localisée et discrète, cela permet de les distinguer des cellules non lymphoïdes dont le marquage est beaucoup plus diffus (Feldman *et al.*, 2000).

Le critère d'espèce est également à prendre en compte : toutes les réactions de marquage ne sont pas communes à toutes les espèces. Dans l'espèce féline, par exemple, les éosinophiles ne sont marqués ni par les peroxydases (PER) ni par le noir Soudan B (SBB), contrairement aux autres espèces (Facklam et Kociba, 1986).

Un autre facteur intervient dans la validité des résultats des colorations obtenues. Le pourcentage de blastes médullaires doit être suffisant pour valider le résultat de la coloration : il doit être supérieur à 3%. Dans le cas du SBB et des myéloperoxydases, le pourcentage de blastes médullaires marqués doit être supérieur à 3% afin d'établir le diagnostic de LAM-M0 ou de M1 (Bennett *et al.*, 1995). Dans tous les cas, il est préférable de compter 200 cellules médullaires pour éviter toute erreur d'estimation.

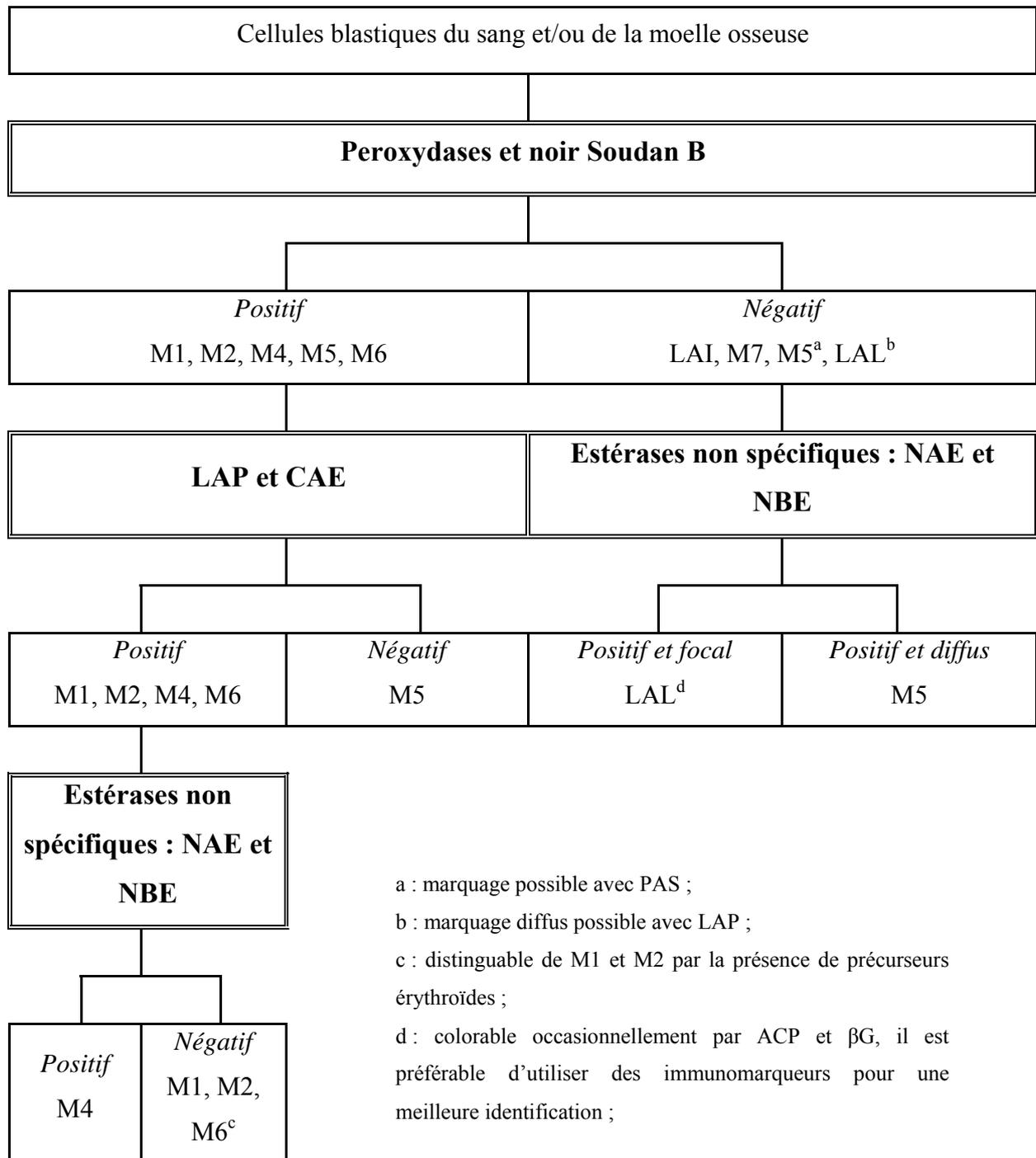
La cytochimie est applicable à d'autres tissus hématolymphopoïétiques, outre le sang et la moelle osseuse, tels que les nœuds lymphatiques, la rate, le foie (frais, congelés ou ayant subi une inclusion en résine) (Beckstead, 1983 ; Feldman *et al.*, 2000).

### *b) Principaux marqueurs des leucémies aiguës*

L'utilisation des marqueurs cytochimiques est une aide précieuse dans le diagnostic des leucémies aiguës. Cependant, en cas d'échec de la cytomorphologie et de la cytochimie dans l'identification des blastes médullaires (et/ou sanguins), le recours à la microscopie électronique, surtout évoqué au début des années 1991, et plus récemment à l'immunophénotypage constituent une option déterminante dans la démarche diagnostique.

L'algorithme permettant d'identifier les leucémies aiguës suivant les résultats des marquages cytochimiques est représenté ci-dessous (schéma 6).

Figure 19: Algorithme permettant de distinguer les différentes LA à l'aide de marqueurs cytochimiques (Feldman *et al.*, 2000).



LAP : leucocyte alcaline phosphatase ; CAE : chloracétate estérase ; NAE : naphthaline acétate estérase ; NBE : naphthaline butyrate estérase ; ACP : phosphatase acide ; βG : béta glucuronidase ; PAS : acide périodique de Schiff.

## 5. Immunophénotypage

### *a) Principe de l'immunophénotypage*

L'immunophénotypage est une technique relativement récente qui a été développée pour déterminer l'appartenance de cellules à une lignée précise. Ces dix dernières années, cette technique devint de plus en plus facilement disponible et fut appliquée en médecine vétérinaire en tant qu'outil de classification des différents types de leucémie [35]. Cette technique repose sur le fait que les cellules néoplasiques conservent un assortiment antigénique identique à celui de leur équivalent sain. L'immunophénotypage est capable de détecter l'expression antigénique spécifique à certains leucocytes par l'utilisation d'un panel d'anticorps, et ainsi de déterminer précisément le phénotype puis la lignée des cellules tumorales (Vernau et Moore, 1999). Cette technique peut être réalisée sur la base de différents prélèvements (sections tissulaires, frottis, cellules en suspension), et grâce à la cytométrie en flux (à partir de prélèvement de sang ou de moelle osseuse).

### *b) Technique de cytométrie en flux*

La cytométrie en flux est une technique permettant de faire défiler à grande vitesse des particules, molécules ou cellules dans le faisceau d'un laser. La fluorescence réémise permet de classer la population suivant plusieurs critères et de les trier. Les signaux mesurés sont essentiellement relatifs :

- aux propriétés optiques intrinsèques des particules qui correspondent aux phénomènes de diffusion lumineuse liés aux dimensions de la particule, à leur structure interne ou à l'auto-fluorescence de certaines cellules (comme les végétaux, le phytoplancton...);
- aux propriétés optiques induites de la fluorescence obtenue par des marquages spécifiques de structures ou de fonctions cellulaires.

Ces signaux séparés par des filtres optiques sont collectés par des photomultiplicateurs, amplifiés, numérisés, traités et stockés par ordinateur. Ce procédé d'analyse individuelle (cellules par cellules) est multiparamétrique et peut s'effectuer à la vitesse de plusieurs milliers d'évènements par seconde. L'ordinateur calcule les données statistiques associées aux distributions des paramètres mesurés et les représente sous la forme d'histogramme (un paramètre) ou de cytogrammes (deux paramètres) sur une ou plusieurs populations dont les propriétés cellulaires sont ainsi évaluées.

La fonction tri des cytomètres en flux les plus évolués permet de trier physiquement une ou deux populations cellulaires définies par leurs propriétés optiques (Mis à jour le 8 septembre 2009, consulté le 11 septembre 2009).

### *c) Utilisation et intérêt de l'immunophénotypage*

Les marquages cytochimiques sont couramment utilisés pour identifier les leucémies, mais cette technique comporte néanmoins certains obstacles. Ainsi, la faible disponibilité de certains marqueurs et la démarche diagnostique par défaut (utilisé notamment pour la détection des cas de LAL) sont autant de limites à l'utilisation de cette technique de marquage. De surcroît, une étude montra que plus de 20% des diagnostics de leucémie humaine effectués à l'aide de marquages cytochimiques différaient du diagnostic immunologique (Kheiri *et al.*, 1998).

La technique d'immunophénotypage permet donc une identification efficace des antigènes de surface des cellules (matures et blastiques) grâce à des anticorps spécifiques (les anticorps utilisés sont des anticorps monoclonaux). Les antigènes identifiés par des groupes d'anticorps sont des indicateurs du stade de différenciation de la cellule qui les porte, et se sont vu attribuer une appellation propre ("cluster of differentiation" ou CD). Les anticorps monoclonaux permettent de différencier les lymphocytes T et B, les monocytes, les granulocytes ainsi que leur précurseurs, et également les précurseurs des thrombocytes. En médecine humaine, plus de 200 antigènes de surface ont été identifiés par des anticorps. Ces antigènes sont identifiés via une numérotation débutant à CD<sub>1</sub> et allant au-delà de CD<sub>200</sub> ; il existe aussi des familles d'antigènes (exemple CD<sub>1a</sub>, CD<sub>1b</sub>). Différentes études expérimentales ont été menées afin d'identifier les différents CD d'espèces animales (tableau 8).

La distinction fondamentale entre leucémies aiguës et leucémies chroniques est possible grâce à cette technique (par l'intermédiaire de l'anticorps reconnaissant le marqueur cellulaire CD<sub>34</sub>). En effet, CD<sub>34</sub> est uniquement exprimé par les cellules souches et les cellules précurseurs, et non par les cellules matures (Feldman *et al.*, 2000 ; Dobson *et al.*, 2006; Presley *et al.*, 2006). Les leucémies aiguës (CD<sub>34</sub> positives) peuvent être différenciées des leucémies chroniques (CD<sub>34</sub> négatives) et des lymphomes stade V (également CD<sub>34</sub> négatifs) (Vernau et Moore, 1999 ; Workman et Vernau, 2003). De la même manière, et comme évoqué précédemment, les différentes lignées cellulaires peuvent être identifiées ; par exemple, l'antigène CD<sub>3</sub> permet de classer les lymphocytes T, alors que les lymphocytes B sont identifiés grâce aux CD<sub>79</sub> et CD<sub>21</sub> [35] ; les mégacaryoblastes, quant à eux, expriment toujours

CD<sub>41</sub>, ils peuvent également être identifiés par CD34 car ils l'expriment dans 20 à 70% des cas (Suter *et al.*, 2007).

Tableau 8: Résumé des différents antigènes CD identifiés en médecine vétérinaire (Feldman *et al.*, 2000).

Antigènes	Espèce canine	Espèce féline	Distribution
CD <sub>1</sub>	-	X	Thymocytes corticaux, cellules dendritiques, cellules de Langerhans, pré-lymphocytes B ;
CD <sub>4</sub>	X	X	Lymphocytes T helper, monocytes, macrophages ;
CD <sub>5</sub>	X	X	Lymphocytes T, pré-lymphocytes B ;
CD <sub>8</sub>	X	X	Lymphocytes T cytotoxiques ;
CD <sub>9</sub>	-	X	Thrombocytes, monocytes, pré-lymphocytes B ;
CD <sub>11a</sub>	X	-	Leucocytes ;
CD <sub>11b</sub>	X	-	Granulocytes, monocytes, NK ;
CD <sub>11c</sub>	X	-	Granulocytes, monocytes, NK, pré-lymphocytes T, pré-lymphocytes B ;
CD <sub>21</sub>	X	X	Lymphocytes B ;
CD <sub>25</sub>	-	X	Lymphocytes T activés ;
CD <sub>34</sub>	X	X	Cellules souches et cellules précurseurs hématolymphopoïétique ;
CD <sub>41/61</sub>	X	-	Thrombocytes, mégacaryocytes ;
CD <sub>44</sub>	X	-	Leucocytes, érythrocytes ;
CD <sub>45</sub>	X	X	Leucocytes ;
CD <sub>45R</sub>	X	-	Lymphocytes B, pré-lymphocytes T ;
CD <sub>49</sub>	X	-	Lymphocytes B, pré-lymphocytes T, monocytes, thrombocytes ;
CD <sub>69</sub>	X	-	Lymphocytes T et B activés, NK.

CD : cluster of differentiation ; NK : cellules natural killer.

Le but de l'immunophénotypage est de fournir une méthode fiable et reproductible utilisée lors du diagnostic des cancers du système hématolymphopoïétique. Dans le cas des LA, le diagnostic est fondé sur l'identification immunologique des molécules de surfaces des cellules immatures prolifératives. En médecine vétérinaire, l'application de cette technique est

en plein essor et sera complétée par l'utilisation de plus en plus fréquente de la cytométrie en flux, technique déjà largement employée en médecine humaine (Feldman *et al.*, 2000).

Une étude portant sur 39 cas de LAM humaines a démontré que 89% de ces cas ont pu être caractérisées précisément (la lignée myéloïde de ces LAM a pu être clairement identifiée) grâce aux marquages cytochimiques, mais le recours à l'immunophénotypage par cytométrie en flux fut obligatoire dans 11% des cas (Kheiri *et al.*, 1998). En outre, 2 des 9 leucémies biphénotypiques (lymphoïde et myéloïde) furent reconnues grâce aux marquages cytochimiques.

La plupart des anticorps monoclonaux disponibles sont destinées aux espèces humaine et murine, mais des adaptations à d'autres espèces animales (notamment l'espèce canine) ont été étudiées (Kheiri *et al.*, 1998) et des réactions croisées ont été démontrées (Cobbold et Metcalfe, 1994 ; Weiss, 2001 ). D'autres études ont développé des anticorps monoclonaux spécifiques des différentes lignées leucocytaires dans l'espèce canine, et sont aujourd'hui jugés fiables en temps qu'outil diagnostique (Danilenko *et al.*, 1992 ; Vernau et Maure, 1999).

En médecine humaine, un panel standard d'anticorps monoclonaux est réalisé pour évaluer tous les patients en cas de leucémie (McManus, 2005). Un panel comparable a été établi par le MNS (Myeloid Neoplasm Subcommittee) de l'ACPV (American College of Veterinary Pathologists) Oncology Committee.

Tableau 9: Marqueurs immunophénotypiques standards des leucémies en médecine humaine (McManus, 2005 ; Feldman *et al.*, 2000).

Type cellulaire	Marqueurs
<b>Précurseurs hématopoïétiques</b>	CD <sub>34</sub> , HLA-Dr, TdT, CD <sub>45</sub>
<b>Lymphocyte B</b>	CD <sub>19</sub> , CD <sub>20</sub> , CD <sub>22</sub> , CD <sub>79a</sub>
<b>Lymphocyte T</b>	CD <sub>2</sub> , CD <sub>3</sub> , CD <sub>5</sub> , CD <sub>7</sub>
<b>Myéloïde</b>	CD <sub>13</sub> , CD <sub>14</sub> , CD <sub>33</sub> , CD <sub>15</sub> , MPO, CD <sub>117</sub>
<b>Mégacaryoblastique</b>	CD <sub>41</sub> , CD <sub>6</sub>

HLA-Dr : complexe majeur d'histocompatibilité de classe II ; TdT : terminale déoxynucleotidyle transférase.

Certains anticorps monoclonaux ne peuvent pas être adaptés à la technique de cytométrie en flux. Par exemple, les mégacaryoblastes peuvent être reconnus par l'identification de CD<sub>41</sub> (GPIIb) et/ou CD<sub>61</sub> (GPIIb-GPIIIa), mais ne peuvent pas l'être par la technique de cytométrie en flux. Une interférence, créée par les résidus de fragments

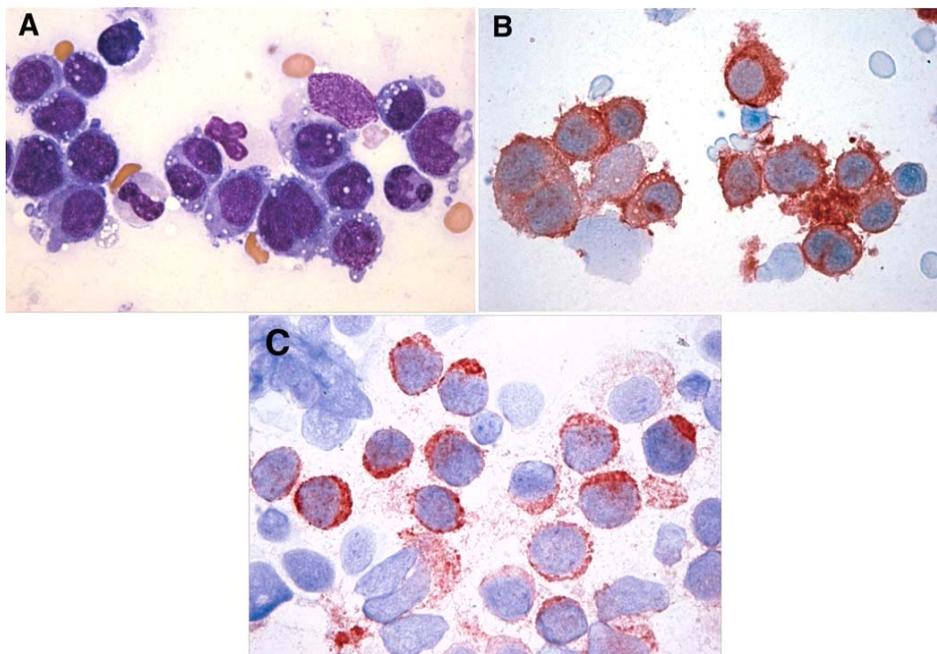
plaquettaires accumulés à la surface des cellules, induit des faux positifs (Brunnings *et al.*, 2001).

Tableau 10: Panel d'immunophénotypage recommandé pour l'identification des lignées cellulaires des leucémies aiguës chez les carnivores domestiques (McManus, 2005, Villiers *et al.*, 2006).

Type cellulaire	Marqueurs
<b>Lymphocyte B</b>	CD <sub>79a</sub> , CD <sub>21</sub> , CD <sub>34</sub>
<b>Lymphocyte T</b>	CD <sub>3</sub> , CD <sub>5</sub> , CD <sub>24</sub> , CD <sub>8</sub> , ±CD <sub>4</sub> , CD <sub>34</sub>
<b>M1</b>	MPO, CD <sub>11a-c</sub> , CD <sub>4</sub> , NSA, MAC-387, CD <sub>34</sub>
<b>M4</b>	NSA, CD <sub>14</sub> , CD <sub>11a-c</sub> , MAC-387, MPO, CD <sub>34</sub>
<b>M5</b>	CD <sub>14</sub> , MAC-387, CD <sub>11a-c</sub> , CD <sub>34</sub>
<b>Mégacaryoblastique</b>	CD <sub>41</sub> , CD <sub>34</sub>

NSA : neutrophil-specific antibody ; MAC : mouse antihuman macrophage antibody.

Figure 20: Exemple de marquages immunocytochimiques à partir de prélèvement de moelle osseuse provenant d'un chien atteint de LAM-M7 (Suter *et al.*, 2007).



**A** : La moelle osseuse est largement envahie par des cellules néoplasique de forme anormale (coloration MGG, objectif 60), deux marquages immunocytochimiques ont été réalisés : les antigènes CD<sub>41</sub> ont été marqués sur la photo **B**, les antigènes CD<sub>34</sub> ont été marqués sur la photo **C**. Toutes les cellules expriment l'antigène CD<sub>41</sub> et une grande majorité d'entre elles expriment CD<sub>34</sub>. Par ailleurs, les marquages pour d'autres types d'antigènes se révélèrent être négatifs.

## 6. Cytogénétique

La cytogénétique a été utilisée en médecine humaine afin d'établir, à l'aide des données d'immunophénotypage des cellules néoplasiques, une classification des leucémies lymphoblastiques. A partir de ces résultats, une classification des risques a été créée chez des enfants de 1 à 9 ans atteints de LAL à cellules précurseurs des lymphocytes B et répondant à certaines conditions (taux de leucocytes inférieur à  $50.000 \text{ cellules/mm}^3$ , hyperdiploïdie, réarrangement chromosomique) (Pui et Evans, 1998). Suivant les variations de certains critères (notamment les réarrangements chromosomiques) les patients présentaient des taux de survie différents à 5 ans. Les données cytogénétiques comportent non seulement des informations permettant de classer les leucémies, mais également des données concernant le pronostic et la nature du traitement à mettre en place (McManus, 2005).

La réalisation d'un caryotype dans l'espèce canine est difficile en raison de la grande similitude morphologique des chromosomes, de la haute diploïdie de cette espèce ( $2n=78$ ) et de la résistance des chromosomes à la technique de marquage en bande (Reimann *et al.*, 1996). Une étude portant sur 6 cas de LAM, un cas de LMC et 3 cas de LAL, des anomalies chromosomiques furent constatées chez 9 des 10 chiens étudiés. Ces anomalies incluaient une hyperdiploïdie (c'est-à-dire la présence d'un ou de plusieurs chromosomes en plus du nombre normal diploïde de chromosomes), des chromosomes extra-métacentriques et une tétraploïdie (génome à  $4n$  chromosomes) (Grindem et Buoen, 1986). Cette étude ne révéla pas d'association entre ces anomalies et le type de leucémie ou même l'évolution de la maladie. Un unique cas de trisomie 1 et  $t(x;8)$  (c'est-à-dire une translocation entre le chromosome 8 et X) chez un chien atteint de LAM a été rapporté (Reimann *et al.*, 1998). Les anomalies chromosomiques des tumeurs lymphoïdes ont été documentées par une étude menée sur 61 chiens atteints de lymphome (Hahn *et al.*, 1994) et par un cas rapporté de LAL canine (Nolte *et al.*, 1993). Dans le cas des lymphomes, les durées de rémission et la survie étaient significativement plus longues dans les cas de trisomie 13 en comparaison d'autres anomalies chromosomiques.

Dans l'espèce féline, la réalisation d'un caryotype est plus aisée, cependant, la rareté des cas (Goh *et al.*, 1981 ; Grindem et Buoen, 1989) et l'incohérence des anomalies observées rendent difficile toute corrélation avec des données pronostiques, thérapeutiques ou même relatives au typage leucémique.

Plus récemment, de nouvelles techniques ont été développées en médecine humaine, telles la RT-PCR (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction), la FISH (Fluorescent In Situ Hybridization), la CGH (Chromosomal Genetic Hybridization) et la technique des TMA (Tissue MicroArray) (Glassman, 1998 ; Wilkens *et al.*, 1998 ; Ramaswamy et Golub, 2002 ; Ebert et Golub, 2004). Cette dernière technique permet, en complément des études moléculaires globales, la validation *in situ* des gènes préalablement identifiés, et ainsi la création de profils tumoraux spécifiques sur la base d'informations génétiques, qui non seulement fournissent des données pronostiques mais renseignent sur la pathogénie de la maladie (Ramaswamy et Golub, 2002). Ces techniques (notamment la CGH et la technique des TMA) ont été développées à l'aide du modèle canin, et permettent de passer outre la réalisation d'un caryotype une fois que les gènes d'intérêts ont été identifiés et clonés (Thomas *et al.*, 2003 ; Thomas *et al.*, 2003).

L'enthousiasme des investigations génétiques canines est dû à l'utilité de cette espèce comme modèle pour décrire et comprendre les désordres génétiques. Ceci a notamment conduit à déterminer complètement le génome canin (Kirkness *et al.*, 2003). La détection des anomalies génétiques à l'origine des leucémies chez les espèces animales étudiées permet de mieux comprendre ces pathologies, leur pronostic, et d'identifier des modèles spécifiques pour les leucémies humaines.

## ***F. Pronostic***

Dans toutes les espèces, le diagnostic de leucémie aiguë est assorti d'un pronostic très sombre sans traitement, fatal à court terme pour les LA (quelques jours à quelques semaines), et à moyen terme pour les LC (quelques mois). Ce pronostic sévère est principalement dû :

- au faible taux d'induction et au maintien difficile de la rémission ;
- aux déficiences organiques qui augmentent la toxicité du traitement ;
- aux septicémies (Dobson *et al.*, 2006).

Ce pronostic doit cependant être modulé en fonction du type précis de leucémie en cause, de son mode évolutif, de l'âge du patient, des maladies intercurrentes et surtout des possibilités thérapeutiques accessibles. En effet, l'efficacité du traitement est conditionnée par son adaptation fine au type de leucémie, associée à une thérapeutique symptomatique de

soutien parfois très lourde (conditions de stérilité, transfusions répétées, contrôles de insuffisances organiques) (Fournel-Fleury *et al.*, 1992).

Ainsi, en médecine humaine les traitements sont de plus en plus diversifiés et évolutifs : nombreux protocoles antimitotiques, inducteurs de différenciation des blastes, facteurs de croissance, interleukines, greffe de moelle (Tigaud, 1991).

Chez les carnivores domestiques, le typage des leucémies aiguës est rarement réalisé. Comme évoqué précédemment, l'identification précise des blastes proliférants nécessite le recours à des techniques coûteuses et peu disponibles. Ceci, associé à la gravité du pronostic, explique souvent l'absence ou les échecs de tentatives de traitements (Fournel-Fleury *et al.*, 1992).

### 1. Leucémies aiguës lymphoblastiques

Il n'existe pas de système de gradation clinique des LAL chez les carnivores domestiques. Néanmoins, selon la classification des lymphomes de la WHO, toutes les LAL sont considérées comme des maladies de stade V (Grindem *et al.*, 2002 ; Presley *et al.*, 2006). Un système de gradation clinique LAL fut établi en médecine humaine, mais aucune étude n'a décrit son applicabilité aux carnivores domestiques (Vai et Young, 2007).

Tableau 11: Système de gradation clinique des LAL en médecine humaine (Cotter, 1983 ; Mashita *et al.*, 2006).

Grade	Niveau de risque
<b>0</b>	<u>Risque faible</u> : lymphocytose uniquement, taux lymphocytaire $\geq 15.000$ cellules/mm <sup>3</sup> ;
<b>I</b>	<u>Risque intermédiaire</u> : lymphocytose et lymphadénopathie ;
<b>II</b>	<u>Risque intermédiaire</u> : lymphocytose avec hépatomégalie et/ou splénomégalie ;
<b>III</b>	<u>Risque élevé</u> : lymphocytose, anémie (hémoglobine $\leq 11$ g/dL) accompagnées ou non d'hépatomégalie, de splénomégalie ou de lymphadénopathie ;
<b>IV</b>	<u>Risque élevé</u> : lymphocytose, thrombocytopénie ( $< 100.000$ plaquettes/mm <sup>3</sup> ) accompagnées ou non d'hépatomégalie, de splénomégalie ou de lymphadénopathie.

Le pronostic des leucémies lymphoïdes varie énormément suivant leur classification ; la première différence concerne le mode évolutif : le pronostic des LAL est beaucoup plus sombre que celui des LLC. Le pouvoir infiltrant des LAL (moelle osseuse, foie, rate) est si rapide que la plupart des patients décèdent quelques semaines après leur présentation (Couto 2003). Bien qu'il existe des évolutions favorables, le taux de rémission ainsi que la moyenne de survie sont généralement faibles, et cela même si une chimiothérapie agressive et un traitement palliatif sont entrepris (Matus *et al.*, 1983 ; Leifer et Matus, 1985 ; Couto, 2003). L'échec thérapeutique résulte le plus souvent de l'impossibilité d'induire une rémission des symptômes, d'insuffisances organiques trop importantes, et des conséquences des cytopénies (dues à la leucémie elle-même ou chimio-induites) que sont les sepsis et les coagulopathies (Couto, 2003).

La chimiothérapie (dans le cas d'un protocole classique COP : cyclophosphamide, vincristine, prednisolone) ne conduit à une rémission complète que dans 30 à 40% des cas chez le chien, et 27% chez le chat (Cotter, 1983 ; Matus *et al.*, 1983 ; Dobson *et al.*, 2006), cela dépend évidemment du protocole suivi ; les détails seront envisagés avec les traitements.

La durée de survie chez le chien varie de 1 à 3 mois (Couto, 2003), mais peut parfois être plus longue (MacEwen et Hess, 1977 ; Matus *et al.*, 1983). Chez le chat, la durée de survie peut être plus longue (de 1 à 7 mois) mais varie beaucoup selon le statut FeLV/FIV de l'animal. Comme la plupart des cancers, l'évolution des LAL peut toutefois être imprévisible, et les réponses aux traitements peuvent parfois aboutir à des rémissions de longues durées (jusqu'à 14 mois, selon certaines sources) (Presley *et al.*, 2006), mais cela reste anecdotique.

## **2. Leucémies aiguës myéloïdes**

Le pronostic des LAM est plus sombre que celui des LAL, que ce soit dans l'espèce féline ou l'espèce canine (Vail et Young, 2007). Chez le chien, la durée de survie après confirmation du diagnostic n'excède que rarement 3 mois, pour une moyenne de quelques semaines seulement (Couto, 1985 ; Mashita *et al.*, 2006 ; Mylonakis *et al.*, 2008). Chez le chat, la durée de survie varie de 2 à 10 semaines (Couto, 2003). Cependant, la rareté des cas de LAM associée à la prise de décision fréquente d'euthanasie, face à une dégradation clinique inexorable, ne permet pas d'établir des valeurs pronostiques aussi fiables et précises que celles attribuées aux lymphomes, par exemple.

En médecine humaine, la cytogénétique est désormais reconnue comme le meilleur indicateur pronostique des leucémies myéloïdes. Des groupes de risques ont été définis sur la base de données cytogénétiques : favorable (25% de rechute, 70% de survie à 4 ans), intermédiaire (50% de rechute, 40-50% de survie à 4 ans), haut (70% de rechute, 20% de survie à 4 ans) (Winton et Langston, 2004). Il a également été reconnu que les LAM apparues spontanément se comportent différemment de celles évoluant à partir d'un MDS ou d'une chimiothérapie antérieure (Vardiman *et al.*, 2002). Les LAM spontanée ne sont que très rarement associées à des dysplasies médullaires, ne possèdent pas de prédisposition d'âge, n'ont qu'un faible risque cytogénétique, et sont davantage sensibles aux chimiothérapies. En revanche, les LAM issues de MDS ou de rechutes thérapeutiques sont susceptibles d'avoir évolué au cours du temps, elles possèdent un risque élevé cytogénétique et concernent surtout les patients âgés. Ces différentes évolutions des LAM combinées aux diverses réponses aux traitements jettent les bases de la nouvelle classification des tumeurs des lignées myéloïdes (McManus, 2005).

### ***G. Traitement***

Avant de penser aux divers protocoles de chimiothérapie, il faut prendre conscience de tous les aspects de la prise en charge des patients leucémiques. Premièrement, il est important de communiquer sur le fait que la chimiothérapie en médecine vétérinaire est davantage palliative que curative. Cependant, la chimiothérapie peut aboutir à un allongement non négligeable de la durée de survie, et ce dans de bonnes conditions. Deuxièmement, bien que la chimiothérapie ait pour objectif l'amélioration de la qualité de vie des patients, il ne faut pas occulter les effets secondaires engendrés par les traitements anti-cancéreux (Feldman *et al.*, 2000). Une attention particulière doit être portée lors de l'administration d'une thérapie immunosuppressive chez les patients atteints de LAM, en raison des cytopénies parfois sévères et souvent présentes lors du diagnostic. Les septicémies engendrées peuvent prendre beaucoup d'ampleur et sont une des causes d'assombrissement du pronostic (Feldman *et al.*, 2000).

## 1. Prise en charge du patient et traitement de soutien

Un traitement visant à soutenir l'état de l'animal est incontournable dans les cas des leucémies aiguës étant donné l'état général souvent très dégradé du patient. Une fluidothérapie intraveineuse doit être mise en place afin de maintenir un état d'hydratation correct et une balance électrolytique physiologique.

Chez les patients hypoprotéïnémiques, une transfusion de plasma ou de colloïde synthétiques est souvent nécessaire. Les cas d'anémies requièrent souvent une transfusion de sang, notamment lors des LAM où les anémies sont souvent sévères.

Les risques de septicémies doivent être jugulés à l'aide d'une antibiothérapie agressive, utilisant des antibiotiques à large spectre :  $\beta$ -lactamines (amoxicilline + acide clavulanique), céphalosporine (céfalexine) voire fluoroquinolone de 3<sup>e</sup> génération (enrofloxacin, marbofloxacin) ; ces antibiotiques peuvent être administrés par voie intraveineuse en cas de septicémie, les doses peuvent alors être doublées (Dobson *et al.*, 2006 ; Presley *et al.*, 2006).

L'alimentation doit être considérée sérieusement car les patients sont souvent dysorexiques et sujets aux vomissements. Les besoins nutritionnels peuvent être déterminés d'après le calcul du RER (Resting Energy Requirement) auquel est multiplié un facteur proportionnel au degré de la maladie (1,25 à 2,0) (Feldman *et al.*, 2000). La pose d'une sonde naso-oesophagienne peut être envisagée si l'animal refuse de s'alimenter ; le recours à des substances stimulant l'appétit (diazépam, oxazépam, cyproheptédine) est parfois utile.

Tableau 12: Traitement de soutien des leucémies aiguës (Feldman *et al.*, 2000).

Traitement	Dosage
<u>Fluidothérapie</u> :	24-30 mL/kg/jour IV répartis sur 24 heures + 24-30 mL/kg à ajuster en fonction de la déshydratation
- Ringer Lactate	
- NaCl 0,9%	
- Supplémentation en potassium	20 mEq de KCl par litre de fluide
<u>Transfusion sanguin</u> :	Quantité (mL) de sang prélevée (donneur) :
	$2,2 \times PR \times [40 \text{ (chien) ou } 30 \text{ (chat)}]$
	$\times [Ht(R_1) - Ht(R_0)] / HtD$
<u>Nombre de calories à administrer par jour</u> :	RER (kcal) = $30 \times P + 70$ [animaux pesant plus de 2 kg] RER = $70 \times P^{0,75}$ [animaux pesant moins de 2 kg]
<u>Antibiotiques</u> :	
- Amoxicilline/Acide clavulanique	10-22 mg/kg PO en 2 prises quotidiennes
- Céfalexine	10-22 mg/kg PO en 2 prises quotidiennes
- Enrofloxacin ou marbofloxacin	2,5-5 mg/kg PO une à 2 fois par jour

IV : intra-veineux ; PR : poids du receveur ; P : poids du patient ; Ht(R<sub>0</sub>) : hématocrite du receveur avant la transfusion ; Ht(R<sub>1</sub>) : hématocrite désirée ; HtD : hématocrite du donneur.

## 2. Traitements anticancéreux

La chimiothérapie est une thérapie de choix des leucémies, cependant, ce n'est pas un traitement curatif : il ne permettra que d'allonger la durée de vie du patient (dans de bonnes conditions) mais ne vise en aucun cas une guérison complète. L'objectif du traitement est de détruire les cellules tumorales et ainsi de permettre le retour à une hématopoïèse normale. Le degré de myélosuppression, parfois élevé lors des LA, peut restreindre l'utilisation d'agents anti-cancéreux en raison de l'incapacité de l'organisme à préserver un nombre de cellules sanguines suffisant lors du traitement. En effet, une chimiothérapie agressive est recommandée et n'est pas sans effet sur les cellules sanguines ou médullaires saines (Morris 2001). En outre, la toxicité des agents anti-cancéreux peut être augmentée par les déficiences organiques, telles les insuffisances hépatiques et rénales, accompagnant la cohorte de complications des leucémies (Dobson *et al.*, 2006).

### a) Agents thérapeutiques utilisés

Les molécules anti-cancéreuses utilisées dans le traitement des LAL sont identiques à celles employées pour les lymphomes (vincristine, prednisolone accompagnées d'un agent

alkylant). En revanche, le traitement des LAM est basé sur l'emploi de cytosine arabinoside qui encourage la différenciation des blastes, accompagné de prednisolone, de thioguanine et de mercaptopurine.

Les principales molécules anti-cancéreuses sont :

- la vincristine (Oncovin<sup>®</sup>) : appartenant à la classe des cytotoxiques anti-néoplasiques, c'est un alcaloïde qui a pour effet d'empêcher la polymérisation des microtubules en se fixant sur les dimères de tubuline libre, les phases de mitoses sont ainsi bloquées (Hohenhaus *et al.*, 2002) ;
- le cyclophosphamide (Endoxan<sup>®</sup>) : appartenant à la classe des cytotoxiques anti-néoplasiques, c'est un agent alkylant immunodépresseur et anti-néoplasique cytostatique utilisé pour traiter certains cancers et certaines maladies auto-immunes (polyarthrite rhumatoïde, lupus érythémateux), dues à un dysfonctionnement du système immunitaire. Il réagit avec certaines bases de l'ADN (guanine et cytosine) et empêche toute réplication et transcription du matériel génétique. Il agit ainsi à n'importe quelle phase du cycle cellulaire (Hohenhaus *et al.*, 2002) ;
- l'hydroxyurée ou hydroxycarbamide (Hydrea<sup>®</sup>) : appartenant à la classe des cytotoxiques anti-néoplasiques, c'est un agent alkylant qui inhibe la ribonucléase réductase. Les nucléotides ne peuvent être formés, empêchant ainsi l'ADN de se répliquer. L'hydroxyurée agit sur la phase S du cycle cellulaire (Hohenhaus *et al.*, 2002) ;
- la L-asparaginase (Kidrolase<sup>®</sup>) : appartenant à la classe des cytotoxiques anti-néoplasiques, c'est une enzyme qui détruit l'asparagine. La L-asparagine est une molécule indispensable à la synthèse protéique. A la différence des cellules néoplasiques, les cellules saines possèdent la L-asparagine synthétase. La L-asparaginase prive ainsi les cellules tumorales de cette molécule, elles deviennent incapables d'entretenir leur métabolisme. Du fait de ce mode d'action particulier, il n'y a pas de résistance croisée avec les autres anti-cancéreux. Cette molécule est active pendant la phase G<sub>1</sub> du cycle cellulaire (Hohenhaus *et al.*, 2002) ;
- la cytosine arabinoside (Aracytine<sup>®</sup>) : appartenant à la classe des cytotoxiques anti-néoplasiques, c'est un antimétabolite qui inhibe l'ADN polymérase et empêche ainsi la synthèse d'ADN (Hohenhaus *et al.*, 2002) ;
- la doxorubicine (Adriblastine<sup>®</sup>) : appartenant à la classe des cytotoxiques anti-néoplasiques, inhibe la synthèse de l'ADN et de l'ARN en s'intercalant dans sa structure et empêche ainsi la multiplication cellulaire. Il induit la formation de radicaux libres et

inhibe la topoisomérase II (enzyme permettant le clivage de la double hélice d'ADN) (Hohenhaus *et al.*, 2002) ;

- la 6-Thioguanine et la 6-Mercaptopurine : appartenant à la classe des cytotoxiques anti-néoplasiques et des immunosuppresseurs, ce sont des anti-métabolites qui empêchent la synthèse de l'ADN (Hohenhaus *et al.*, 2002).

Le développement de recombinants humains de facteurs de croissance, tels G-CSF ou GM-CSF, pourrait avoir un rôle important dans le protocole thérapeutique des leucémies canines et félines. Ces facteurs de croissance sont notamment utilisés suite aux greffes de moelle osseuse humaine. Ces procédés restent anecdotiques en médecine vétérinaire, mais ont néanmoins été évalué lors de tests cliniques (Dobson *et al.*, 2006).

#### *b) Protocoles de traitement*

Les molécules anti-cancéreuses sont utilisées, en théorie, jusqu'au retour des paramètres hématologiques (taux érythrocytaire, leucocytaires et thrombocytaire) à des valeurs usuelles et tant que des blastes sont retrouvés dans le compartiment circulant. En pratique, ces objectifs ne sont jamais atteints et les doses thérapeutiques ne sont que très rarement réduites (Morris 2001).

La population cellulaire tumorale est souvent très hétérogène ; les cellules proliférantes n'ont pas le même degré de maturation et se trouvent à différentes phases du cycle cellulaire à un instant donné. C'est pourquoi il est vivement conseillé d'utiliser un protocole alliant plusieurs molécules anticancéreuses agissant sur les différentes étapes du cycle. Chaque agent chimiothérapeutique peut ainsi agir sur les différentes populations cellulaires néoplasiques (Feldman *et al.*, 2000).

#### (1) Leucémies aiguës lymphoblastiques

Le traitement des LAL chez le chien et le chat est rarement fructueux. Une chimiothérapie agressive, accompagnée d'un traitement de soutien solide en sont les composants. En médecine humaine, certains types de LAL rencontrés chez les enfants répondent au traitement dans plus de 80% des cas, et survivent en moyenne plus de 7 ans (Pui et Evans, 1998). Ces résultats sont dus aux traitements basés sur des protocoles myéloablatifs et des greffes de moelle osseuse. Ces techniques ne sont encore qu'expérimentales chez les

carnivores domestiques (Feldman *et al.*, 2000). Cependant, le développement et la disponibilité toujours meilleure des cytokines (érythropoïétine, G-CSF, GM-CSF), permettront à moyen terme d'utiliser des protocoles anti-cancéreux plus puissants et peut-être un recours plus systématique aux greffes de moelle.

Chez les carnivores domestiques, le retour à une fonction hématopoïétique normale est jugé effectif lorsque le contingent de cellules tumorales a été réduit d'un facteur 1,5 à 2 (Vail et Young, 2007). Les protocoles employés (tableau 13) sont très proches voire identiques à ceux utilisés dans le traitement des lymphomes (tableau 14 et 15). La plupart des études visant à juger de l'efficacité de ces protocoles ont été effectuées sur des cas de LAL canines (Presley *et al.*, 2006).

L'association de molécules anti-cancéreuses inclut la vincristine, la cytosine arabinoside, le cyclophosphamide, la L-asparaginase et la prednisone (Cotter, 1983 ; Presley *et al.*, 2006). La doxorubicine est utilisée lors de protocoles très agressifs et comme molécule de dernière intention. L'association de la vincristine et de la prednisolone est la base de l'induction de la chimiothérapie et fut jugée comme la plus efficace (Feldman *et al.*, 2000 ; Couto, 2003 ; Vail et Young, 2007). La vincristine et la prednisone sont administrées la première semaine, puis à des doses décroissantes jusqu'à la rémission (tableau 13 et 14). La L-asparaginase (400 UI/kg IM) peut ensuite être introduite dans le protocole afin de renforcer la réponse induite en première semaine. Cependant, l'usage de la L-asparaginase doit être réservé en raison du développement rapide de résistance de la part des cellules tumorales (Hohenhaus *et al.*, 2002).

En cas d'absence de réponse à cette première étape, d'autres molécules thérapeutiques peuvent prendre part au traitement, comme le cyclophosphamide ou la cytosine arabinoside. Le cyclophosphamide peut être administré en une prise hebdomadaire unique, à la dose de 250 mg/m<sup>2</sup> IV, ou d'une façon quotidienne à la dose de 50 mg/m<sup>2</sup> PO (Presley *et al.*, 2006). La cytosine arabinoside (à raison de 100 mg/m<sup>2</sup>) doit être administrée de manière fractionnée (2 à 5 fois par jour) par voie sous-cutanée ou par IV lente (Hohenhaus *et al.*, 2002).

Tableau 13: Protocole de chimiothérapie des LAL (Morris et Dobson, 2001).

<b>Protocole d'induction</b>	
<b>Vincristine</b>	0,5 mg/m <sup>2</sup> IV tous les 7 jours
<b>Prednisolone</b>	40 mg/m <sup>2</sup> PO chaque jour pendant 7 jours, puis 20 mg/m <sup>2</sup> toutes les 48 heures
<b>Agents additionnels</b>	
<b>Cyclophosphamide</b>	50 mg/m <sup>2</sup> PO toutes les 48 heures
<b>Cyclophosphamide et Cytosine arabinoside</b>	50 mg/m <sup>2</sup> PO toutes les 48 heures
<b>Cytosine arabinoside</b>	100 mg/m <sup>2</sup> SC ou IV chaque jour pendant 2 jours (chat) ou 4 jours (chien), à injecter progressivement par voie IV
<b>L-Asparaginase</b>	10.000-20.000 UI/m <sup>2</sup> IM tous les 2-3 jours
<b>Maintien</b>	
Molécules identiques que lors de l'induction, et maintenues à des doses et des fréquences d'administrations réduites mais suffisantes pour maintenir des paramètres sanguins dans les valeurs usuelles	

IV : intraveineuse ; PO : per-os ; SC : souscutanée ; IM : intramusculaire.

D'après une étude rapportant l'utilisation de vincristine et de prednisone lors de LAL canines, 40% des chiens répondirent à ce traitement, 20% d'entre eux connurent une rémission complète et 20% une rémission partielle (Matus *et al.*, 1983). Il faut préciser qu'une rémission n'est pas une guérison (disparition complète de la maladie et des signes cliniques) mais la réussite d'une étape du traitement (par exemple lorsqu'un protocole thérapeutique permet d'abaisser la lymphocytose tumorale en dessous d'un seuil que le thérapeute s'est fixé). Si ce protocole est complété par l'administration de L-asparaginase et de doxorubicine, le taux de réponse au traitement est supérieur. Cependant, la relative rareté des LAL limite l'évaluation de l'efficacité réelle des protocoles anti-cancéreux.

L'utilisation de la chimiothérapie anti-cancéreuse chez le chat est décevante. Seulement 27% des LAL félines traitées répondent au protocole COP (tableau 15) (Cotter, 1983 ; Cotter, 1994). Sur un groupe de 15 chats atteints de LAL et traités sur la base d'un protocole COP, quatre d'entre eux connurent une rémission complète, et six répondirent partiellement au traitement (Cotter, 1983). Une autre étude rapporta un cas de LAL féline ayant subi un premier échec thérapeutique (vincristine, L-asparaginase, prednisone) puis une rémission rapide (3 semaines) après un traitement à base de cytosine arabinoside (10 mg/m<sup>2</sup> toutes les 12 heures par voie SC) et de prednisone (40 mg/m<sup>2</sup>/jour PO) (Helfand, 1987).

Tableau 14: Protocole chimiothérapeutique des lymphomes canins (L-VCA) (Vail et Young, 2007).

<b>Semaine de traitement</b>	<b>Agent thérapeutique anti-cancéreux</b>
Semaine 1	Vincristine 0,7 mg/m <sup>2</sup> IV ; Prednisone 2 mg/kg PO SID
Semaine 2	Cyclophosphamide 250 mg/m <sup>2</sup> IV ; Prednisone 1,5 mg/kg PO SID
Semaine 3	Vincristine 0,7 mg/m <sup>2</sup> IV ; Prednisone 1 mg/kg PO SID
Semaine 4	Doxorubicine 30 mg/m <sup>2</sup> IV ; Prednisone 0,5 mg/kg PO SID
Semaine 6	Vincristine 0,7 mg/m <sup>2</sup> IV
Semaine 7	Cyclophosphamide 250 mg/m <sup>2</sup> IV
Semaine 8	Vincristine 0,7 mg/m <sup>2</sup> IV
Semaine 9	Doxorubicine 30 mg/m <sup>2</sup> IV
Semaine 11	Vincristine 0,7 mg/m <sup>2</sup> IV
Semaine 12	Cyclophosphamide 250 mg/m <sup>2</sup> IV
Semaine 13	Vincristine 0,7 mg/m <sup>2</sup> IV
Semaine 14	Doxorubicine 30 mg/m <sup>2</sup> IV
Semaine 16	Vincristine 0,7 mg/m <sup>2</sup> IV
Semaine 17	Cyclophosphamide 250 mg/m <sup>2</sup> IV
Semaine 18	Vincristine 0,7 mg/m <sup>2</sup> IV
Semaine 19	Doxorubicine 30 mg/m <sup>2</sup> IV

SID : une fois par jour (single injection day) ; L : L-asparaginase ; V : vincristine ; C : cyclophosphamide ; A : doxorubicine (adriamycine) ;

- 1) Tous les traitements sont arrêtés après 19 semaines si une rémission complète est observée ;
- 2) Du furosémide (1 mg/kg) doit être administré en même temps que la cyclophosphamide pour réduire l'incidence des cystites hémorragiques stériles ;
- 3) En cas de cystite hémorragique stérile concomitante à l'administration de cyclophosphamide, ce dernier doit être arrêté et remplacé par du chlorambucil (1,4 mg/kg PO) ;
- 4) En cas de LAL, la L-asparaginase (400 UI/kg IM) doit être administrée à chaque injection de vincristine, jusqu'à rémission complète ;
- 5) Pour les chiens de moins de 15 kg, la posologie de la doxorubicine est ajustée à 1 mg/kg (au lieu de 30 mg/m<sup>2</sup>).

Tableau 15: Protocole chimiothérapeutique des lymphomes (COP) (Minelli *et al.*, 1998).

Semaines	Vincristine	Cyclophosphamide	Prednisone
1	0,75 mg/m <sup>2</sup> IV	250 mg/m <sup>2</sup> IV	1 mg/kg par jour PO
2	0,75 mg/m <sup>2</sup> IV		1 mg/kg par jour PO
3	0,75 mg/m <sup>2</sup> IV		1 mg/kg par jour PO
4	0,75 mg/m <sup>2</sup> IV	250 mg/m <sup>2</sup> IV	1 mg/kg tous les 2 jours PO
5			1 mg/kg tous les 2 jours PO
6			1 mg/kg tous les 2 jours PO
7	0,75 mg/m <sup>2</sup> IV	250 mg/m <sup>2</sup> IV	1 mg/kg tous les 2 jours PO
8			1 mg/kg tous les 2 jours PO
9			1 mg/kg tous les 2 jours PO
10	0,75 mg/m <sup>2</sup> IV	250 mg/m <sup>2</sup> IV	1 mg/kg tous les 2 jours PO
11			1 mg/kg tous les 2 jours PO
12			1 mg/kg tous les 2 jours PO
13	0,75 mg/m <sup>2</sup> IV	250 mg/m <sup>2</sup> IV	1 mg/kg tous les 2 jours PO
14			1 mg/kg tous les 2 jours PO
15			1 mg/kg tous les 2 jours PO
16	0,75 mg/m <sup>2</sup> IV	250 mg/m <sup>2</sup> IV	1 mg/kg tous les 2 jours PO
17			1 mg/kg tous les 2 jours PO
18			1 mg/kg tous les 2 jours PO
19	0,75 mg/m <sup>2</sup> IV	250 mg/m <sup>2</sup> IV	1 mg/kg tous les 2 jours PO

Pdt : pendant ; IV : intraveineuse ; PO : per-os ; SC : souscutanée ; IM : intramusculaire.

## (2) Leucémies aiguës myéloïdes

Les LAM bénéficient d'un pronostic très sombre et leur traitement est moins standardisé que celui des LAL. L'espoir d'une guérison est illusoire, et l'attente d'une rémission peut souvent se révéler infructueuse. Les protocoles, souvent inspirés de ceux utilisés pour les lymphomes, associent plusieurs molécules anti-cancéreuses telles que la cytosine arabinoside, le cyclophosphamide, la doxorubicine, la vincristine, la 6-thioguanine, la 6-mercaptopurine, toujours associés à la prednisone (Hamilton *et al.*, 1991; Minelli *et al.*, 1998 ; Feldman *et al.*, 2000). Des transfusions sanguines sont fréquemment nécessaires en raison des anémies arégénératives sévères engendrées par la maladie. Plusieurs protocoles d'induction et de maintenance ont été décrits (tableaux 16 à 20) (Rohrig, 1983 ; Hamlin et Duncan, 1990 ;

Graves *et al.*, 1997 ; Morris et Dobson, 2001) et aboutissent à des durées de survie allant de 4 à 78 jours.

Tableau 16: Protocole chimiothérapeutique des LAL (Morris et Dobson, 2001).

<b>Protocole d'induction</b>	
<b>Cytosine arabinoside</b>	100 mg/m <sup>2</sup> SC ou IV chaque jour pdt 2 à 6 jours
<b>Agents additionnels</b>	
<b>Prednisolone</b>	40 mg/m <sup>2</sup> PO chaque jour pdt 7 jours, puis 20 mg/m <sup>2</sup> toutes les 48 heures
<b>6-Thioguanine</b>	50 mg/m <sup>2</sup> PO chaque jour ou toutes les 48 heures
<b>6-Thioguanine et doxorubicine</b>	50 mg/m <sup>2</sup> PO chaque jour ou toutes les 48 heures 10 mg/m <sup>2</sup> IV tous les 7 jours
<b>Mercaptopurine</b>	50 mg/m <sup>2</sup> PO chaque jour ou toutes les 48 heures
<b>Protocole alternatif</b>	
<b>Cytosine arabinoside</b>	5-10 mg/m <sup>2</sup> deux fois par jour pdt 2 à 3 semaines puis à semaines alternées
<b>Doxorubicine</b>	30 mg/m <sup>2</sup> (chien) ou 20 mg/m <sup>2</sup> (chat) IV toutes les 3 semaines, ou 10 mg/m <sup>2</sup> tous les 7 jours
<b>Maintien</b>	
Molécules identiques que lors de l'induction, et maintenues à des doses et des fréquences d'administrations réduites mais suffisantes pour maintenir des paramètres sanguins dans les valeurs usuelles	

Tableau 17: Protocole chimiothérapeutique des LAM canines (Rohrig, 1983).

<b>Molécules</b>	<b>Posologie</b>	<b>Administration</b>
<i>Induction</i>		
Cytosine arabinoside	100 mg/m <sup>2</sup>	IV pdt 30 minutes toutes les 12 heures pdt 3 à 6 jours
6-Thioguanine	40-50 mg/m <sup>2</sup>	PO pdt 4 jours
Doxorubicine*	10-15 mg/m <sup>2</sup>	IV une fois par jour pdt 3 jours, après l'administration de diphénylhydramine 2 mg/kg IM, <i>ou</i>
	30 mg/m <sup>2</sup>	IV tous les 21 jours, après administration de diphénylhydramine 2 mg/kg IM
Prednisone	40 mg/m <sup>2</sup>	PO répartie en 2 prises quotidiennes pdt 7 jours
<i>Maintenance</i>		
Cytosine arabinoside	100 mg/m <sup>2</sup>	SC ou IV une à deux fois par semaine
6-Thioguanine	40 mg/m <sup>2</sup>	PO deux fois par semaine
Doxorubicine*	30 mg/m <sup>2</sup>	IV tous les 21 jours (voir ci-dessus)
Prednisone	20 mg/m <sup>2</sup>	PO tous les jours

Tableau 18: Protocole chimiothérapeutique des LAM canines (Rohrig, 1983 ; Graves *et al.*, 1997).

<b>Molécules</b>	<b>Posologie</b>	<b>Administration</b>
<i>Induction</i>		
Cytosine arabinoside	100-200 mg/m <sup>2</sup>	IV lente pdt 12 à 24 heures par jour pdt 3 jours et répétée chaque semaine
Doxorubicine*	30 mg/m <sup>2</sup>	IV toutes les 2 à 3 semaines en alternance avec la cytosine arabinoside
<i>Maintenance</i>		
Cyclophosphamide	50 mg/m <sup>2</sup>	PO pdt 4 jours consécutifs par semaine
Vincristine	0,5 mg/m <sup>2</sup>	IV une fois par semaine pdt 8 semaines
Prednisone	20 mg/m <sup>2</sup>	PO répartie en 2 prises quotidiennes pdt 7 jours, <i>puis</i>
	10 mg/m <sup>2</sup>	PO une fois par jour
Cytosine arabinoside	100 mg/m <sup>2</sup>	IV pdt 4 jours la première semaine

\* : pour les chiens pesant moins de 15 kg, la posologie de la doxorubicine est ajustée à 1 mg/kg.

Tableau 19: Protocole chimiothérapeutique des LAM canines (Hamlin et Duncan, 1990).

<b>Molécules</b>	<b>Posologie</b>	<b>Administration</b>
Doxorubicine*	30 mg/m <sup>2</sup>	IV tous les 21 jours, après administration de diphénylhydramine 2 mg/kg IM
Cyclophosphamide	50 mg/m <sup>2</sup>	PO tous les jours
Prednisone	40 mg/m <sup>2</sup>	PO répartie en 2 prises quotidiennes pdt 7 jours, <i>puis</i>
	20 mg/m <sup>2</sup>	PO une fois par jour

\* : pour les chiens pesant moins de 15 kg, la posologie de la doxorubicine est ajustée à 1 mg/kg.

Tableau 20: Protocole chimiothérapeutique des LAM canines (Rohrig, 1983).

<b>Molécules</b>	<b>Posologie</b>	<b>Administration</b>
Cytosine arabinoside	100 mg/m <sup>2</sup>	SC toutes de 8 heures en 3 à 4 injections, répétées tous les 5 à 9 jours

SC : souscutanée

### c) *Les greffes de moelle osseuse*

La greffe de moelle osseuse est une technique peu répandue en médecine vétérinaire mais fut beaucoup étudiée (notamment chez le chien) en raison de son utilisation inévitable pour traiter les LAL et les LAM humaines. Plusieurs greffes allogéniques (la moelle osseuse provient d'une autre personne, contrairement aux greffes autogéniques pour lesquelles donneur et receveur ne sont qu'une même personne) ont été conduites avec succès, servant ainsi de modèle pré-clinique pour les greffes humaines. Ces greffes ont néanmoins été citées en tant qu'alternative thérapeutique pour les leucémies aiguës canines et félines dès la fin des années 1970 (Harris *et al.*, 1986). Cependant, leur utilisation reste limitée étant donné la faible incidence des LA (et donc le peu de recul face à cette maladie), la mortalité précoce et fréquente des animaux atteints, et les conditions de réalisation et d'hospitalisation très contraignantes (conditionnement par irradiation totale, conditions de stérilité absolues requises, réactions GVH spectaculaires dans le cas des greffes allogéniques).

Par ailleurs, le recours thérapeutique à la greffe de moelle est décrit aux USA et se révèle parfois concluant lors de certaines affections médullaires comme les lymphomes réfractaires, la neutropénie cyclique du Border Collie, le déficit en pyruvate kinase du Basenji, les aplasies médullaires iatrogènes (notamment celles induites par un hyperœstrogénisme) et infectieuses (comme l'ehrlichiose canine) (Weiden *et al.*, 1976 ; Harris *et al.*, 1986).

Plus récemment (Gasper *et al.*, 1996), un cas de greffe allogénique sur un cas de LAM-M6Er féline fut rapporté. L'animal fut hospitalisé pendant 72 jours : un traitement de soutien sévère et une dizaine de transfusions furent nécessaires pour stabiliser l'état clinique du chat. Il subit trois transplantations de moelle osseuse provenant d'un autre animal issu de la même portée. L'état de l'animal fut nettement amélioré et il survécut plus de quatre ans après sa première présentation. Les trois greffes et la majorité des transfusions provenaient du même donneur, et purent être entreprises grâce à l'utilisation de G-CSF canine et d'érythropoïétine (administrés au donneur puis au receveur). Les principales complications de la greffe furent des lésions dermatologiques persistantes (alopécie majeure, dermatose croûteuse et squameuse).

Les raisons du succès de cet exemple de greffe de moelle osseuse sont multiples : un diagnostic correct, une prise en charge rapide, un lien de parenté entre donneur et receveur, des conditions d'hospitalisation idéales (stérilité, suivi strict des cas, thérapie adaptée), deux chats FeLV/FIV négatifs, et des molécules rares (G-CSF, EPO) mises à la disposition des

cliniciens. En outre, la qualité du protocole de conditionnement (visant à détruire la moelle osseuse du receveur) détermina la réussite de la greffe ; le protocole myéloablatif fut en effet très agressif : trois irradiations totales (10 grays en totalité) et l'administration de busulfan furent nécessaires. Le délai de la "prise de la greffe" (36 jours dans ce cas) fut plus long que la moyenne (15 jours) établie par l'étude de 109 greffes expérimentales (Gasper *et al.*, 1996). Ceci semble être expliqué par le fait que les deux premières transfusions sanguines provenaient de chats différents et sans lien de parenté avec le receveur. Ce dernier fut ainsi exposé à un nombre plus grand d'antigènes majeurs et mineurs d'histocompatibilité, ce qui augmenta l'intensité de la réaction GVH (Gasper *et al.*, 1996). En outre, la greffe fut entamée avant la rémission complète (atteinte lorsque le taux de blastes médullaire devient inférieur à 5%) à laquelle aurait du aboutir la chimiothérapie ; cela provoqua une compétition au sein de la moelle et retarda la prise de la greffe.

Un cas antérieur et similaire (LAM-M6Er féline) fut décrit mais dont la réussite fut moins spectaculaire (Raskin *et al.*, 1986). En effet, le chat mourut 72 jours après la greffe, cependant, ses données hématologiques et cliniques étaient plus sévères que dans le cas précédent, et le donneur ne présentait aucun lien de parenté avec le receveur.

#### *d) Conséquences et toxicité de la chimiothérapie*

Durant tout le temps de la chimiothérapie, un hémogramme doit être réalisé une fois par semaine, avant chaque administration de substance anti-cancéreuse. En cas de thrombocytopenie sévère ( $< 50.000$  cellules/mm<sup>3</sup>) ou de neutropénie intense ( $< 2.500$  cellules/mm<sup>3</sup>), la chimiothérapie est repoussée (Couto, 2003). Si le contingent neutrophilique sanguin correspond à l'intervalle de 1.000 à 2.000 cellules/mm<sup>3</sup>, l'animal est hospitalisé, et un protocole antibiotique par voie intra-veineuse est mis en place si ce taux devient inférieur à 500 cellules/mm<sup>3</sup> (Couto, 2003). D'autres sources bibliographiques recommandent une antibiothérapie par voie intra-veineuse dès que le taux de neutrophiles descend en dessous de 2.500 cellules/mm<sup>3</sup> en présence d'hyperthermie (Magnol *et al.*, 2001).

La destruction d'un grand nombre de cellules néoplasiques n'est pas sans conséquence et aboutit souvent à des complications regroupées sous le terme de syndrome de lyse tumorale (Couto, 2003). Ce syndrome résulte de la libération de nombreuses substances intracellulaires contenues dans les cellules proliférantes, en réponse à la chimiothérapie anti-cancéreuse. La concentration intracellulaire en phosphore des cellules tumorales est bien supérieure à celles des cellules saines ; leur destruction entraîne libération massive de phosphore mais aussi

d'autres éléments intracellulaires. Les conséquences biochimiques sont nombreuses : hyperphosphorémie, hyperkaliémie, hyperurémie, hypocalcémie ; et s'accompagnent de signes cliniques : vomissements, diarrhées, léthargie (Couto, 2003). Une chimiothérapie anti-cancéreuse peut parfois être fatale dans les heures suivant l'induction. Lors de protocoles agressifs, il est recommandé de placer l'animal sous fluidothérapie intra-veineuse afin de corriger les troubles métaboliques concomitants.

Tableau 21: Démarche à suivre lors de toxicité hématologique (Magnol *et al.*, 2001).

<p><b>Neutropénie</b> (<math>&lt; 2.500</math> cellules/mm<sup>3</sup>):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Sans hyperthermie : antibioprofylaxie (antibiotiques à large spectre par voie orale) ;</li> <li>- Hyperthermie : antibiothérapie par <u>voie veineuse</u>.</li> </ul>
<p><b>Anémie</b> (Hb <math>&lt; 6</math> g/100mL) : repos et transfusion.</p>
<p><b>Thrombocytopénie</b> (répéter l'examen, les erreurs par défaut sont fréquentes) :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Entre 50.000 et 100.000 plaquettes/mm<sup>3</sup>: mise au repos, éventuellement corticothérapie ;</li> <li>- Inférieure à 50.000 plaquettes/mm<sup>3</sup>: corticoïdes en l'absence de pétéchie, transfusion en cas de saignements importants.</li> </ul>

Les leucémies aiguës forment une catégorie de tumeurs très agressives au sein des hémopathies malignes. Ces sont des maladies rares et peu décrites, car souvent sous-diagnostiquées en raison de leur vitesse d'évolution très rapide et de la faible disponibilité de moyens diagnostiques efficaces. En outre, leur pronostic très sombre associé à un tableau clinique des plus sévères n'encouragent en rien à donner suite au diagnostic.

En médecine humaine les récents progrès en cytogénétiques ont considérablement fait évoluer le diagnostic et le traitement de leucémies aiguës. Les données cytogénétiques, s'appuyant sur un nombre de cas conséquent et significatif (contrairement aux cas vétérinaires souvent concentrés dans les quelques structures universitaires existantes), ces données cytogénétiques revêtent une valeur pronostique et permettent de mettre en place des protocoles de traitement systématiques et adaptés à chaque types de LA.



### III. Les leucémies chroniques

Les leucémies chroniques sont caractérisées par la prolifération de cellules en fin de différenciation (dites "cytes") dont l'évolution spontanée est beaucoup plus longue que celle des leucémies aiguës. Cette prolifération a lieu dans la moelle osseuse hématopoïétique et s'accompagne d'un envahissement du compartiment sanguin. Comme les leucémies aiguës, les leucémies chroniques sont classées selon la lignée qu'elles touchent : on distingue ainsi les leucémies lymphoïdes ou lymphocytiques chroniques (LLC) et les leucémies myéloïdes chroniques (LMC).

Les leucémies chronique et aiguë ne sont pas deux pathologies indépendantes. En effet, les LLC peuvent évoluer beaucoup plus rapidement et devenir des phénomènes aigus, caractérisés par un tableau clinique beaucoup plus sévère.

#### A. Etiologie

Comme évoqué dans le cas des MDS et des LA, l'origine des leucémies est encore assez mal connue. Différentes translocations chromosomiques (notamment la translocation Philadelphie, entre les chromosomes 22 et 9 aboutissant à une leucémie chronique granulocytaire) (Clarkson *et al.*, 1997) ont été mises en évidence dans certaines leucémies humaines et semblent expliquer les troubles prolifératifs des cellules. Ces anomalies génétiques interviennent désormais dans la classification, le pronostic des leucémies, et sont d'excellents arguments diagnostiques dès lors que des analyses génétiques sont menées (Feldman *et al.*, 2000). Différentes causes (identiques à celles abordées pour les LA) interviennent dans la survenue de ces anomalies génétiques et sont bien connues en médecine humaine (benzène, phénylbutazone, radiations, agents alkylants).

Une cause virale est également connue chez l'homme (virus lymphotrope T de types 1 encore appelé HTLV-1) et chez le chat (FeLV et FIV), bien que les rétrovirus félines soient davantage impliqués dans les LAL. Cependant, aucune implication d'un rétrovirus canin n'a été démontrée (Presley *et al.*, 2006). Une sensibilité accrue des cellules souches et des cellules précurseurs aux facteurs de croissance a également été mise en évidence en médecine humaine ; ainsi, lors de *polycythemia vera*, l'influence de l'IGF-1 sur les cellules précurseurs

des érythrocytes est plus importante. Cependant, on ignore l'existence d'une mutation génétique expliquant ce phénomène (Prchal, 1995).

En outre, des facteurs génétiques semblent occuper une place importante dans le développement des LLC chez l'homme. Ce type de leucémie chronique est en effet la plus observée au sein d'une même famille parmi toutes les leucémies. Aucune constatation de la sorte n'a été faite chez les carnivores domestiques (Workman et Vernau, 2003).

## ***B. Epidémiologie***

L'incidence réelle des LLC chez les carnivores domestiques est inconnue. Il semblerait qu'elles soient (Workman et Vernau, 2003) plus rares que les LAL, mais davantage rencontrées que les MDS. Néanmoins, la rareté de cette pathologie associée à un diagnostic souvent réalisé dans les structures universitaires, rendent l'étude statistique difficile.

Chez le chien, les LLC sont plus fréquentes que les LMC. L'âge moyen d'apparition de la maladie se situe entre 10 et 12 ans, avec des extrêmes allant des 1,5 à 15 ans (Harvey *et al.*, 1981 ; Leifer et Matus, 1986 ; McDonough et Moore, 2000 ; Giraudel *et al.*, 2002 ; Vail et Young, 2007). Le ratio mâle/femelle, d'après une étude portant sur 22 chiens, était de 1,8 (Leifer et Matus, 1986), une autre étude rapporta un ratio mâle/femelle de 2,3 (McDonough et Moore, 2000). La plus vaste étude portant sur les LLC (impliquant 73 chiens) (Vernau et Moore, 1999) ne précisa aucune prédisposition raciale concernant les LLC à lymphocytes B ou les LLC à lymphocytes T non granuleux. Cependant, parmi les cas de LLC à lymphocytes T granulaires (39 cas), les femelles atteintes étaient plus nombreuses que les mâles, comme le confirme le ratio femelle/mâle correspondant à 1,7. La plupart des études ne signalent pas de prédisposition de race ; une étude rapporte néanmoins la prédominance des races Berger Allemand et Golden Retriever (McDonough et Moore, 2000). Il faut cependant avoir conscience que ce dernier résultat peut davantage dépendre de données démographiques relatives aux patients que d'une prédisposition raciale.

De la même façon que pour les leucémies aiguës lymphoblastiques, les LLC peuvent concerner la lignée B, la lignée T et la lignée des cellules NK. Deux études menées respectivement sur 73 et 12 cas de LLC, rapportent une prolifération de la lignée B dans 26% et 30% des cas, alors que la lignée T proliférait dans plus de 70% des cas (Vernau et Moore, 1999 ; Presley *et al.*, 2006).

Chez le chat, les LLC sont décrites mais rarement rapportées (Holzworth 1960; Thrall 1981) et de façon anecdotique. De même que dans l'espèce canine, les LLC apparaissent chez les chats âgés, avec une moyenne d'âge de 14 ans, et des extrêmes allant de 6 à 19 ans (parmi une population de 12 cas, d'après une étude non publiée et réalisée par W. Vernau et HC. Workman).

En médecine humaine, les LLC sont les leucémies les plus courantes chez l'adulte et comptent pour 25 à 30% de tous les types de leucémies (Hoyer *et al.*, 1995; Wong *et al.*, 1996). Dans l'espèce humaine, l'incidence moyenne des LLC pour une population de plus de 80 ans est de 80 pour 100.000. Moins de 10% des LLC concernent les adultes de moins de 40 ans et seulement quelques cas ont été rapportés chez l'enfant (Foon, 1995). Avec 95% des cas de LLC, c'est la lignée B qui est la plus touchée (Foon, 1995 ; Hoyer *et al.*, 1995 ; Wong *et al.*, 1996). Plus précisément, c'est le sous-type cellulaire B-1 CD<sub>5+</sub> qui prolifère (Davis *et al.*, 1997). Selon les études, le ratio sexuel homme/femme des LLC varie entre 2 et 3.

L'épidémiologie des leucémies chroniques chez l'homme laisse penser qu'une prédisposition sexuelle (le ratio homme/femme est égale à 2) et des facteurs génétiques influencent les LLC à lymphocytes B, cependant, ceci n'a pas été vérifié chez les carnivores domestiques (Workman et Vernau, 2003). La prédominance de la lignée T parmi les LLC canines et félines suggère que d'autres facteurs causaux ou des caractéristiques physiologiques différentes sont susceptibles d'être impliqués dans la survenue de cette maladie, par rapport au modèle humain.

Les leucémies myéloïdes chroniques sont encore plus rares que leur équivalent lymphoïde. Il faut rappeler que les leucémies myéloïdes ne concernent que 1% des hémopathies malignes (regroupant lymphosarcomes, leucémies lymphoïdes et leucémies myéloïdes) (Muller *et al.*, 1997). Etant donné la rareté de cette pathologie et malgré plusieurs rapports de cas (certes ponctuels), aucune source n'est en mesure de préciser l'incidence réelle des LMC chez les carnivores domestiques (Sutton et Wilkins, 1981 ; Leifer *et al.*, 1983 ; Dunn *et al.*, 1987 ; Thomsen *et al.*, 1991 ; Grindem *et al.*, 1992 ; Tarrant *et al.*, 2001). Cependant, une étude rétrospective rapporta l'ensemble des troubles médullaires dans l'espèce canine présentés dans une structure hospitalière vétérinaire entre 1996 et 2004 (Weiss, 2006). Parmi ces troubles de la moelle osseuse, 126 étaient d'origine tumorale (soit 18%), et, parmi eux, seulement 7 cas de leucémies chroniques (soit près de 1%) furent dénombrés (contre 46 cas de leucémies aiguës, 28 cas de lymphomes stade V, et 25 cas de

myélomes multiples). Deux cas de LMC furent rapportés (soit 0,3%) contre trois cas de LLC (soit 0,4%).

Quelques particularités existent chez le chien (espèce de loin la plus représentée dans les études rétrospectives de LMC) : les leucémies éosinophiles n'ont jamais été décrites dans l'espèce canine, et les leucémies basophiles ont été uniquement rapportées dans cette espèce (Feldman 2000). En outre, aucune étude n'a décrit de cas de LMC neutrophilique chez le chat (Fournel-Fleury, 2006).

Dans l'espèce féline, en revanche, aucune étude ne traite de la prévalence des LMC. Seuls des cas rapportés de façon ponctuelle attestent l'existence de cette pathologie chez le chat. La LMC éosinophile et la polyglobulie vraie sont les sous-types de LMC félines les plus représentés (Finlay, 1985 ; Toth *et al.*, 1985 ; Swenson *et al.*, 1993 ; Huibregtse et Turner, 1994 ; Khanna et Bienzle, 1994 ; Sharifi *et al.*, 2007). Les LMC éosinophiles semblent toucher préférentiellement les chats FeLV positifs (Swenson *et al.*, 1993), mais concernent aussi les patients séronégatifs (Toth *et al.*, 1985). Aucun cas de LMC basophile n'a été rapporté chez cette espèce.

## ***C. Pathogénie***

### **1. Syndromes lymphoprolifératifs chroniques**

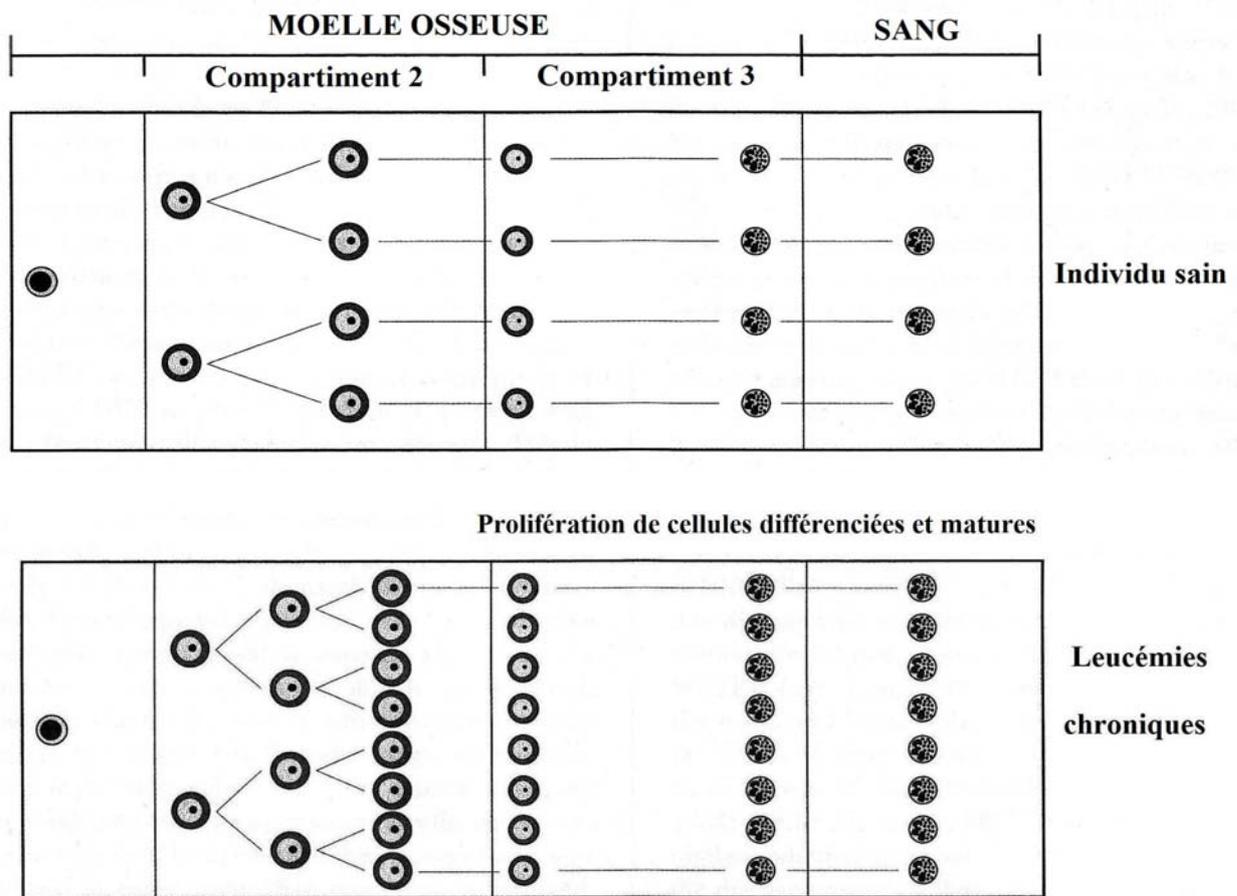
Les leucémies lymphoïdes chroniques sont caractérisées par une prolifération tumorale, d'origine médullaire, de petits lymphocytes mûres présentant des anomalies fonctionnelles. Cette prolifération résulte d'une anomalie survenant lors de l'hématopoïèse et touchant les cellules souches à l'origine de la lignée lymphoïde (Feldman *et al.*, 2000). Les cellules néoplasiques prolifèrent dans la moelle osseuse en premier lieu, puis gagnent le sang et les organes périphériques (principalement le foie et la rate). Leur accumulation concerne surtout le compartiment extra-médullaire et résulte de leur durée de vie prolongée (Vail et Young, 2007).

D'un point de vue morphologique, les lymphocytes proliférants ne sont pas distinguables des lymphocytes sains : il s'agit de petits lymphocytes bien différenciés, leur noyau est à chromatine mottée, non nucléolé et parfois légèrement indenté (Fournel-Fleury *et al.*, 1992). Le taux de prolifération des lymphocytes tumoraux est bas, ce qui explique l'évolution lente de la maladie et le tableau clinique dominé par des signes cliniques frustes. La mise en circulation des cellules néoplasiques est donc anormalement prolongée et conduit

à une lymphocytose sanguine souvent élevée, allant de 6.000 à plus de 200.000 cellules/mm<sup>3</sup>. Contrairement aux leucémies aiguës, l'envahissement sanguin par les cellules tumorales est constant et majeur dans le cas des leucémies chroniques. Cette caractéristique associée au faible pouvoir proliférant des cellules néoplasiques font que l'envahissement médullaire est modéré par rapport à celui constaté chez les LA. Ainsi, les leucémies chroniques ne donneront pas lieu à des signes majeurs d'insuffisance médullaire, et les cytopénies, si elles existent, ne seront que modérées (Fournel-Fleury, 2006).

L'ontogénèse des LLC est complexe, et il est à présent reconnu, grâce à l'emploi d'anticorps permettant de discerner les lignées lymphocytaires B et T, que les LLC canines regroupent un ensemble hétérogène de maladies (Feldman *et al.*, 2000). Contrairement aux leucémies aiguës lymphoblastiques chez lesquelles l'anomalie de différenciation intervient très tôt (au stade de cellule souche) et aboutit à l'encombrement progressif de cet unique compartiment placé en amont des processus de différenciation et de maturation, les LLC sont caractérisées par l'envahissement des compartiments médullaires où ont lieu les phénomènes de différenciation et de maturation cellulaire. Ainsi, lors de LLC, le processus tumoral se déclare en plusieurs points des étapes de différenciation et maturation, et touche donc plusieurs stades cellulaires. Ces variations quant au stade cellulaire tumoral expliquent les différences de réponses thérapeutiques des LLC (Feldman *et al.*, 2000).

Figure 21: Pathogénie des leucémies chroniques (Breuer et Hermanns, 1998).



Le développement d'anticorps monoclonaux servant à typer les lymphocytes (notamment dans l'espèce canine) représente l'une des plus grandes avancées de la cancérologie vétérinaire. Au cours d'une étude menée en 1997, des anticorps monoclonaux spécifiques des molécules de surfaces des lymphocytes ( $CD_3$ ,  $CD_4$ ,  $CD_8$ ,  $CD_{79a}$ ) ont été utilisés dans l'identification de LLC canines (Ruslander *et al.*, 1997). Sur 12 chiens déclarant une LLC, 8 d'entre eux exprimaient les marqueurs  $CD_8^+$  et  $CD_3$  (appartenant ainsi à la lignée T) et 3 exprimaient le phénotype B. Les lymphocytes du chien restant n'exprimaient pas de marqueurs identifiables.

La population de lymphocytes T est constituée de deux lignées,  $\alpha\beta$  et  $\gamma\delta$ , basées sur le récepteur cellulaire TCR. Les lymphocytes T exprimant le TCR  $\alpha\beta$  sont les cellules de la lignée T les plus présentes dans la circulation et peuvent être subdivisées en sous-types  $CD_4^+$  et  $CD_8^+$  (Feldman *et al.*, 2000). En revanche, les lymphocytes T exprimant le TCR  $\gamma\delta$  sont plus couramment retrouvés au niveau des muqueuses et dans la pulpe rouge de la rate, leur contingent circulant étant faible (moins de 2% des lymphocytes circulants). Selon une étude

(Vernau et Moore, 1999), 23% des LLC de la lignée T impliquent des lymphocytes T exprimant le TCR  $\gamma\delta$ . Ce sous-type de leucémie est caractérisé par la prolifération de LGL (grands lymphocytes granuleux). Chez le chien, les LGL sont constitués de deux populations cellulaires : les lymphocytes T cytotoxiques ( $CD_8^+$ ) et les cellules NK (McDonough et Moore, 2000). Dans l'étude précédemment évoquée (Vernau et Moore, 1999), 54% des cas de LLC étaient le résultat d'une prolifération de LGL issus de la lignée T. Cependant, les données morphologiques issues de d'examen d'aspiration de moelle osseuse et de rate réalisés sur des chiens présentant une LLC à LGL, appuyés par une expression fréquente du TCR  $\gamma\delta$  et d'autres récepteurs membranaires spécifiques de ce type cellulaire, ont conduit à repenser l'origine médullaire de cette leucémie et de la considérer comme splénique (Vernau et Moore, 1999 ; McDonough et Moore, 2000 ; Presley *et al.*, 2006). Dès lors, l'appellation de leucémie (prolifération tumorale de cellules circulantes d'origine médullaire) étant impropre, le terme de trouble lymphoprolifératif devient plus adapté.

Les leucémies lymphoïdes chroniques sont des maladies ayant une évolution indolente et sont souvent diagnostiquées à la faveur d'un examen hématologique de routine. En outre, du fait que les lymphocytes tumoraux sont très semblables aux lymphocytes sains, les LLC sont en partie diagnostiquées par élimination des autres causes de lymphocytoses persistantes (Feldman *et al.*, 2000). De surcroît, le diagnostic différentiel des LLC est assez limité car il y a peu de contexte clinique expliquant une augmentation durable de nombre de lymphocytes matures sanguins. Ce type de lymphocytose peut occasionnellement être causé par une réponse immunitaire, comme une réaction post-vaccinale chez un jeune chien, et se retrouve dans des situations plus exceptionnelles, tel un chien traité par un recombinant d'interleukine 2 humaine (Helfand *et al.*, 1994).

La clonalité (c'est-à-dire le fait de provenir, pour un groupe de cellules identiques, d'une même cellule) est une des caractéristiques principales des populations cellulaires tumorales, et l'utilisation de la PCR pour analyser les réarrangements géniques des cellules néoplasiques constitua un outil puissant pour démontrer l'expansion clonale tumorale (Feldman *et al.*, 2000). Durant le développement thymique des lymphocytes T, divers réarrangements concernant le codage des sous-unités du TCR ont lieu, et assurent un large répertoire et une grande spécificité des TRC. De la même façon, les gènes codant pour les immunoglobulines des lymphocytes B subissent de nombreux réarrangements durant l'ontogénèse de cette lignée cellulaire, et des modifications géniques permettent le développement de nombreuses cellules B clonales ayant chacune des immunoglobulines de surface très spécifiques. Démontrer que

les réarrangements géniques des cellules proliférantes sont identiques entre eux, prouve qu'elles proviennent toutes d'un même précurseur, confirme la clonalité, et constitue un argument de poids en faveur d'une prolifération tumorale (Feldman *et al.*, 2000 ; Presley *et al.*, 2006).

Certains cas de LLC concernant la lignée B sont accompagnés d'une hyperglobulinémie résultant d'une production d'immunoglobuline de la part des lymphocytes néoplasiques (Fournel-Fleury *et al.*, 1992). La majorité de ces chiens présentent alors une gammopathie monoclonale concernant l'isotype IgM, bien qu'il existe aussi des cas d'augmentation de la concentration d'IgA et d'IgG (Presley *et al.*, 2006). En médecine humaine, la production monoclonale d'IgM prend le nom de macroglobulinémie de Waldenström et est la conséquence de la prolifération médullaire de plasmocytes immatures (mais n'est pas une leucémie car la prolifération cellulaire tumorale ne s'étend pas au compartiment sanguin) (Leifer et Matus, 1985). L'hyperglobulinémie est très souvent accompagné d'un syndrome d'hyperviscosité sanguine et d'une protéinurie (dans 40% des cas) (Leifer et Matus, 1986). Cette protéinurie résulte d'une anomalie dans l'assemblage des chaînes légères et lourdes des immunoglobulines. Les protéines désassemblées ont une taille suffisamment réduite pour passer le filtre glomérulaire et sont collectées dans les urines, elles prennent le nom de protéines de Bence-Jones (on parle alors de protéinurie de Bence-Jones). La traduction clinique de cette protéinurie est une polyurie modérée (Presley *et al.*, 2006).

Les LLC en fin d'évolution (cela peut prendre plusieurs mois et quelques années) s'accompagnent souvent d'une décompensation et d'une dégradation très rapide de l'état de l'animal. L'état terminal des LLC peut consister en la prolifération de cellules lymphoïdes de grande taille, ressemblant aux cellules tumorales des lymphosarcomes, et appelée syndrome de Richter (Vail et Young, 2007). Ce syndrome est caractérisé par le développement rapide d'une lymphadénopathie généralisée pouvant être sévère et évoquer fortement un lymphome multicentrique. Une autre forme, plus courante, de l'évolution terminale des LLC, et des LC en général, est l'apparition d'une crise blastique caractérisée par la prolifération de cellules immatures, pouvant parfois appartenir à une autre lignée que celle proliférant initialement. Ces cellules envahissent très rapidement la moelle osseuse et le sang, et s'apparente fortement à une leucémie aigue. Cette évolution est de très mauvais pronostic et associée à un taux de rémission extrêmement bas (Couto, 2003 ; Vail *et al.*, 2007).

En médecine humaine, le diagnostic de LLC requiert une lymphocytose supérieure à 5.000 cellules/mm<sup>3</sup>, composée de lymphocytes morphologiquement matures exprimant des

marqueurs de surfaces spécifiques d'une lignée particulière. L'expansion clonale concerne essentiellement la lignée B et s'accompagne d'une infiltration médullaire, sanguine et éventuellement ganglionnaire. Contrairement à ce qui est décrit en médecine vétérinaire, l'immunophénotypage des clones B proliférants est atypique et permet aisément de diagnostiquer la maladie (Varet et Buzyn, 2003 ; Avery et Avery 2007) ; la réalisation d'un myélogramme n'est donc pas indispensable.

Comme pour les carnivores domestiques, les LLC chez l'homme sont souvent découvertes à la faveur d'un examen systématique ou d'un bilan de polyadénomégalie, et plus rarement à l'occasion d'une complication révélatrice (infections chroniques, insuffisance médullaire). Cette maladie est majoritairement diagnostiquée après 50 ans (Varet et Buzyn, 2003).

## **2. Syndromes myéloprolifératifs chroniques**

Comme les LLC, les leucémies myéloïdes chroniques font l'objet d'une prolifération tumorale de cellules matures. Cette prolifération peut toucher toutes les lignées myéloïdes : granulocytaires (neutrophile, basophile, éosinophile, monocyttaire), thrombocytaire et érythrocytaire. Les trois principales entités identifiées chez les carnivores sont la LMC, concernant les lignées granuleuses, la polycythémia vera (ou polyglobulie primitive) et la thrombocythémie essentielle. Pour ces trois pathologies, la prolifération clonale se caractérise par une conservation de la capacité de maturation de la lignée transformée, à l'origine d'une accumulation de cellules à des stades matures dans le sang. Tous les stades cellulaires de la lignée tumorale sont donc présents (à l'exception de la lignée plaquettaire pour laquelle aucune mégacaryocyte n'est présent hors du compartiment médullaire) : les stades immatures étant néanmoins minoritaires (Muller *et al.*, 1997 ; Feldman *et al.*, 2000). Comme pour les LLC, la prolifération cellulaire concerne avant tout le compartiment sanguin, et n'envahit la moelle osseuse que dans une moindre mesure. Le phénomène de myélophthisie n'intervient que lors de stades avancés, et est annoncé par les effets que l'on retrouve lors des leucémies aiguës (anémies sévères, pancytopenie...). Les caractéristiques des LMC (cytose sanguine importante, envahissement progressif de la moelle osseuse, présence de cellules tumorales immatures et de dysplasies au sein des cellules matures) conduisent certains auteurs à les considérer comme une situation intermédiaire entre les MDS et les LAM (Raskin, 1996).

L'essentiel des cellules tumorales se retrouve dans le sang ; cela se manifeste par une progression constante et inexorable de la concentration cellulaire sanguine de la lignée proliférante. Celle-ci peut atteindre des valeurs très élevées, notamment si la leucémie évolue depuis plusieurs mois (voire plusieurs années). Ces concentrations cellulaires sanguines sont généralement supérieures à 100.000 cellules/mm<sup>3</sup> pour les LMC neutrophiliques, elles peuvent parfois être multipliées par dix (par rapport aux valeurs usuelles) pour la thrombocythémie essentielle (c'est-à-dire plusieurs millions de plaquettes par mm<sup>3</sup>). Cette concentration est évaluée grâce à l'hématocrite pour la polyglobulie primitive (les valeurs de l'hématocrite sont généralement supérieures à 65%) (Young et MacEwen, 2007). La polyglobulie canine apparaît essentiellement médullaire et érythroïde (la splénomégalie est plus rare que pour les autres LMC), ce qui la distingue de la maladie équivalente humaine chez laquelle la polyglobulie intéresse toutes les lignées. Pour cette raison, certains auteurs proposent de lui donner le nom plus approprié d'érythémie ou d'érythroïse primitive (Harvey, 1981; Fournel-Fleury *et al.*, 1992). L'envahissement d'organes périphériques est constant et concerne avant tout la rate, mais aussi le foie et les nœuds lymphatiques. On rapporte plus rarement des infiltrations méningées, pulmonaires, cardiaques et rénales. Une hémato-poïèse extra-médullaire peut même apparaître dans le foie ou la rate (Muller *et al.*, 1997).

Toutes les LMC n'ont pas la même évolution car certaines d'entre elles possèdent une chronicité plus brève. C'est le cas des LMC neutrophiles (encore appelées LGC) qui évoluent rapidement (en quelques mois) vers un processus d'acutisation et dont le pronostic est plus sombre que d'autre LC. En revanche, la thrombocythémie essentielle peut évoluer pendant plusieurs années sans complication ni signe clinique, et sans qu'aucun traitement n'ait été jugé bon d'être entrepris (Feldman *et al.*, 2000).

Contrairement aux leucémies aiguës dont l'évolution brève se manifeste par un tableau clinique sévère et de mauvais pronostic, les leucémies chroniques progressent lentement et à bas bruit : les données cliniques sont peu spécifiques et n'ont qu'une faible portée diagnostique si elles sont considérées indépendamment des examens complémentaires (notamment de l'hémogramme).

## *D. Présentations cliniques*

Les conséquences pathogéniques des leucémies chroniques tiennent à leur faible pouvoir proliférant, ce qui explique la lenteur de l'évolution de la maladie. L'évolution spontanée et sans traitement des LC est proche d'un an, mais peut parfois être plus longue. En médecine humaine, certaines leucémies chroniques évoluent à bas bruit pendant plusieurs dizaines d'années, sans qu'il soit jugé nécessaire d'entreprendre un traitement (Fournel-Fleury, 2006).

Contrairement aux leucémies aiguës pour lesquelles l'envahissement rapide de la moelle osseuse provoque des cytopénies majeures et explique la sévérité des signes cliniques, le tableau clinique des leucémies chroniques est caractérisé par des signes frustes voire, dans près de la moitié des cas, un bon état général. Cependant, les signes cliniques dépendent de l'avancement de la maladie ; cela se vérifie notamment pour les LC en fin d'évolution qui tendent vers un processus aigu (Fournel-Fleury, 2006). Dans ce cas, l'envahissement, jusque là progressif, de la moelle osseuse et de certains organes périphériques (foie, rate) devient très important voire total, provoquant l'apparition de signes d'insuffisances médullaires et organiques : les symptômes sont alors ceux d'une leucémie aiguë. Par ailleurs, près de 50% des cas les animaux sont asymptomatiques (ceci est surtout vrai dans l'espèce canine, principale cible des études portant sur les leucémies chroniques) et la lymphocytose sanguine permettant d'asseoir le diagnostic n'est décelée que lors d'un examen hématologique de routine (Couto, 2003 ; Workman et Vernau, 2003).

Les propriétaires peuvent néanmoins rapporter un historique, parfois de longue date, témoignant de l'occurrence de signes cliniques non spécifiques : léthargie (dans plus de la moitié des cas), dysorexie, polyuro-polydipsie, vomissements sporadiques et, plus rarement, des diarrhées intermittentes, une perte de poids et des syncopes (Leifer et Matus, 1986). Il est important de retenir que les animaux sont rarement présentés pour une raison particulière, le diagnostic de leucémies chroniques est souvent fortuit et les patients présentent souvent un bon état général.

Comme chez l'homme, les signes cliniques sont variables et directement dépendant de l'importance de la lymphocytose sanguine, de l'infiltration médullaire et de l'envahissement des organes périphériques (notamment le foie et la rate) (Workman et Vernau, 2003). L'examen clinique révèle dans la majorité des cas une splénomégalie, une hépatomégalie, une

polyadénomégalie modérée et parfois une hyperthermie. La splénomégalie est l'anomalie clinique la plus fréquemment rencontrée (environ 70% des cas), suivie par l'hépatomégalie (40 % à 50% des cas) (Hodgkins *et al.*, 1980 ; Leifer et Matus, 1986). Le patient présente de façon constante une distension abdominale et apparaît souvent en bon état d'embonpoint ; ceci s'explique par la splénomégalie et l'hépatomégalie, conséquences des infiltrations tumorales progressives et majeures. Des muqueuses pâles sont souvent rapportées et, contrairement aux LA, la présence de pétéchies est exceptionnelle (Leifer et Matus, 1986; Couto, 2003). Lors de LLC évoluant depuis plusieurs mois et ayant abouti à une cytopénie des autres lignées que celle proliférant, il n'est pas rare d'observer des infections secondaires et récurrentes ; ces infections (le plus souvent bactériennes) touchent différents appareils : pyodermite, bronchopneumonie, entérites, et évoluent parfois vers une septicémie (Leifer et Matus, 1986).

Dans de rares cas de LLC où la prolifération cellulaire concerne la lignée lymphocytaire B, le tableau clinique est parfois complété par un syndrome d'hyperviscosité sanguine engendré par une gammapathie monoclonale. Ce syndrome d'hyperviscosité n'accompagne pas systématiquement les gammapathies monoclonales des LCL, et se traduit cliniquement par des troubles hémostatiques comme des saignements oculaires, des saignements des muqueuses, une épistaxis, des pétéchies, et plus rarement une insuffisance rénale, des troubles neurologiques ou une insuffisance cardiaque congestive (Leifer et Matus, 1985; Presley, *et al.*, 2006). Le phénomène de gammapathie monoclonale est moins sévère dans les cas de myélome multiple ; les gammapathies monoclonales rencontrées lors de LLC humaines sont caractérisées par une sécrétion d'immunoglobulines bien supérieure à celles accompagnant les LLC des carnivores domestiques. Deux études (Leifer et Matus, 1985 ; Leifer et Matus, 1986) détaillant respectivement 20 et 22 cas de LLC canines, rapportent une gammapathie monoclonale (concernant principalement les IgM) dans 50% et 68% des cas. Cela peut paraître surprenant car des études plus récentes affirment que, parmi les cas de LLC, la lignée T est la plus fréquemment touchée (Dobson *et al.*, 2003). Cependant, les deux études précédentes (Leifer et Matus, 1985 ; Leifer et Matus, 1986) ont été menées il y a plus de 20 ans, à une époque où les techniques d'immunophénotypage n'étaient pas encore disponibles.

L'évolution terminale des LLC aboutissant au syndrome de Richter est caractérisée cliniquement par l'apparition rapide d'une lymphadénopathie généralisée, parfois si sévère qu'elle peut évoquer un lymphosarcome multicentrique (Leifer et Matus, 1986 ; Vail et Young, 2007). Dans ces situations, la taille des nœuds lymphatiques peut parfois atteindre 15 fois leur taille normale (Couto, 2003). D'autres cas de LLC peuvent évoluer vers une crise

blastique aiguë caractérisée par la prolifération de cellules immatures (blastes cellulaires) et l'envahissement rapide des compartiments médullaire puis sanguin. Ce dernier phénomène est semblable à celui des leucémies aiguës lymphoblastiques. Ces deux situations d'évolution aiguë sont de très mauvais pronostic et difficile à traiter (Presley *et al.*, 2006).

La leucémie plasmocytaire, pathologie rarissime et très peu documentée chez le chien comme chez le chat, s'apparente cliniquement aux LLC sécrétantes de type B. Le tableau clinique recouvre un syndrome d'hyperviscosité sanguine, une organomégalie périphérique (hépatomégalie et splénomégalie), des signes d'insuffisances des autres lignées sanguines (pâleur des muqueuses, diverses hémorragies) et un syndrome fébrile (Couto *et al.*, 1984 ; Radhakrishnan *et al.*, 2004).

Comme les LLC, il n'est pas rare que les leucémies myéloïdes chroniques soient asymptomatiques, et seront alors diagnostiquées suite à la réalisation d'examen complémentaires. Dans le cas contraire, les motifs de consultations sont constants et peu évocateurs d'une affection précise (léthargie, dépression, fatigabilité, dysorexie, polydipsie, vomissements, diarrhée). Les données cliniques varient peu de celles observées lors des LLC ; on constate souvent une anémie plus ou moins sévère, une splénomégalie, une hépatomégalie (moins systématique), une adénomégalie modérée (dont la localisation est variable), une hyperthermie, des signes variables d'infections (surtout respiratoires et cutanées) (Grindem *et al.*, 1992 ; Ndikuwera *et al.*, 1992 ; Muller *et al.*, 1997 ; Fine et Tvedten, 1999 ; Feldman *et al.*, 2000). Selon la lignée cellulaire touchée par la prolifération tumorale, certaines variabilités cliniques peuvent survenir. Les leucémies chroniques mastocytaires s'accompagnent souvent de désordres digestifs (vomissements réguliers, diarrhée, anorexie) qui sont souvent causés par des ulcérations duodénales, stomacales suite à une libération constante d'histamine par les cellules néoplasiques. Lors d'évolution de longue durée, cette sécrétion histaminique aboutit parfois à des perforations digestives voire des péritonites (Feldman *et al.*, 2000). Ces complications gastrointestinales ont été observées chez l'homme atteint de leucémie chronique basophile et s'accompagnent de crises d'urticaires (Dastugue *et al.*, 1997). La thrombocythémie essentielle engendre avant tout des troubles de l'hémostase dominés par des hémorragies de degrés variables (allant de l'hématome à l'épanchement hémorragique) ou par des thromboses (situées le plus souvent au niveau des artères pulmonaire et de la trifurcation iliaque) (Hammer *et al.*, 1990 ; Bass et Schultze, 1998). La polyglobulie vraie entraîne, selon l'importance de l'érythrocytose, un syndrome d'hyperviscosité sanguine résultant d'une diminution du débit sanguin et de l'hypoxie

tissulaire concomitante. Le tableau clinique est très évocateur de ces anomalies sanguines : les muqueuses sont rouge brique à rouge foncé, des signes neurologiques peuvent apparaître (amaurose, asthénie, torpeur, ataxie, crise convulsive), une tendance aux saignements est souvent rencontrée, les vaisseaux rétiniens sont dilatés et tortueux, et des signes moins spécifiques apparaissent (anorexie, vomissements, polyurie, polydipsie, splénomégalie) (Reed *et al.*, 1970 ; McGrath , 1974 ; Watson *ret al.*, 1994).

Les données cliniques sont généralement frustes, peu spécifiques des leucémies chroniques, et révèlent souvent un bon état général de l'animal (surtout dans les cas des leucémies myéloïdes chroniques). De surcroît, l'anamnèse de la maladie (durée d'évolution, accentuation des symptômes) ainsi que ses caractéristiques épidémiologiques (notamment l'âge) ont une meilleure portée diagnostique que les signes cliniques décrits ci-dessus et considéré de façon isolée. Néanmoins, le diagnostic de leucémies chroniques (lymphoïde ou myéloïde) ne peut être définitif qu'après la réalisation d'examen complémentaires, ceux-ci permettant d'objectiver la prolifération cellulaire et d'en assurer l'origine tumorale.

## ***E. Diagnostic***

### **1. Hémogramme et frottis sanguin**

Contrairement aux leucémies aiguës, le diagnostic de certitude de leucémies chroniques (que ce soit lymphoïde ou myéloïde) s'appuie avant tout sur les données de l'hémogramme, et, bien entendu, sur les signes cliniques de l'animal.

Pour tous types de LC confondues, l'hémogramme révèle une cytose sanguine majeure en constante augmentation. Comme pour les LA, la notion d'évolution dans le temps des données de l'hémogramme (ou du myélogramme), et donc la nécessité de reproduire ces examens, est essentielle pour le diagnostic de certitude. En effet, cela permettra de discerner les processus tumoraux, et de ce fait durables, des évolutions inflammatoires pouvant parfois conduire à des valeurs proches. Ceci est particulièrement vrai pour les leucémies myéloïdes chroniques.

### a) *Leucémies lymphoïdes chroniques*

A l'hémogramme, l'anomalie majeure et la plus caractéristique est une lymphocytose modérée à très marquée. En effet, en ce qui concerne les LLC canines, la numération lymphocytaire sanguine varie habituellement entre 6.000 et 100.000 cellules/mm<sup>3</sup>, et peut parfois dépasser 1.000.000 cellules/mm<sup>3</sup> dans les cas les plus avancés (Leifer et Matus, 1985 ; Leifer et Matus, 1986 ; Vernau et Moore, 1999 ; Feldman *et al.*, 2000 ; Couto, 2003). En 1986, au cours d'une étude réalisée sur 22 chiens chez lesquels une LLC avait été objectivée, la lymphocytose moyenne de tous les cas étudiés était environ égale à 40.000 cellules/mm<sup>3</sup> (Leifer et Matus, 1986). Une étude menée sur 73 cas de LLC canines rapporta des lymphocytoses extrêmes atteignant 1.600.000 cellules/mm<sup>3</sup> (Vernau et Moore, 1999). Chez le chat, les rares cas de LLC décrits font état de lymphocytoses allant de 36.000 à 250.000 cellules/mm<sup>3</sup> (Vail et Young, 2007). Une étude non publiée, menée par Vernau et Workman et décrivant 12 cas de LLC félines, rapporté des valeurs de lymphocytoses comprises entre 22.000 et 575.000 cellules/mm<sup>3</sup> (Workman et Vernau, 2003).

A titre informatif, les valeurs usuelles des numérations lymphocytaires sanguines sont comprises entre 800 à 1.300 cellules/mm<sup>3</sup> chez le chien, et entre 1.500 et 7.000 chez le chat (Médaille et Briend-Marchal, 2008).

En médecine humaine, le diagnostic de LLC requiert une valeur de lymphocytose supérieure à 5.000 cellules/mm<sup>3</sup>, composée de lymphocytes matures exprimant des marqueurs de surfaces spécifiques et témoignant d'une provenance commune.

En médecine vétérinaire, il n'y a pas de consensus concernant des valeurs hématologiques précises aboutissant au diagnostic de certitude. On s'appuiera avant tout sur l'importance de cette lymphocytose et sur sa pérennité (généralement supérieure à 3 mois), et toujours associées à un état clinique bon et stable. La lymphocytose est importante, durable, mais peut s'avérer fluctuante (Workman et Vernau, 2003). Néanmoins, la plupart du temps, celle-ci progresse inexorablement tout au long de l'évolution de la maladie, et ne peut être atténuée que par la mise en place d'un traitement anti-cancéreux.

Les lymphocytes proliférants ont un aspect de lymphocyte ayant achevé son processus de maturation ; c'est-à-dire de petite taille, avec un noyau de taille réduite (7 à 9 µm de diamètre chez le chien) et comprenant une chromatine condensée.

Les autres anomalies révélées par l'hémogramme sont dominées par des signes inconstant de pancytopénie, touchant surtout la lignée rouge (et se traduisant alors par une

anémie) et la lignée plaquettaire. D'une façon générale, les cytopénies engendrées par l'envahissement médullaire de la lignée tumorale, lorsqu'elles sont présentes, sont modérées (Avery et Avery, 2007).

L'anémie affecte environ 80% des chiens atteints de LLC (Leifer et Matus, 1986 ; Morris *et al.*, 1993 ; Couto, 2003). Cette anémie est la plupart du temps normocytaire, normochrome et non régénérative, cependant, une étude rapporte que près de 20% des chiens à LLC présentaient une anémie macrocytaire, hypochrome et régénérative (Leifer et Matus, 1986). L'anémie, contrairement aux cas de LA, est généralement discrète à modérée, et est mise en évidence par des valeurs d'hématocrite comprises entre 20% et 30% pour les anémies modérées, et inférieures à 20% pour des anémies plus sévères (Vernau et Moore, 1999).

La lignée plaquettaire peut également être concernée par cette cytopénie ; la thrombocytopénie est alors modérée. Une étude rapporte que près de 50% des chiens atteints de LLC présentaient une concentration plaquettaire inférieure à 100.000 cellules/mm<sup>3</sup> (Leifer et Matus, 1986). Une autre étude rétrospective (sur 73 cas de LLC canines) rapporta qu'une thrombocytopénie était présente chez 27% des chiens, et, parmi eux, 72% présentaient une concentration plaquettaire sanguine comprise entre 100.000 et 150.000 cellules/mm<sup>3</sup> (révélant une discrète thrombocytopénie) (Vernau et Moore, 1999). La concentration plaquettaire sanguine chez un chien sain est comprise entre 150.000 et 500.000 cellules/mm<sup>3</sup>, et celle d'un chat sain entre 200.00 et 600.000 cellules/mm<sup>3</sup> (Médaille, 2008).

Contrairement aux LLA, on observe rarement une neutropénie lors de cas de LLC canines (Presley *et al.*, 2006). En effet, au cours de l'étude menée par Moore et Vernau, aucun cas de neutropénie (objectivée lorsque que la concentration en polynucléaires neutrophiles sanguins est inférieure à 3.000 cellules/mm<sup>3</sup>) ne fut détectée (Vernau et Moore, 1999).

Le diagnostic différentiel dans l'espèce canine concerne avant tout l'ehrlichiose chronique, qui se caractérise par une lymphocytose sanguine constante et élevée (de l'ordre de 10.000 cellules/mm<sup>3</sup>). Les lymphocytes circulants sont atypiques car ils sont de grande taille et comportent de nombreuses granulations. La distinction entre les deux pathologies (LLC et ehrlichiose chronique) n'est pas toujours aisée, surtout dans les stades débutants de LLC. Si l'analyse du frottis sanguin ne lève pas le doute sur la nature de la lymphocytose, l'immunophénotypage et/ou le test de clonalité (par PCR), et surtout la réalisation d'une sérologie permettront de finaliser de diagnostic différentiel (Fournel-Fleury *et al.*, 1992 ; Presley *et al.*, 2006).

En raison du très faible nombre de cas rapportés, les anomalies hématologiques (autres que la lymphocytose majeure) liées aux LLC félines n'ont pas été caractérisées avec précision. Cependant, les rares cas décrits font état de similitudes avec le modèle canin : une anémie modérée souvent non régénérative, et une concentration plaquettaire normale à légèrement diminuée sont rapportées (Workman et Vernau, 2003).

A la différence de l'espèce canine, le diagnostic différentiel est beaucoup délicat chez le chat. En effet, cette espèce se caractérise par son extrême propension à développer des lymphocytoses sanguines, médullaires et tissulaires importantes face à un grand nombre d'infections. Il faut donc suivre avec soin la lymphocytose constatée, en réaliser une cinétique, effectuer des biopsies (notamment médullaire et splénique) et rechercher les causes infectieuses de lymphocytose (Fournel-Fleury *et al.*, 1992 ; Fournel-Fleury, 2006).

### *b) Leucémies myéloïdes chroniques*

#### (1) Leucémie granulocytaire chronique

La leucémie granulocytaire chronique (LGC) est caractérisée par une granulocytose sanguine importante et progressive. La lignée neutrophile prédomine très largement sur les autres lignées granulocytaires, et la grande majorité des cellules proliférantes sont matures. Cependant, certains précurseurs des différentes lignées granulocytaires (formes blastique identiques à celles des LAM) peuvent être retrouvés dans le compartiment sanguin (Feldman *et al.*, 2000). La numération leucocytaire sanguine chez les chiens atteints de LGC s'étend de 16.000 à 169.000 cellules/mm<sup>3</sup>, et, chez le chat, des concentrations proches de 400.000 cellules/mm<sup>3</sup> ont été mesurées. La formule sanguine compte généralement plus de 90% d'éléments myéloïdes, toujours dominés par la lignée neutrophile, mais aussi une myélémie (présence d'éléments granuleux immatures) sans que les myéloblastes ni les promyélocytes ne dépassent 7% des leucocytes sanguins (Fournel-Fleury *et al.*, 1992).

Une étude rétrospective menée sur 13 chiens atteints de LMC rapporta des données éloquentes : la concentration leucocytaire moyenne atteignait 96.300 cellules/mm<sup>3</sup> (les concentrations s'échelonnaient de 23.900 à 248.000 cellules/mm<sup>3</sup>) ; on comptait parmi cette population 8% de granulocytes immatures, 63% de neutrophiles matures, 16% de neutrophiles à noyau non segmenté, 7% de lymphocytes, 3% de monocytes et 1% d'éosinophiles. L'hématocrite moyen était de 28% (pour des valeurs allant de 18% à 32%), démontrant ainsi une anémie quasi systématique (Grindem *et al.*, 1992). D'autres cas rapportent une anémie plus sévère (12%), non régénérative, et des concentrations leucocytaires comparables à celles

précédemment décrites : une concentration leucocytaire égale à 109.500 cellules/mm<sup>3</sup>, une concentration en neutrophile matures très marquée (86.500 cellules/mm<sup>3</sup>) et un important contingent de neutrophiles à noyau non segmenté (12.100 cellules/mm<sup>3</sup>, les neutrophiles à noyau non segmenté sanguins sont très peu nombreux chez les sujets sains) (Tarrant *et al.*, 2001).

La population cellulaire proliférante est donc rarement homogène car on constate souvent une concentration sanguine élevée en granulocytes neutrophiles à noyau non segmenté accompagnant le flot de neutrophiles matures, nettement majoritaires.

La concentration sanguine plaquettaire est souvent normale à augmentée (de 500.000 à 1.000.000 cellules/mm<sup>3</sup>), confirmant que l'envahissement médullaire reste modéré et n'aboutit que rarement à une réelle myélophthisie (Tarrant *et al.*, 2001).

La démarche diagnostique face à une suspicion de LGC est simple et dictée par des données cliniques. Face à une leucocytose neutrophilique, il faudra prioritairement rechercher une cause classique c'est-à-dire l'existence d'un foyer inflammatoire, en particulier d'un foyer pyogène fermé qui sont responsables des plus importantes neutrophilies sanguines, et dont le pyomètre en est l'exemple le plus commun. En outre, il faut savoir que certains syndromes paranéoplasiques peuvent se caractériser par une augmentation importante de la concentration granulocytaire sanguine (cela concerne notamment la population neutrophile et éosinophile). Il est donc important de rechercher un processus tumoral d'une autre nature que celle avancée par l'hypothèse de LMC.

Les trois prochaines sous-parties traitant des leucémies chroniques basophile, éosinophile, myélomonocytaires et monocytaires, sont des sous-types de LMC, car il est habituel de confondre LMC et LGC étant donnée la plus forte représentativité des leucémies chroniques neutrophiliques par rapport aux autres lignées myéloïdes.

## (2) Leucémies basophiles chroniques

Pour les LBC (leucémies basophiles, le terme de chronique étant sous-entendu et rarement précisé dans la littérature) l'hémogramme révèle une circulation excessive de granulocytes basophiles dans la circulation sanguine. Les formes matures prédominent nettement et peuvent être accompagnées de métamyélocytes basophiles (Mahaffey *et al.*, 1987 ; Mears *et al.*, 1997). Parmi les 6 cas de LBC canine rapportés, la concentration basophilique sanguin était comprise entre 2.200 et 45.200 cellules/mm<sup>3</sup> (les valeurs usuelles varient entre 0

et 200 cellules/mm<sup>3</sup>). Dans la majorité des cas, on observe une anémie non régénérative discrète à modérée, accompagnée d'une éosinophilie sanguine. La concentration plaquettaire est normale à légèrement augmentée.

La difficulté principale du diagnostic de LBC réside dans sa distinction avec la leucémie chronique mastocytaire, car les cellules proliférantes sont morphologiquement proches. La microscopie photonique après coloration du frottis ne permet pas systématiquement (pour un œil non aguerri) de trancher, et le recours au marquage cytochimique est parfois nécessaire (Mears *et al.*, 1997).

Les basophiles matures présentent un noyau segmenté, des granulations cytoplasmiques violettes foncées (coloration MGG) en nombre variable ; les mastocytes sont caractérisés par un noyau ovale, par de nombreuses granulations cytoplasmiques de petite taille, et dont la métachromasie (coloration violette par le bleu de toluidine) permet l'identification (Feldman *et al.*, 2000).

La LBC doit également être différenciée d'une basophilie secondaire à une réaction d'hypersensibilité, inflammatoire et d'un syndrome paranéoplasique, ce dernier étant souvent associé à une mastocytose. Dans ce contexte, la présence de métamyélocytes basophiles sanguins en nombre important est un argument en faveur de la leucémie basophile (Feldman *et al.*, 2000). La réalisation d'un myélogramme et/ou d'une biopsie médullaire peut également fournir des informations décisives.

### (3) Leucémies éosinophiles chroniques

La leucémie éosinophile (rapportée seulement chez le chat) est caractérisée par un important contingent éosinophile mature sanguin. De rares études rapportent des concentrations sanguines allant de 29.900 à 180.000 cellules/mm<sup>3</sup>, avec la présence d'éosinophiles immatures (12.000 cellules/mm<sup>3</sup>) (Swenson *et al.*, 1993 ; Sharifi *et al.*, 2007). Les cellules proliférantes sont parfois faiblement granuleuses et leur identification est souvent difficile.

La leucémie éosinophile (LE) doit être différenciée des syndromes hyperéosinophiliques (SHE), fréquemment rencontrés chez le chat. On parle de SHE lorsque la numération éosinophilique sanguine dépasse 1.500 cellules/mm<sup>3</sup> (Huibregtse et Turner, 1994). Les SHE sont rencontrés dans plusieurs pathologies félines telles l'asthme félin, lors de parasitismes, d'entérites éosinophiliques, de complexe granulome éosinophile, et sont un des syndromes paranéoplasiques (notamment lors de mastocytomes). La distinction

hématologique entre LE et SHE n'est jamais simple ; si l'éosinophilie est souvent plus marquée lors de LE, cette donnée n'est pas suffisante pour trancher. En outre, l'argument de la pérennité d'une éosinophilie en défaveur des SHE n'est pas non plus recevable car ceux-ci entraînent très souvent un état hyperéosiniphilique durable avec envahissement organique. Deux critères hématologiques permettent néanmoins discerner l'origine de l'éosinophilie : la présence d'éosinophiles sanguins immatures en nombre important et la survenue d'une anémie sont des éléments en faveur d'une leucémie éosinophile. Une étude rétrospective comparant LE et SHE rapporta que des éosinophiles immatures furent détectés chez 5 chats sur 6 atteints de LE, contre seulement 3 chats sur 13 atteints d'un SHE. De surcroît, le taux d'éosinophiles immatures étaient supérieurs dans les cas de LE. L'hématocrite moyen chez les chats à LE était de 25%, alors qu'il était de 34% pour ceux atteints d'un SHE (Huibregtse et Turner, 1994). L'examen de la moelle osseuse fournit également des informations pour étayer ce diagnostic différentiel.

#### (4) Leucémies monocyttaire et myélomonocytaire chroniques

Très peu de cas décrivent ces types de LMC, qui, contrairement aux carnivores domestiques, est bien connue en médecine humaine. Les leucémies monocytaires chroniques (LMOc) et myélomonocytaires chroniques (LMMoC) résultent respectivement d'une prolifération sanguine massive de monocytes et d'une prolifération sanguine mixte de monocytes et de granulocytes (tableau 22). Une anémie intervient dans les deux cas et les autres lignées leucocytaires souffrent souvent de cytopénie. Chez l'homme, la prédominance de monocytes dans le cas de LMMoC et l'envahissement splénique sont des indicateurs pronostiques négatifs de cette maladie. Pour cela, comme pour tous types de LC, il est primordial de répéter les analyses sanguines afin de suivre avec précision l'évolution de la maladie (Bearman *et al.*, 1981 ; Feldman *et al.*, 2000).

Tableau 22: Données hématologiques distinguant LGC et LMMoC en médecine humaine (Feldman *et al.*, 2000).

<b>Données de l'hémogramme</b>	<b>LGC</b>	<b>LMMoC</b>
<b>Basophiles</b>	$\geq 2\%$	$< 2\%$
<b>Monocytes</b>	$< 3\%$	$\geq 3-10\%$ ; souvent $> 10\%$
<b>Dysplasies granulocytaires</b>	Aucune	Présentes
<b>Granulocytes immatures</b>	$> 20\%$	$\leq 10\%$
<b>Blastes</b>	$\leq 2\%$	$< 2\%$

#### (5) Polyglobulie vraie

La polyglobulie vraie ou *polycythemia vera* (PV) a plusieurs conséquences hématologiques : une augmentation marquée de l'hématocrite (65% à 80%), des cellules circulantes issues de la lignée rouge et du taux d'hémoglobine. Cette prolifération néoplasique est indépendante des facteurs de croissance des précurseurs érythroïdes (EPO notamment). En outre, le diagnostic de PV nécessite la connaissance de deux données : le volume plasmatique et la concentration d'érythrocytes sanguins. Cela permet de discerner une polyglobulie réelle (c'est dire une augmentation de la masse d'érythrocytes circulants et ayant une origine tumorale) d'une hémococoncentration ou fausse polyglobulie (c'est à dire une diminution du volume plasmatique suite à une déshydratation, un choc ou lors d'un traitement à base de diurétiques) et d'une polyglobulie secondaire. Cette dernière ayant lieu lors d'insuffisance

cardio-respiratoire chronique (insuffisance de l'hématose), de tumeurs productrices d'EPO ou de substances EPO-like (lymphome et carcinome rénaux), de maladies rénales chroniques aboutissant à une augmentation de la production d'EPO (hydronéphrose, kystes rénaux), et d'hémoglobinopathies associées à une augmentation de l'affinité pour l'oxygène de l'hémoglobine (Fournel-Fleury *et al.*, 1992 ; Feldman *et al.*, 2000). Un examen judicieux dans l'exploration de la PV est le dosage plasmatique de l'EPO. Il faut également se rappeler l'existence physiologique d'un hématocrite élevé (60%) chez certaines races sportives, notamment chez le Greyhound. Le diagnostic de PV est donc un diagnostic d'exclusion des autres causes provoquant une augmentation du contingent érythrocytaire sanguin.

La leucocytose et la thrombocytose couramment observées en médecine humaine sont peu fréquentes chez les carnivores domestiques. Une étude rétrospective menée sur 11 chiens atteints de PV rapporta une augmentation de la masse érythrocytaire sanguine dans 100% des cas, une augmentation de la masse sanguine totale dans 80% des cas. Par ailleurs, une leucocytose fut observée chez seulement 3 chiens, et une thrombocytose chez 4 chiens (McGrath *et al.*, 1982).

#### (6) Thrombocythémie essentielle

Rares sont les études menées sur des carnivores domestiques qui rapportent des cas de thrombocythémie essentielle (TE). Cette maladie doit être différenciée des thrombocytoses secondaires aux phénomènes inflammatoires, traumatiques et tumoraux. La TE est caractérisée par une thrombocytose sévère (généralement supérieure à 600.000 cellules/mm<sup>3</sup>), durable, et par une fonction plaquettaire défectueuse (Hammer *et al.*, 1990 ; Bass et Schultze, 1998). Un cas de TE canine fait état d'une concentration plaquettaire variant de 577.000 à 1.200.000 cellules/mm<sup>3</sup> sur 72 semaines, associée à des anomalies morphologiques (gigantisme plaquettaire, forme en serpent) expliquant l'insuffisance fonctionnelle plaquettaire (Bass et Schultze, 1998). D'autres études rapportent une concentration plaquettaire sanguine habituellement supérieure à 1.000.000 cellules/mm<sup>3</sup> et des situations extrêmes à près de 5.000.000 cellules/mm<sup>3</sup> (Fournel-Fleury *et al.*, 1992). Une anémie microcytaire hypochrome est souvent rapportée lors de TE.

Les causes de thrombocythémies secondaires doivent être écartées ; celles-ci regroupent les anémies par carence en fer, les inflammations chroniques, les anémies hémolytiques, les thrombocythémies "rebond" secondaires à une correction d'une thrombocytopenie à médiation immune, les thrombocythémies "rebond" faisant suite à une splénectomie ou à une

contraction splénique (Feldman *et al.*, 2000). Il faut avoir conscience que les carences en fer sont responsables de thrombocythémies très importantes (avec des valeurs comprises entre 800.000 et 1.200.000 cellules/mm<sup>3</sup>) et doivent être prises en compte en priorité dans le diagnostic différentiel [13].

En médecine humaine, cinq critères ont été avancés afin de certifier le diagnostic de TE : (1) une concentration plaquettaire supérieure à 600.000 cellules/mm<sup>3</sup>, (2) un hémocrite normal, (3) une concentration ferrique sanguine normale, (4) une absence de myélofibrose, (5) une absence de cause de thrombocythémie réactionnelle (Hammer *et al.*, 1990).

## 2. Electrophorèse

Cet examen est utile pour explorer les gammopathies monoclonales et les hyperglobulinémie survenant dans le cas de LLC. Une étude rapporte que parmi 22 chiens atteints de LLC, sept chiens (32%) présentaient une hyperglobulinémie, et 15 chiens (68%) avaient une gammopathie monoclonale (Leifer et Matus, 1986). La détermination de la lignée (lignée T ou B) ne fut pas réalisée. La gammopathie monoclonale est surtout associée à la LLC à cellules lymphocytaires de type B, qui est plutôt rare chez les carnivores domestiques (Workman et Vernau, 2003). Elle aboutit à une hyperprotéinémie qui est la conséquence de la sécrétion importante d'immunoglobulines par les lymphocytes B tumoraux. Néanmoins, la gammopathie monoclonale est avant tout associée aux tumeurs plasmocytaires (notamment le myélome multiple) et à des infections comme l'ehrlichiose chronique (Ruslander *et al.*, 1997).

L'électrophorèse des protéines sériques est indiquée dans les cas d'hyperglobulinémie ou d'une hyperprotéinémie marquée (> 90g/L), et confirme la présence d'une gammopathie monoclonale chez les LLC à lymphocytes B. L'électrophorèse consiste à séparer des protéines chargées sur la base de leur migration différentielle dans un champ électrique en fonction de leur masse et de leur charge. L'électrophorèse sépare ainsi les protéines sériques en fractions protéiques ou régions qui sont, de l'anode vers la cathode : albumine,  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  et  $\gamma$  globulines. L'intégration de l'aire sous la courbe pour chaque fraction permet son expression en pourcentage et en valeur absolue par rapport au dosage des protéines totales (Fina, 2009). L'électrophorèse permet donc de visualiser grossièrement la distribution des protéines sériques. L'isotype de classe de l'immunoglobuline monoclonale (issue du pic observé dans ce cas précis) ne peut être déterminé qu'avec l'aide de l'immunoélectrophorèse.

L'immunoélectrophorèse est une méthode d'appréciation qualitative qui consiste à identifier la nature immunochimique des protéines. Elle permet de discriminer les protéines grâce à trois propriétés : leur mobilité électrophorétique, leur diffusion en gel et leur spécificité antigénique (Fina, 2009). La détermination de la classe des immunoglobulines à une valeur prédictive quant à la probabilité d'apparition d'un syndrome d'hyperviscosité sanguine (lorsque celui-ci n'est pas déjà présent) qui est beaucoup plus fréquent lorsque les classe IgM et IgA sont concernées (Workman et Vernau, 2003). L'autre utilité de l'immunoélectrophorèse consiste à révéler si la gammopathie monoclonale est la conséquence d'une ehrlichiose ou d'une LLC. En effet, les LLC sont majoritairement associées à une production excessive d'IgM, alors que l'ehrlichiose entraîne systématiquement une gammopathie de classe G. Cependant, le titrage sérologique pour *Ehrlichia spp* est une méthode beaucoup plus spécifique et souvent préférée à l'immunoélectrophorèse pour écarter l'hypothèse de cette infection (Moore et Rossitto, 1993).

### **3. PCR ou amplification en chaine par polymérisation**

La PCR est utilisé chez les carnivores domestiques pour démontrer la clonalité des lymphocytes proliférants. La clonalité, pour une cellule ou un ensemble de cellules, est définie comme le fait de provenir d'une même cellule. Les cellules dérivant de cette unique cellule sont identiques entre elles, ce qui implique qu'elles partagent toutes les caractéristiques génotypiques et phénotypiques permettant d'objectiver leur origine commune (Dreitz *et al.*, 1999 ; Burnett *et al.*, 2003). La clonalité est la caractéristique première du phénomène d'expansion tumorale ; on entrevoit ainsi l'intérêt de mettre en évidence cette propriété qu'est la clonalité dans la distinction entre processus tumoral et phénomène réactionnel (notamment inflammatoire). Bien que cette différenciation entre composante néoplasique et réactionnelle soit parfois évidente, notamment dans les cas de lymphocytoses extrêmes, la PCR se révèle être très utile dans le cas de cytoses durables, jugées douteuses, et situées dans des intervalles de valeurs intermédiaires (10.000 à 20.000 cellules/mm<sup>3</sup>) (Workman et Vernau, 2003 ; Presley *et al.*, 2006).

Les lymphocytes B et T possèdent des récepteurs de surface spécifiques à chaque cellule. En l'absence de prolifération tumorale, tous les lymphocytes possèdent leur unicité. Cette spécificité est le résultat de recombinaisons entre les segments des gènes V, D et J

(Dreitz *et al.*, 1999 ; Burnett *et al.*, 2003). Ces réarrangements de portions d'ADN assurent une véritable empreinte digitale à chaque lymphocyte.

L'ADN est extrait des lymphocytes tumoraux, et la PCR est utilisé pour déterminer la nature des réarrangements génétiques codant pour les récepteurs de surface (TCR et BCR) issus de l'ADN isolé. La présence d'un réarrangement clonal (c'est-à-dire plusieurs cellules partageant le même type de recombinaisons entre les portions de gènes évoqués précédemment) est révélatrice de la présence d'un processus tumoral.

Une étude menée sur 77 chiens dont le diagnostic de processus lymphoïde tumoral était établi, démontra que dans 91% des cas, la clonalité put être confirmée par PCR (Burnett *et al.*, 2003). Dans cette même étude, parmi 24 chiens dépourvus de processus tumoral lymphoïde, seul un cas (qui avait un titre élevé pour *Ehlichia canis*) révéla être le siège d'un réarrangement clonal.

Par ailleurs, il doit être précisé que si la plupart des proliférations lymphocytaires tumorales sont clonales, toutes les proliférations lymphocytaires clonales ne sont pas néoplasiques. Ainsi, l'interprétation d'un test PCR ne doit pas se faire sans l'historique de l'animal, les données cliniques ni les résultats des examens hématologiques. En outre, il est impossible d'interpréter un test PCR sans avoir préalablement déterminé la lignée lymphocytaire proliférant grâce à l'immunophénotypage.

En conclusion, les principales étapes permettant de différencier une prolifération lymphocytaire tumorale d'une prolifération réactionnelles seraient en théorie (car non pratiquées en routine) : (1) démontrer une expansion phénotypiquement homogène d'une population lymphocytaire, (2) établir une clonalité cellulaire, (3) identifier des anomalies chromosomiques, (4) identifier la présence d'un oncogène associée au caractère tumoral de la prolifération. Les deux premières étapes sont souvent pratiquées en médecine vétérinaire, mais les deux suivantes, largement connues en médecine humaine, ne sont pas disponibles chez les carnivores domestiques. Cependant, depuis le séquençage du génome canin dans son intégralité, le développement de techniques moléculaires permettant d'examiner les aberrations chromosomiques, constituant la cause des leucémies chez l'homme, autorisera le développement de meilleurs outils diagnostiques (Presley *et al.*, 2006 ; Avery et Avery, 2007).

En médecine humaine, le diagnostic repose essentiellement sur la mise en évidence d'anomalies génétiques caractérisant certains types de LC. C'est surtout le cas pour les LMC qui sont souvent associées à une anomalie chromosomique caractéristique appelée

translocation de Philadelphie. Cette translocation chromosomique réciproque s'effectue entre les chromosomes 9 et 22 (nommée t(9;22)(q34;q11)), et aboutit à un échange de matériel génétique (Fournel-Fleury, 2006).

#### **4. Myélogramme, biopsies médullaire et splénique**

Pour tous les types de leucémies chroniques confondus, si l'hémogramme est l'examen essentiel du diagnostic, le myélogramme se révèle beaucoup moins intéressant qu'il ne l'était pour les leucémies aiguës. Les biopsies ostéomédullaire et splénique sont souvent plus informatives quant à l'état de la moelle osseuse (notamment son degré de fibrose, fréquente dans les stades avancés) et pour évaluer l'envahissement tumoral (Muller *et al.*, 1997).

Le myélogramme n'est pas indispensable pour les stades tardifs de LLC, en raison des valeurs de numérations lymphocytaires sanguines fortement significatives et évocatrices de la maladie. Cependant, lors de stades précoces, pour lesquels les concentrations sanguines lymphocytaires sont peu marquées et peuvent prêter à confusion, il est conseillé de réaliser un myélogramme pour constater un début d'envahissement médullaire (Fournel-Fleury *et al.*, 1992). Ce sera un argument en faveur d'une LLC, mais, dans tous les cas, il est nécessaire de répéter les examens hématologiques afin de suivre l'évolution de la lymphocytose. L'observation du myélogramme révèle souvent une infiltration cellulaire par de petits lymphocytes matures, une diminution légère à modérée du nombre des précurseurs des lignées myéloïde et érythroïde, et une densité mégacaryocytaire normale à légèrement diminuée (Leifer et Matus, 1986). Dans les cas de LLC, le myélogramme met en évidence une augmentation anormale du compartiment lymphocytaire médullaire, qui est très minoritaire chez les individus sains. La lymphocytose médullaire dépasse 20% du contingent cellulaire médullaire total, et cela même dans les stades précoces (Fournel-Fleury *et al.*, 1992 ; Fournel-Fleury, 2006). Les lymphocytes médullaires matures sont identiques à ceux ayant gagné la circulation sanguine et ne sont pas discernables de lymphocytes sains ; seul l'envahissement médullaire marqué tient lieu d'argument (Dobson *et al.*, 2006).

Les "leucémies" lymphoïdes à grands lymphocytes prolifèrent en premier lieu dans la rate ; les lymphocytes tumoraux gagnent la moelle osseuse dans un temps plus avancé de la maladie. Ainsi, la constatation d'un envahissement lymphocytaire massif de la rate associé à une moelle osseuse modérément riche en lymphocytes, est un argument en faveur d'une LLC à LGL (Workman et Vernau, 2003).

Cliniquement, les LLC sont souvent accompagnées d'une adénomégalie (77% des cas (Leifer et Matus, 1986)) et il est tentant de les cytoponctionner pour réaliser un adénogramme. Cependant, les résultats de cet examen n'ont aucune valeur diagnostique, en raison des similitudes morphologiques entre les lymphocytes tumoraux et les lymphocytes sains. En effet, il ne sera pas rare, en cas d'adénopathie, de constater un nombre important de lymphocytes présents dans les nœuds lymphatiques, mais aucun élément ne permettra de décider de la nature de ces cellules. L'adénogramme ne permettra pas d'étayer l'hypothèse de LLC (Fournel-Fleury *et al.*, 1992).

Dans le diagnostic différentiel avec l'ehrlichiose canine, le myélogramme n'est pas d'une utilité majeure ; en effet, les lymphocytes de grande taille observés sur le frottis sanguin sont souvent retrouvés dans la moelle osseuse, mais n'apportent aucune information nouvelle.

Pour l'espèce féline, chez laquelle les causes de lymphocytoses sont plus nombreuses, il convient d'effectuer des biopsies tissulaires en cas de lymphocytose importante et prolongée. En effet, les lymphocytoses réactionnelles sont fréquentes chez le chat, et les lymphocytes infiltrent souvent les tissus (Fournel-Fleury, 2006). Encore une fois, l'intérêt du suivi de la lymphocytose sanguine prévaut, avec la recherche concomitante d'éventuelles infections chroniques, d'affiner le diagnostic. Cela permet surtout d'éliminer les lymphocytoses de stress, très fréquentes chez le chat, et pouvant atteindre près de 20.000 cellules/mm<sup>3</sup> (Fournel-Fleury *et al.*, 1992).

Les LMC provoquent elles aussi un envahissement médullaire lors des stades tardifs de la maladie. La moelle osseuse est alors hypercellulaire et dominée par des granulocytes matures, avec une augmentation du nombre de cellules immatures (les myéloblastes n'excèdent cependant pas 20% du contingent cellulaire médullaire) (Dobson *et al.*, 2006). Comme dans le cas des LLC, il est parfois ardu de différencier une LMC d'un processus inflammatoire ou infectieux (parfois appelé réaction leucémoïde) tant les compartiments sanguin et médullaire se révèlent riches en granulocytes. Le diagnostic différentiel se fonde alors sur l'exclusion d'une cause inflammatoire (recherche des protéines plasmatiques de l'inflammation), sur la démonstration d'une infiltration granulocytaire massive de la rate et/ou du foie (objectivée par des biopsies tissulaires), et sur la présence éventuelle de dysplasie dans le processus de maturation des cellules proliférantes (cette anomalie étant toutefois inconstante) (Dobson *et al.*, 2006). Il est important de comprendre que l'aspect d'un myélogramme de LMC est indiscernable de celui d'un myélogramme lors d'hyperplasie granuleuse importante consécutive à un processus inflammatoire. Le myélogramme n'a donc

pas un intérêt diagnostique comparable à celui de l'hémogramme (Fournel-Fleury *et al.*, 1992).

Les anomalies de maturation, surtout fréquentes pour la lignée myéloïde (alors regroupées sous le terme de dysgranulopoïèse), sont proches de celles rencontrées dans les MDS (modifications de la taille et de la forme des noyaux, granulations anormales, hypersegmentation) (Muller *et al.*, 1997). Le ratio du contingent cellulaire médullaire myéloïde rapporté au contingent médullaire érythroïde est modifié lors de LGC ; ce quotient est un indicateur du degré d'envahissement médullaire. Le rapport M/E varie de 3 à 24 et est souvent associé à des aberrations de maturation traduites par un nombre de myéloblastes, promyélocytes et myélocytes neutrophiles augmenté (Feldman *et al.*, 2000). Des ratios M/E allant jusqu'à 36 et même 99 ont été rapportés dans certaines études (Fine et Tvedten, 1999 ; Tarrant *et al.*, 2001). D'une manière constante et comme pour les leucémies aiguës, la sévérité de l'anémie constatée sur l'hémogramme est proportionnelle au degré d'envahissement médullaire par les cellules néoplasiques. Les leucémies éosinophiles chroniques voient également leur ratio M/E augmenté, et accompagné d'éosinophiles anormaux et immatures. Lors de thrombocythémies essentielles, la moelle osseuse apparaît anormalement riche en mégacaryocytes sains et atypiques (de taille augmentée, hyperlobés, polyploïdes, et à noyau dense) (Feldman *et al.*, 2000). Le calcul du rapport M/E est souvent utile pour exclure une hypothèse du diagnostic différentiel ; par exemple, une valeur élevée de M/E permet de distinguer une LC éosinophile d'un syndrome hyperéosinophilique ; un rapport M/E élevé durablement éloignera l'hypothèse de neutrophilie réactionnelle au profit d'une LGC.

Les LMC évoluent plus facilement que les LLC vers un processus d'acutisation (c'est à dire évolution vers une leucémie aiguë, une LAM en ce qui concerne les LMC) autrement appelé décompensation aiguë. Cet état est caractérisé par une augmentation majeure des blastes médullaires (dépassant le seuil de 30% au delà duquel une leucémie aiguë est diagnostiquée).

La biopsie ostéo-médullaire confirme la présence majoritaire des cellules de la lignée tumorale (comblant les espaces occupés par les adipocytes médullaires), l'hypoplasie des autres lignées, les plages de cellules myéloïdes immatures en quantité supérieure à la normale, attestant de la transformation de la LMC en LAM (Muller *et al.*, 1997). De surcroît, la biopsie de moelle osseuse est l'examen de choix pour évaluer le degré de la fibrose médullaire qui apparaît lors des stades tardifs de LMC (notamment lors de *polycythemia vera*) (Feldman *et al.*, 2000).

Encore une fois, les résultats du myélogramme et/ou de la biopsie ostéo-médullaire ne doivent pas être analysés en dehors des données cliniques. En effet, si la distinction entre une LC et un processus inflammatoire sévère (causant des valeurs neutrophiliques sanguines comparables) n'est jamais évidente, le contexte clinique associé permet très souvent de trancher entre les deux pathologies. Il ne faut jamais oublier que les patients atteints de LC sont, dans la majorité des cas, en bon état général, ce qui reste exceptionnel dans le cas d'un processus inflammatoire comparable aux vues des examens complémentaires réalisés.

## 5. Marquages cytochimiques

L'utilisation de la technique de marquage cytochimique se justifiait dans le cas des leucémies aiguës, lorsque la morphologie des blastes médullaires et sanguins ne permettait pas d'identifier leur lignée d'appartenance. Dans la démarche diagnostique des leucémies chroniques, très peu d'études rapportent l'utilisation de marquages cytochimiques. On en devine les raisons : les cellules proliférantes sont matures et peuvent être identifiées à l'aide de techniques de colorations hématologiques usuelles (May-Grünwald Giemsa par exemple). En outre, l'immunophénotypage semble être préféré en raison de sa meilleure disponibilité. Dans tous les cas, les marquages cytochimiques n'ont qu'un rôle de confirmation du diagnostic préalablement établi, et leur utilité est avérée lorsqu'un doute subsiste dans l'identification des cellules. C'est souvent le cas lorsque des dysplasies touchent la lignée proliférante, ou lorsque des stades immatures sont présents en nombre anormalement élevé (Tarrant *et al.*, 2001). L'utilisation des marquages cytochimiques est également utile pour différencier certaines lignées matures entre elles, comme la lignée basophile et la lignée mastocytaire. Dans ce cas, des combinaisons de marquages sont pratiquées ; ainsi, pour identifier des cellules basophiles, l'oméga-exonucléase (marqueur spécifique de la lignée basophile) est utilisée en association avec des marqueurs de la lignée granulocytaire (par exemple la chloracétate estérase ou les peroxydases) (Fine et Tvedten, 1999 ; Feldman *et al.*, 2000). L'étude menée par Tarrant (Tarrant *et al.*, 2001) rapporte l'utilisation des marquages cytochimiques (associés à l'immunophénotypage des cellules proliférantes) en raison des nombreuses dysplasies touchant la lignée cellulaire proliférant dans les compartiments sanguin, médullaire et splénique. Le diagnostic d'appartenance à la lignée neutrophile avait été établi suite aux colorations habituelles réalisées sur des prélèvements sanguins et médullaires. La chloracétate estérase (CAE), l' $\alpha$ -naphtaline butyrate estérase (ANBE) et la

phosphatase alcaline (AP) furent utilisées sur le prélèvement splénique effectué. 98% des cellules étaient positives à la CAE et négatives à l'ANBE et à l'AP. La composition du prélèvement fut ainsi déterminée : 58% de neutrophiles, 28% de neutrophiles immatures, 7% de métamyélocytes, 2% de myélocytes, 4% de progranulocytes et 1% de myéloblastes (Tarrant *et al.*, 2001).

Cependant, comme le montre cette étude, l'immunophénotypage est souvent utilisé en complément et demeure une technique plus précise.

## 6. Immunophénotypage

L'immunophénotypage, comme le marquage cytochimique, est davantage utilisé dans le cas des leucémies aiguës, lorsque peu d'informations émanent de la morphologie des cellules tumorales. Dans le cas des LC, si les techniques de colorations cytologiques usuelles permettent souvent de distinguer les lignées cellulaires, l'immunophénotypage est un moyen plus sûr d'identifier un type cellulaire.

Le fondement de l'immunophénotypage est que les cellules tumorales (dans le cas des leucémies et des lymphomes) conservent une constellation antigénique similaire à celle de leur équivalent sain, reflétant leur appartenance à une lignée, leur stade de maturation et leur degré d'expansion clonale (Workman et Vernau, 2003). Il peut ainsi révéler la ou les lignées cellulaires proliférantes (lymphoïdes ou myéloïdes) mais est incapable d'effectuer la distinction entre une population cellulaire saine (ou réactionnelle) et tumorale. En outre, le programme fonctionnel des cellules (notamment des lymphocytes) ne peut pas être connu : par exemple, des lymphocytes T CD<sub>4</sub> TH<sub>1</sub> et CD<sub>4</sub> TH<sub>2</sub> ne seront pas discernables. D'autres informations (anamnèse, données cliniques, hémogramme, résultats des tests de clonalité) sont donc nécessaires pour comprendre les résultats d'un immunophénotypage.

La plupart des immunophénotypages sont réalisés à l'aide d'anticorps monoclonaux. Il est important de comprendre que ces anticorps spécifiques d'antigènes leucocytaires marquent des cellules appartenant à une ou plusieurs lignées. Ainsi, pour identifier un type cellulaire précis, il est nécessaire de considérer les résultats obtenus à l'aide d'un panel d'anticorps, détectant l'expression d'une véritable constellation antigénique (Workman and Vernau 2003).

Comme pour les leucémies aiguës, plusieurs clusters de différenciation (CD) sont mis en évidence (tableau 23).

Tableau 23: Différents types de CD mis en évidence lors du diagnostic de LLC et LMC chez le chien (Workman et Vernau 2003 ; Leifer *et al.*, 1983).

<b>Antigènes</b>	<b>Distribution</b>
<b>Complexe CD<sub>3</sub>-TCR (<math>\alpha\beta</math> ou <math>\gamma\delta</math>)</b>	Lymphocytes T
<b>Complexe CD<sub>79</sub>-BCR</b>	Lymphocytes B ; CD <sub>79a</sub> est exprimé à tous stade des lymphocytes B (y compris le stade plasmocyte) ; CD <sub>79b</sub> est caractéristique de LLC à lymphocytes B et de lymphome ;
<b>CD<sub>19</sub>, CD<sub>21</sub>, CD<sub>35</sub>, CD<sub>81</sub></b>	Ce sont des corécepteurs du complexe CD <sub>79</sub> -BCR et donc spécifiques des lymphocytes B ;
<b>CD<sub>1</sub></b>	Monocytes, pré-lymphocytes B ;
<b>CD<sub>4</sub></b>	Lymphocytes T helper, monocytes ;
<b>CD<sub>5</sub></b>	Lymphocytes T, pré-lymphocytes B ;
<b>CD<sub>8</sub></b>	Lymphocytes T cytotoxiques ;
<b>CD<sub>11a</sub></b>	Leucocytes ;
<b>CD<sub>11b</sub></b>	Granulocytes, monocytes, NK ;
<b>CD<sub>11c</sub></b>	Granulocytes, monocytes, NK, pré-lymphocytes T, pré-lymphocytes B ;
<b>CD<sub>14</sub></b>	Monocytes ;
<b>CD<sub>45</sub></b>	Leucocytes ;
<b>CD<sub>49</sub></b>	Lymphocytes B, pré-lymphocytes T, monocytes, thrombocytes ;

CD : cluster of differentiation ; NK : cellules natural killer.

## ***F. Pronostic***

### **1. Leucémies lymphoïdes chroniques**

Dans tous les cas, le pronostic des LLC est meilleur que celui des LAL, sur la base d'une évolution spontanée toujours chronique (environ un an, sans processus d'acutisation), et meilleur également que celui des LMC. L'incompétence immunitaire, expliquant les infections à répétition, est responsable à long terme de la mortalité du patient, et ce, bien plus que les insuffisances organiques concomitantes. L'existence d'une sécrétion d'immunoglobulines monoclonales, rarement responsable d'hyperviscosité sanguine dans le cas des LMC, n'aggrave pas le pronostic, à l'inverse de l'anémie hémolytique toujours péjorative et nécessitant des traitements plus contraignants (transfusions, splénectomie, corticothérapie agressive) (Leifer et Matus, 1986 ; Fournel-Fleury *et al.*, 1992). En outre, l'évolution des LLC est souvent indolente (c'est-à-dire asymptomatique, à bas bruit) voire silencieuse, et il n'est pas rare (de la même façon qu'en médecine humaine) qu'aucun traitement ne soit proposé suite à la découverte fortuite de la maladie et en l'absence de signe clinique. Un cas de LLC chez un chien sans traitement fut suivi pendant plus de 2 ans (Harvey *et al.*, 1981). Dans les cas où un traitement est mis en place, le retour des valeurs de l'hémogramme dans les normes est attendu dans 70% des cas. Une étude menée sur 17 chiens traités par l'association vincristine, chlorambucil et prednisone, rapporta une médiane de survie d'environ 12 mois, avec une espérance de survie à 2 ans dans 30% des cas (Leifer et Matus, 1986). D'autres études portant sur des chiens traités simultanément avec du chlorambucil et de la prednisone, décrivent des durées de rémission (c'est-à-dire après le retour des résultats de l'hémogramme dans l'intervalle des valeurs usuelles) allant de 10 à 30 mois (Couto et Sousa, 1986 ; Kristensen *et al.*, 1991). D'une façon plus générale, la plupart des chiens atteints de LLC survivent pendant un an après détection de la maladie (Feldman *et al.*, 2000). A la fin des années 1990, des corrélations entre l'immunophénotypage de la lymphocytose et la réponse clinique ont révélée que les LLC à lymphocytes T étaient de plus sombre pronostic ; cela fut d'ailleurs corroboré par les résultats concernant les lymphomes canins pour lesquels les lymphocytes T étaient plus résistants aux agents chimiothérapeutiques (Teske *et al.*, 1994 ; Dobson *et al.*, 2001). Cependant, d'autres articles plus récents n'arrivent pas au même constat : aucune différence de pronostic ne serait objectivable selon les différents types de LLC (Presley *et al.*, 2006).

Très peu d'informations sont disponibles quant au pronostic des LLC félines, et aucun document ne rapporte de classification immunophénotypique des LLC féline ni de pronostic

associé. Des observations, relevant plus de l'anecdote, suggèrent une durée de survie d'au moins 1 à 2 ans chez des chats atteints de LLC et traités à l'aide de chlorambucil (Young et MacEwen, 2007).

En médecine humaine, la durée de survie des patients atteints de LLC de la lignée B dépasse 5 ans dans 80% des cas. Cependant, la grande variabilité de l'évolution clinique a conduit au développement d'un système de gradation : le premier grade (assorti du risque le plus bas) est associé à une médiane de survie de plus de 150 mois (Kipps, 1995). Ce système n'a pas pu être adapté aux carnivores domestiques en raison du faible nombre de cas décrits. En outre, certaines études rapportent que les LLC à lymphocytes T s'avèrent être beaucoup plus agressives que leur équivalent à lymphocytes B. Les conclusions concernant la sévérité de la maladie quant au sous-type de lymphocyte T ( $CD_8^+$  versus  $CD_4^+$ ) sont moins unanimes. Néanmoins, il semblerait que le phénotype  $CD_3^+$ ,  $CD_4^+$ ,  $CD_8^-$  atteigne des personnes plus jeunes (30-40 ans) et de façon plus sévère (lymphocytose plus marquée, lymphadénopathie et hépatosplénomégalie généralisées, cytopénies sévères et survie plus courte) que le phénotype  $CD_8^+$  ou que les LLC type B (Workman et Vernau, 2003).

## 2. Leucémies myéloïdes chroniques

Le pronostic des LMC est plus sombre que celui des LLC en raison de la plus grande probabilité de survenue de crise blastique (Dobson *et al.*, 2006). La LMC évolue dans un délai de quelques mois à deux ans vers une acutisation terminale sous forme d'une leucémie aiguë rapidement mortelle (Fournel-Fleury *et al.*, 1992). Les dysfonctionnements immunitaires, l'anémie et les désordres hémostatiques (dus à la thrombocytopénie) expliquent aussi le pronostic réservé de cette maladie. Parmi les LMC, la LGC et la thrombocythémie essentielle sont celles dont le pronostic est le plus réservé, en raison de la cytose sanguine plus marquée survenant dans ces maladies, et de leurs effets collatéraux (fortes cytopénies des autres lignées à long terme, immunodéficiences, risques importants d'hémorragie). Dans tous les cas, l'évolution aiguë est un facteur d'aggravation majeure de la maladie, et l'espérance de vie rejoint celle des LAM (Young et MacEwen, 2007). Suivant les études, les durées de survie des LGC (pathologie la plus étudiée) varient entre 41 jours et 4 ans et demi, avec une durée de survie moyenne d'environ un an. La plupart des chiens conservaient une bonne qualité de vie jusqu'à l'évolution aiguë de la maladie (Leifer et Matus, 1986 ; Grindem *et al.*, 1992). Une autre étude rapporta un cas de LGC canine associée à une durée de survie de 54 mois (Joiner

*et al.*, 1976). A titre de comparaison, la médiane de survie chez l'homme s'échelonne entre 36 à 44 mois (Lichtman, 1990). Un cas de LGC canine avec infiltration méningée survécut 22 mois après le diagnostic, l'état clinique était stable jusqu'à l'envahissement neurologique et la survenue d'une pneumonie (Grindem *et al.*, 1992). Les effets secondaires de la leucémie chronique sont donc des facteurs plus aggravants que sa seule évolution dans le temps, crise blastique exclue. En outre, des durées de survie allant de 80 jours à près de 5 ans chez des chiens atteints de LGC et n'ayant pas suivi de traitement ont été rapportées. Cela montre que les complications faisant évoluer la maladie de façon irrémédiable vers une issue très défavorable (avant tout dominées par la crise blastique) peuvent intervenir à divers moments, et il n'a pas été démontré que le recours à la chimiothérapie réduisait le risque transformation en leucémies aiguë (Feldman *et al.*, 2000 ; Young et MacEwen, 2007).

En ce qui concerne les leucémies éosinophiles chroniques, une étude rapporte que deux chats atteints de cette pathologie et ayant suivi un traitement adapté, survécurent 30 et 40 mois après que le diagnostic fut établi (Feldman *et al.*, 2000). D'autres données quant aux leucémies basophiles chroniques font état de durée de rémission allant de 8 à 21 mois (Mears *et al.*, 1997). Une étude menée sur 3 chats atteints de PV rapporte des durées de vie très satisfaisante après diagnostic : en effet, les trois chats survécurent 4, 5 et 7 ans (Hamilton, 1998).

Le pronostic de la LMC est donc très variable puisque le groupe de pathologies qu'elle renferme est très hétérogène. En effet, si le pronostic de la LGC est sombre, celui de la polyglobulie vraie est bien meilleur. La question qui se pose fréquemment concerne la nécessité d'instaurer un traitement ou non, étant donné l'évolution longue de la maladie, l'absence fréquente de signe clinique et les effets secondaires d'un éventuel traitement sur un patient en bon état général.

## ***G. Traitement***

### **1. Leucémies lymphoïdes chroniques**

#### *a) Décision et agents thérapeutiques*

La question qui se pose face à une maladie indolente et rarement accompagnée d'une atteinte clinique est la nécessité de mettre en place un traitement. La plupart des oncologues recommande de suivre attentivement le patient mais de ne pas entamer une thérapie active lorsque la découverte de la LLC est accidentelle (c'est-à-dire non associée à des signes cliniques) et lorsqu'aucune anomalie hématologique significative n'est détectée (Hodgkins *et al.*, 1980 ; Harvey *et al.*, 1981). Le traitement doit être mis en place lorsqu'une anémie ou une thrombocytopénie se déclare, lorsqu'une lymphadénopathie ou une hépatosplénomégalie est mise en évidence, ou lorsque l'hémogramme révèle une lymphocytose supérieure à 60.000 cellules/mm<sup>3</sup>.

L'agent thérapeutique anti-cancéreux le plus utilisé et jugé le plus efficace est le chlorambucil, molécule appartenant au groupe des agents alkylants (Leifer and Matus 1986). L'agent alkylant réagit avec l'ADN, plus précisément avec la guanine et la cytosine, en substituant un radical alkyle à l'atome d'hydrogène. Cela entraîne des ruptures de la molécule d'ADN et des modifications notables de sa conformation ; l'ADN est ainsi non fonctionnel pendant toutes les phases du cycle. L'action du chlorambucil est donc indépendante du cycle cellulaire, cependant, les cellules en phase de multiplication se révèlent être plus sensibles (Hohenhaus *et al.*, 2002). Le chlorambucil est souvent associé à la prednisone dans le traitement des LLC et des lymphomes, et peut remplacer le cyclophosphamide en cas de cystite induite par ce dernier. En outre, le chlorambucil est aisément administrable (par voie orale et en l'absence de nourriture) et ne possède qu'un très faible myélotoxicité. Certains effets secondaires sont néanmoins connus :

- une toxicité cérébrale chez le chien, pour des doses supérieures à 8 mg/m<sup>2</sup>/jour ;
- une alopécie et des désordres gastro-intestinaux, qui ne sont que rares et légers ;
- une infertilité permanente chez les mâles non adultes ;
- des risques tératogènes ;
- une augmentation du taux d'acide urique sanguin (Hohenhaus *et al.*, 2002 ; Vail et Young, 2007).

Son administration est contre-indiquée en cas de myélosuppression ou d'infections concomitantes. De surcroît, le chlorambucil potentialise l'effet myélosuppressif de plusieurs agents (chloramphénicol, amphotéricine B et fluocytosine) (Hohenhaus *et al.*, 2002).

### *b) Protocole thérapeutique*

A l'inverse des LAL pour lesquelles la finalité du traitement était l'élimination de toutes les cellules souches tumorales, l'objectif du traitement des LLC est de ralentir la prolifération des clones néoplasiques tout en évitant l'ablation de moelle osseuse. Cela se manifeste par le retour des concentrations cellulaires sanguines dans l'intervalle des valeurs usuelles, par une amélioration clinique et par une diminution de l'organomégalie ; cela implique un suivi attentif de la part du clinicien. Une fois la rémission atteinte, la thérapie de maintien est mise en place afin de conserver des valeurs sanguines stables. La chimiothérapie (c'est également le cas pour les LMC) est donc davantage utilisée pour contrôler la maladie que pour la guérir (Feldman *et al.*, 2000).

Le chlorambucil est administré à la dose de 6 mg/m<sup>2</sup>/jour (soir 0,2 mg/kg) PO en une prise quotidienne pendant 7 à 14 jours. La posologie peut être réduite à 3 mg/m<sup>2</sup>/jour (soit 0,1 mg/kg). Pour le traitement de maintien à long terme, un dosage à 2 mg/m<sup>2</sup>/jour peut être utilisé. Le dosage étant à adapter selon la réponse clinique et la tolérance médullaire (Vail et Young, 2007). D'après des études réalisées en cancérologie humaine, l'association de la prednisone potentialise l'effet anti-tumoral du chlorambucil (Han *et al.*, 1973). Les effets lymphocytolytiques des corticostéroïdes ainsi que leur rôle dans l'induction de l'apoptose sont bien connus. Par ailleurs, le traitement peut aussi s'effectuer sous la forme d'une administration hebdomadaire à des doses plus élevées : 20 mg/m<sup>2</sup> de chlorambucil PO une fois par semaine en association avec 50 mg/m<sup>2</sup>/jour de prednisone dans les cas réfractaires (Couto, 2003 ; Presley *et al.*, 2006). Dans le cas d'une thérapie continue (c'est-à-dire à administration quotidienne), la prednisone est administrée à doses dégressives (30 mg/m<sup>2</sup> la première semaine, 20 mg/m<sup>2</sup> la deuxième semaine, puis 10 mg/m<sup>2</sup> la troisième semaine). Dans l'espèce féline, le dosage de la prednisone doit être ajusté à 1 mg/kg/jour PO (Workman et Vernau, 2003). En cas d'infiltration sévère de la moelle osseuse par les cellules tumorales, associée à une anémie et/ou une thrombocytopénie, il est conseillé d'utiliser un agent alkylant plus agressif tel le cyclophosphamide, à la dose de 250 mg/m<sup>2</sup> IV une fois par semaine, ou 50 mg/m<sup>2</sup> PO à quatre reprises chaque semaine (Feldman 2000; Couto 2003; Vail 2007). Cette alternative n'a cependant pas été validée expérimentalement (Vail et Young, 2007). En cas

d'échec suite à l'utilisation de chlorambucil et de cyclophosphamide, le choix de la combinaison thérapeutique, identique à celle employée pour les LAL, s'impose. La vincristine peut également être incluse dans le protocole afin d'accélérer la réponse thérapeutique ; elle est administrée à la dose de 0,5 à 0,7 mg/m<sup>2</sup> IV une fois par semaine. Plus rarement, des molécules appartenant à des protocoles très agressifs de lymphomes peuvent être employées, c'est le cas de la doxorubicine ou de la L-asparaginase, mais ces outils thérapeutiques ne seront jamais utilisés en première intention (Feldman *et al.*, 2000). Plusieurs protocoles sont décrits dans la littérature, et tous font usage des mêmes molécules anti-cancéreuses (tableaux 24 et 25).

Tableau 24: Protocoles thérapeutiques des LLC (Vail et Young, 2007).

<b>Molécules</b>	<b>Posologie</b>	<b>Administration</b>
<b><i>Protocole 1</i></b>		
Chlorambucil	0,2 mg/kg	PO une fois par jour pdt 7 à 14 jours, <i>puis</i>
	0,1 mg/kg	PO une fois par jour *
Prednisone	30 mg/m <sup>2</sup>	PO une fois par jour pdt 7 jours, <i>puis</i>
	20 mg/m <sup>2</sup>	PO une fois par jours pdt 7 jours, <i>puis</i>
	10 mg/m <sup>2</sup>	PO une fois par jour
<b><i>Protocole 2</i></b>		
Vincristine	0,02 mg/kg	IV une fois par semaine pdt 3 semaines
Chlorambucil	0,2 mg/kg	PO une fois par jour pdt 7 à 14 jours, <i>puis</i>
	0,1 mg/kg	PO une fois par jour *
Prednisone	30 mg/m <sup>2</sup>	PO une fois par jour pdt 7 jours, <i>puis</i>
	20 mg/m <sup>2</sup>	PO une fois par jours pdt 7 jours, <i>puis</i>
	10 mg/m <sup>2</sup>	PO une fois par jour

\* : en l'absence de réponse, remplacer par du cyclophosphamide à 50 mg/m<sup>2</sup> PO une fois par jour pendant 4 jours, à répéter chaque semaine ; PO : per os ; pdt : pendant.

Tableau 25: Autre protocole thérapeutique alternatif des LLC (Dobson *et al.*, 2006).

Molécules	Posologie	Administration
Chlorambucil	2 à 8 mg/m <sup>2</sup>	PO une fois par jour pdt 7 à 14 jours, <i>puis</i>
	2 mg/m <sup>2</sup>	PO tous les 2 jours, <i>ou</i>
	20 mg/m <sup>2</sup>	PO en une prise toutes les 2 semaines
Prednisone	40 mg/m <sup>2</sup>	PO une fois par jour pdt 7 jours, <i>puis</i>
	20 mg/m <sup>2</sup>	PO tous les 2 jours

PO : per os ; pdt : pendant.

La réponse à la chimiothérapie chez des patients atteints de LLC peut être lente, et une rémission complète peut ne pas intervenir avant plusieurs semaines voire quelques mois (Presley *et al.*, 2006).

En médecine humaine, la splénectomie montra une augmentation de la durée de survie des patients l'ayant subie. Ces patients étaient atteints d'une forme sévère de LLC et leur rate était très infiltrée. Cette option thérapeutique n'a pas encore été expérimentée sur les carnivores domestiques (Workman et Vernau, 2003). D'autres expériences chez l'homme ont montré que l'utilisation de chlorambucil à haute dose (10 à 15 mg/m<sup>2</sup> par jour jusqu'à l'obtention d'une réponse complète ou d'une toxicité non tolérable) accompagné de prednisone (au total ils reçurent une dose 6 fois supérieure au groupe de patients ayant reçu le traitement habituel, c'est-à-dire 75 mg une fois par semaine pendant 6 semaines) aboutit à une rémission complète dans 70% des cas, contre 31% dans le cas d'un protocole classique. Les patients expérimentaux ont également vu leur durée de survie augmenter par rapport au groupe témoin (O'Brien *et al.*, 1995). Par ailleurs, de nouvelles molécules thérapeutiques (appartenant au groupe des antimétabolites, elles sont des analogues de la purine, les plus étudiées sont la fludarabine, la cladribine et la pentostatine) sont en cours d'étude en médecine humaine (Montserrat *et al.*, 1997). Très récemment, une molécule, la bendamustine, alliant une fonction alkylante à des propriétés *anti-purine like*, a été ajoutée aux agents anti-cancéreux déjà connus (Glode et Jarkowski, 2009). Les oncologues ont également de plus en plus recours à l'immunothérapie, notamment grâce à l'anticorps monoclonal anti-CD52 (présents à la surface des lymphocytes matures), dont l'utilisation à la suite d'une chimiothérapie à base de fludarabine a prouvé son efficacité (Byrd *et al.*, 2009).

## 2. Leucémies myéloïdes chroniques

### a) *Leucémie granulocytaire chronique*

Un diagnostic correct et fiable est primordial avant l'instauration d'un traitement. Les causes de neutrophilies sont nombreuses (infections bactériennes, parasitaires, fongiques, processus inflammatoire chronique, hyperadrénocorticisme), et entamer une thérapie anti-cancéreuse en l'absence de certitude serait extrêmement délétère pour le patient.

Comme pour les LLC, la mise en place d'une thérapie est parfois controversée, en médecine humaine et vétérinaire, en raison du délai parfois long avant la survenue d'une crise blastique (jusqu'à 5 ans), et de la qualité de vie très satisfaisante en l'absence de traitement (Feldman *et al.*, 2000). De surcroît, il n'est pas certain qu'une chimiothérapie soit efficace pour réduire le risque d'apparition d'une crise aiguë ; dans ces conditions, un traitement de soutien semblerait être plus indiqué.

En médecine vétérinaire, les deux agents anti-cancéreux les plus utilisés dans les protocoles thérapeutiques des LGC sont l'hydroxyurée et le busulfan. Le busulfan (appartenant à la classe thérapeutique des agents alkylants) est administré à la dose de 2 à 8 mg/m<sup>2</sup>/jour PO. D'autres protocoles incluent l'hydroxyurée à la dose de 20 à 25 mg/kg PO deux fois par jour. Le traitement est maintenu jusqu'à ce que la concentration des cellules tumorales soit descendue entre 15.000 et 20.000 cellules/mm<sup>3</sup> (Leifer *et al.*, 1983 ; Fine et Tvedten, 1999). Le dosage de l'hydroxyurée peut être diminué de 50% sur la base d'une administration quotidienne ou ajustée à 50 mg/kg PO toutes les deux à trois semaines (Leifer *et al.*, 1983). Une autre alternative propose d'administrer l'hydroxyurée à la dose de 50 mg/kg PO une fois par jour pendant 14 jours puis de réduire la fréquence d'administration tous les deux jours, puis tous les trois jours (Leifer *et al.*, 1983). Malgré une éventuelle réponse au traitement et le contrôle de la maladie pendant plusieurs mois, la plupart des animaux traités entrent finalement en stade terminal. Dans une étude menée sur 7 chiens atteints de LMC, quatre d'entre eux subirent une crise blastique (Leifer *et al.*, 1983). Les chats suivent le même protocole chimiothérapeutique, avec des doses d'hydroxyurée ajustées (tableau 26).

En médecine humaine, le traitement consiste à réduire voire à éradiquer les clones Ph-positif (c'est-à-dire porteur du chromosome Philadelphie) lors de la phase chronique de la maladie. Les principales options thérapeutiques comprennent : la splénectomie, l'irradiation splénique, l'utilisation de phosphore radioactif, la transplantation de moelle osseuse, et différents molécules anti-cancéreuses telles le busulfan, l'hydroxyurée, la mercaptopurine, la thioguanine, la cytosine arabinoside et la prednisone. Malheureusement, lorsque la crise

blastique survient, aucun protocole chimiothérapeutique ne semble être efficace, et le patient décède dans les 2 à 3 mois (Koeffler et Golde, 1981).

Tableau 26: Protocole thérapeutique des LGC (Dobson *et al.*, 2006).

Molécules	Posologie	Administration
Hydroxyurée	Chien : 30 mg/kg	PO une fois par jour pdt 7 jours, <i>puis</i>
	15 mg/kg	PO une fois par jour en maintenance
	Chat : 10 à 12,5 mg/kg	PO une fois par jour
Busulfan	0,1 à 0,2 mg/kg	PO une fois par jour, augmenter la dose en l'absence de réponse dans un délai de 3 semaines

PO : per os ; pdt : pendant.

#### b) *Leucémie basophile chronique*

Les protocoles de traitement des LBC sont semblables à ceux utilisés pour les LGC et incluent l'hydroxyurée et le busulfan (Feldman *et al.*, 2000). Le busulfan était initialement administré seul à la dose de 0,1 mg/kg/jour PO, mais aucune modification hématologique ne fut constatée après 2 semaines de traitement. Une fois l'ajout de l'hydroxyurée à la dose de 50 mg/kg deux fois par jour PO, une diminution significative du contingent basophile fut rapidement constatée dans les compartiments sanguin et splénique (MacEwen *et al.*, 1975). Dans ces cas de LB, la rémission de la maladie fut atteinte entre 8 et 21 mois après l'instauration du traitement. Un autre rapport de LB fit état d'une rémission observée une semaine après l'adjonction d'hydroxyurée (Mears *et al.*, 1997).

Les principaux effets secondaires de l'hydroxyurée sont une myélosuppression (motivant l'arrêt de son administration), un prurit, une alopecie et une hyperglycémie (Mears *et al.*, 1997).

#### c) *Leucémie éosinophile chronique*

D'une façon générale, les chats atteints de LE ne répondent que très mal au traitement mis en place. Des corticostéroïdes comme unique agent thérapeutique furent utilisés et connurent un succès mitigé ; la majorité des chats mourut 6 mois après l'établissement du diagnostic (Feldman *et al.*, 2000). La prednisone administrée à la dose de 2 mg/kg PO deux fois par jour permet une rémission de 8 mois ; à la rechute, l'hydroxyurée fut ensuite administrée à raison de 15 mg/kg/jour PO, sans effet notable. L'hydroxyurée utilisée à des

doses plus fortes (40 mg/kg/jour PO, puis tous les 2 jours et enfin tous les 3 jours), combinée à la prednisone, permet une durée de vie très intéressante chez deux chats (30 et 40 mois). Une autre étude rapporte l'emploi de la nandrolone, souvent sujet à controverse, sans succès particulier (Sharifi *et al.*, 2007).

#### *d) Polyglobulie vraie*

L'objectif du traitement des PV est de diminuer rapidement la masse d'hématies circulantes et ainsi faire cesser les signes cliniques associés. La valeur initiale de l'hématocrite doit être réduite de 50 à 60% et le clinicien a parfois recours à la saignée suivie de l'administration de cristalloïdes adaptés afin de compenser les pertes en électrolytes : 20 mL de sang par kg peuvent être ainsi extraits à intervalles réguliers (McGrath, 1974). En médecine humaine, la saignée continue d'être une approche thérapeutique fréquemment utilisée.

La molécule anti-cancéreuse de choix est l'hydroxyurée, administrée à la dose de 30 mg/kg/jour pendant 10 jours, puis, réduite à 15 mg/kg/jour en maintenance (Vail et Young, 2007). La rémission dans l'espèce canine peut être atteinte en 2 à 6 semaines d'après ce protocole, et maintenue pendant plusieurs mois à quelques années (Watson *et al.*, 1994). Les doses peuvent être majorées en cas d'absence d'évolution de l'hémogramme, et des contrôles réguliers doivent être entrepris afin d'éviter une myélosuppression. Chez le chat, les doses d'hydroxyurée sont souvent majorées : le traitement débute à une posologie de 125 mg/chat/jour PO pendant 15 jours, puis 250 mg/chat deux fois par semaine pendant 15 jours, et enfin 500 mg/chat une fois par semaine selon l'évolution de l'hématocrite (Watson *et al.*, 1994).

L'utilisation de phosphore radioactif ( $^{32}\text{P}$ ) a montré une grande efficacité dans le contrôle du contingent érythroïde à long terme, mais n'est disponible que dans des centres spécialisés (Vail et Young, 2007).

L'objectif du traitement des PV, plus que pour toute autre LMC, est de maintenir une concentration en cellules tumorales sanguines dans un intervalle le plus proche possible des valeurs usuelles (Vail et Young, 2007).

#### *e) Thrombocythémie essentielle*

Plusieurs protocoles thérapeutiques différents sont rapportés dans la littérature. Un cas de TE chez un chat fut traité par une injection unique de 15 mg de nandrolone IM ; une

rémission fut constatée et le chat survécut 4 ans après le diagnostic (Feldman *et al.*, 2000). Un autre cas de TE féline fut traitée par 0,5 mg de melphalan par jour (appartenant à la classe de agents alkylants) PO pendant 4 jours, puis 0,5 mg par jour en maintenance ; l'animal ne survécut que 39 jours (Hammer *et al.*, 1990). Un chien suivit avec succès un protocole à base de vincristine, de cytosine arabinoside, de cyclophosphamide et de prednisone (protocole COAP) et fut euthanasié 8 mois après en raison de cystites hémorragiques (Simpson *et al.*, 1990).

Le traitement de la TE en médecine humaine est controversé en raison du nombre important de cas asymptomatiques rencontrés. Les agents chimiothérapeutiques sont identiques à ceux utilisés en médecine vétérinaire : hydroxyurée (qui est la molécule de choix pour instaurer un contrôle de la thrombocytose), melphalan et phosphore radioactif (Vailet Young, 2007).

Comme en médecine humaine, les leucémies chroniques constituent un groupe d'hémopathies malignes assez atypique en raison de leur présentation souvent asymptomatique, dont le diagnostic est souvent fortuit, et de leur évolution lente, indolente mais inexorable. Le pronostic très variable est paradoxal en raison de la très bonne qualité de vie des patients (dont l'état ne nécessite pas obligatoirement une mise sous traitement), mais dont le cours peut être stoppé brutalement par une acutisation de la maladie toujours fatale.

Malgré la disponibilité de molécules thérapeutiques jugées toujours plus efficaces, les LLC et les LMC sont toujours incurables en médecine humaine. Cependant, les décisions thérapeutiques toujours très tardives et guidées par ce que les oncologues américains appellent le "watch and wait", changent. L'évaluation des cas et leur classement en fonction du degré de risque associé à chaque type de leucémie, conduit les médecins à se tourner vers des protocoles de greffe de cellules souches (seul traitement curatif des leucémies chroniques) à des stades peu avancés de la maladie. Cette décision est également motivée par l'âge avancé des personnes atteintes de LC, qui ne leur permet pas de supporter une thérapie anti-cancéreuse agressive, notamment dans les stades terminaux de la maladie.

## CONCLUSION

Les leucémies aiguës et chroniques sont des cancers hématopoïétiques rares chez les carnivores domestiques, qui présentent des grandes différences dans leur évolution clinique. Les leucémies aiguës sont dominées par un tableau clinique sévère, une dégradation rapide de l'état général et un pronostic très sombre, devenant réservé si un traitement de soutien et une chimiothérapie anti-cancéreuse agressive sont mis en place. Le taux de mortalité des leucémies aiguës est très élevé. Si l'issue des leucémies chroniques est également inexorable et sombre, leur évolution est nettement différente ; ce sont des maladies indolentes, s'installant progressivement, et dont la mise en évidence est souvent fortuite chez des animaux en bonne santé. Néanmoins, les leucémies chroniques demeurent incurables.

Le diagnostic de ces deux pathologies n'est pas aisé et fait appel à des examens ciblés. Les leucémies aiguës, caractérisées par une intense blastose médullaire, sont diagnostiquées par l'association d'un état clinique très dégradé à des résultats éloquentes du myélogramme. En revanche, le diagnostic des leucémies chroniques se fonde sur les données de l'hémogramme associées à un bon état général de l'animal, et sur la mise en évidence de la clonalité de la prolifération cellulaire sanguine.

Le traitement doit toujours être agressif et rapidement administré pour les leucémies aiguës. De surcroît, il peut s'avérer très invasif, notamment si une greffe de moelle osseuse est envisagée. En revanche, il peut être atermoyé pendant plusieurs mois voire plusieurs années dans le cas des leucémies chroniques. Pour ces deux pathologies, le traitement est davantage palliatif que curatif ; les rémissions obtenues peuvent être complètes mais ne sont jamais durables. Par ailleurs, les leucémies bénéficient d'un pronostic variable en fonction de la lignée touchée par le processus cancéreux. Cependant, le faible nombre de cas rapportés allié à la faible taille des échantillonnages, ne nous permettent pas une visibilité identique à celle qu'a la cancérologie humaine dans sa propre espèce.



## BIBLIOGRAPHIE

- (Mis à jour le 8 septembre 2009, consulté le 11 septembre 2009). "<http://www.isac-net.org>." ISAC (International Society for Advancement of Cytometry).
- Adams, J., R. J. Mellanby, *et al.* (2004). "Acute B cell lymphoblastic leukaemia in a 12-week-old greyhound." The Journal Of Small Animal Practice **45**(11): 553-557.
- Arber, D. A., A. S. Stein, *et al.* (2003). "Prognostic impact of acute myeloid leukemia classification. Importance of detection of recurring cytogenetic abnormalities and multilineage dysplasia on survival." American Journal Of Clinical Pathology **119**(5): 672-680.
- Aufderheide, W. (1981). "Hematopoiesis." The Veterinary Clinics Of North America. Small Animal Practice **11**(2): 219-235.
- Avery, A. C. et P. R. Avery (2007). "Determining the significance of persistent lymphocytosis." The Veterinary Clinics Of North America. Small Animal Practice **37**(2): 267.
- Barthel, C. H. (1974). "Acute myelomonocytic leukemia in a dog." Veterinary Pathology **11**(1): 79-86.
- Bass, M. C. et A. E. Schultze (1998). "Essential thrombocythemia in a dog: case report and literature review." Journal of the American Animal Hospital Association **34**(3): 197-203.
- Bearman, R. M., C. R. Kjeldsberg, *et al.* (1981). "Chronic monocytic leukemia in adults." Cancer **48**(10): 2239-2255.
- Beckstead, J. H. (1983). "The evaluation of human lymph nodes, using plastic sections and enzyme histochemistry." American Journal Of Clinical Pathology **80**(2): 131-139.
- Bennett, J. M., *et al.* (1976). "FAB cooperative group proposals for the classification of acute leukaemias." British Journal Of Haematology **33**: 451-458.
- Bennett, J. M., *et al.* (1982). "Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes." British Journal Of Haematology **51**: 189-199.
- Bennett, J. M., *et al.* (1995). "Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French-American-British cooperative group." Annals of Internal Medicine **103**: 620-625.
- Blue, J. T., T. W. French, *et al.* (1988). "Non-lymphoid hematopoietic neoplasia in cats: a retrospective study of 60 cases." Cornell Veterinarian **78**(1): 21-42.
- Bolon, B., C. D. Buergelt, *et al.* (1989). "Megakaryoblastic leukemia in a dog." Veterinary Clinical Pathology **18**(3): 69-72.
- Bounous, D. I., K. S. Latimer, *et al.* (1994). "Acute myeloid leukemia with basophilic differentiation (AML, M-2B) in a cat." Veterinary Clinical Pathology **23**(1): 15-18.
- Breuer, W. et W. Hermanns (1998). "Classification of lymphohaemopoietic neoplasias (LHN) in dogs and cats." European Journal of Veterinary Pathology **4**(3): 5-20.
- Breuer, W., W. Hermanns, *et al.* (1999). "Myelodysplastic syndrome (MDS), acute myeloid leukaemia (AML) and chronic myeloproliferative disorder (CMPD) in cats." Journal Of Comparative Pathology **121**(3): 203-216.
- Brunnings, R. D., E. Matutes, G. Flandrin, *et al.* (2001). Acute myeloid leukaemia not otherwise categorised. World Health Organization Classification of Tumors: Pathology and Genetics of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. E. S. Jaffe, N. L. Harris, *et al.*: 90-105.
- Burnett, R. C., W. Vernau, *et al.* (2003). "Diagnosis of canine lymphoid neoplasia using clonal rearrangements of antigen receptor genes." Veterinary Pathology **40**(1): 32-41.

- Byrd, J. C., B. L. Peterson, *et al.* (2009). "Fludarabine followed by alemtuzumab consolidation for previously untreated chronic lymphocytic leukemia: final report of Cancer and Leukemia Group B study 19901." Leukemia & Lymphoma **50**(10): 1589-1596.
- Chen, H., M. K. Bechtel, *et al.* (1998). "Pathogenicity induced by feline leukemia virus, Rickard strain, subgroup A plasmid DNA (pFRA)." Journal Of Virology **72**(9): 7048-7056.
- Clarkson, B. D., A. Strife, *et al.* (1997). "New understanding of the pathogenesis of CML: a prototype of early neoplasia." Leukemia: Official Journal Of The Leukemia Society Of America, Leukemia Research Fund, U.K **11**(9): 1404-1428.
- Cobbold, S., S. Metcalfe (1994). "Monoclonal antibodies that define canine homologues of human CD antigens: summary of the First International Canine Leukocyte Antigen Workshop (CLAW)." Tissue Antigens **43**: 137-154.
- Cohn, P. D., P. D. Emanuel, *et al.* (1987). "Differences in nonspecific esterase from normal and leukemic monocytes." Blood **69**(6): 1574-1579.
- Comazzi, S., S. Paltrinieri, *et al.* (2000). "Erythremic myelosis (AML6er) in a cat." Journal Of Feline Medicine And Surgery **2**(4): 213-215.
- Cordonnier, N., J.J. Fontaine (2002). Cours d'histologie générale: hématologie, ENVA.
- Cotter, S. M. (1983). "Treatment of lymphoma and leukemia with cyclophosphamide, vincristine, and prednisone. I. Treatment of dogs. II. Treatment of cats." Journal of the American Animal Hospital Association **19**(2): 159-172.
- Cotter, S. M. (1994). "Feline leukemia/lymphoma: diagnosis and treatment, feline medicine symposium." The North American Veterinary Conference-1994 Proceedings: 29-35.
- Couto, C. G. (1985). "Clinicopathologic aspects of acute leukemias in the dog." Journal of the American Veterinary Medical Association **186**(7): 681-685.
- Couto, C. G. (2003). Complications of cancer chemotherapy. Small Animal Internal Medicine. C. G. Couto: 1108-1121.
- Couto, C. G. (2003). Leukemias. Small Animal Internal Medicine. C. G. Couto: 871-878.
- Couto, C. G., W. Ruehl, *et al.* (1984). "Plasma cell leukemia and monoclonal (IgG) gammopathy in a dog." Journal Of The American Veterinary Medical Association **184**(1): 90-92.
- Couto, C. G. et C. Sousa (1986). "Chronic lymphocytic leukemia with cutaneous involvement in a dog." Journal of the American Animal Hospital Association **22**(3): 374-379.
- Cowell, R. L. et R. D. Tyler (1989). Diagnostic cytology of the dog and cat. Goleta, CA, American Veterinary Publications Inc.: 99-120.
- Danilenko, D. M., P. F. Moore, *et al.* (1992). "Canine leukocyte cell adhesion molecules (LeuCAMs): characterization of the CD11/CD18 family." Tissue Antigens **40**(1): 13-21.
- Dastugue, N., E. Duchayne, *et al.* (1997). "Acute basophilic leukaemia and translocation t(X;6)(p11;q23)." British Journal Of Haematology **98**(1): 170-176.
- Davis, B. H., K. Foucar, *et al.* (1997). "U.S.-Canadian Consensus recommendations on the immunophenotypic analysis of hematologic neoplasia by flow cytometry: medical indications." Cytometry **30**(5): 249-263.
- Dhaliwal, R. S., B. E. Kitchell, *et al.* (2003). "Canine lymphosarcoma: clinical features." Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian **25**(8): 572-582.
- Dobson, J., E. Villiers, *et al.* (2006). "Diagnosis and management of leukaemia in dogs and cats." In Practice **28**(1): 22-31.
- Dobson, J. M., B. D. Lascelles (2003). BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology: 285-292.

- Dobson, J. M., L. B. Blackwood, *et al.* (2001). "Prognostic variables in canine multicentric lymphosarcoma." The Journal Of Small Animal Practice **42**(8): 377-384.
- Dreitz, M. J., G. Ogilvie, *et al.* (1999). "Rearranged T lymphocyte antigen receptor genes as markers of malignant T cells." Veterinary Immunology And Immunopathology **69**(2-4): 113-119.
- Dunn, J. (1990). "Bone marrow aspiration and biopsy in dogs and cats." In Practice **12**(5): 200-203; 206.
- Dunn, J. K., A. R. Jefferies, *et al.* (1987). "Chronic granulocytic leukaemia in a dog with associated bacterial endocarditis, thrombocytopenia and preretinal and retinal haemorrhages." Journal of Small Animal Practice **28**(11): 1079-1086.
- Ebert, B. L. et T. R. Golub (2004). "Genomic approaches to hematologic malignancies." Blood **104**(4): 923-932.
- Evans, R. J. et N. T. Gorman (1987). "Myeloproliferative disease in the dog and cat: definition, aetiology and classification." The Veterinary Record **121**(19): 437-443.
- Facklam, N. R. et G. J. Kociba (1986). "Cytochemical characterization of feline leukemic cells." Veterinary Pathology **23**(2): 155-161.
- Feldman, B. F., J.G. Zinkl, N. C. Jain (2000). Section I: Essential Hematologic Concepts. Schalm's: Veterinary Hematology: 29-37.
- Feldman, B. F., J.G. Zinkl, N. C. Jain (2000). Section IX: Hematologic/Hemopoietic Neoplasia-Lymphoid Neoplasia; Section X: Hematologic/Hemopoietic Neoplasia-Nonlymphoid Neoplasia. Schalm's: Veterinary Hematology: 595-763.
- Fina, C. (2009). Le myélome multiple chez les carnivores domestiques: étude bibliographique, ENVA.
- Fine, D. M. et H. W. Tvedten (1999). "Chronic granulocytic leukemia in a dog." Journal Of The American Veterinary Medical Association **214**(12): 1809-1812.
- Finlay, D. (1985). "Eosinophilic leukaemia in the cat: a case report." The Veterinary Record **116**(21): 567-567.
- Foon, K. A. (1995). "Chronic lymphoid leukemias: recent advances in biology and therapy." Stem Cells (Dayton, Ohio) **13**(1): 1-21.
- Fournel-Fleury, C. (2006). Cours d'hématologie clinique, ENVL.
- Fournel-Fleury, C., *et al.* (1992). Leucémie et myélodysplasie dans l'espèce canine. Encyclopédie vétérinaire, Cancérologie.
- Gasper, P. W., D. K. Rosen, *et al.* (1996). "Allogeneic marrow transplantation in a cat with acute myeloid leukemia." Journal Of The American Veterinary Medical Association **208**(8): 1280-1284.
- Ghernati, I., A. Corbin, *et al.* (2000). "Canine large granular lymphocyte leukemia and its derived cell line produce infectious retroviral particles." Veterinary Pathology **37**(4): 310-317.
- Giraudel, J. r. m. M., J.-P. Pagès, *et al.* (2002). "Monoclonal gammopathies in the dog: a retrospective study of 18 cases (1986-1999) and literature review." Journal of the American Animal Hospital Association **38**(2): 135-147.
- Glassman, A. B. (1998). "Cytogenetics, in situ hybridization and molecular approaches in the diagnosis of cancer." Annals Of Clinical And Laboratory Science **28**(6): 324-330.
- Glode, A. E. et A. Jarkowski (2009). "Bendamustine: a new treatment option for chronic lymphocytic leukemia." Pharmacotherapy **29**(11): 1375-1384.
- Goh, K.-O., R. A. Smith, *et al.* (1981). "Chromosomal aberrations in leukemic cats." Cornell Veterinarian **71**(1): 43-46.
- Graves, T. K., C. L. Swenson, *et al.* (1997). "A potentially misleading presentation and course of acute myelomonocytic leukemia in a dog." Journal Of The American Animal Hospital Association **33**(1): 37-41.

- Grindem, C. B. (1989). "Bone marrow biopsy and evaluation." Veterinary Clinics of North America, Small Animal Practice **19**(4): 669-696.
- Grindem, C. B. et L. C. Buoen (1986). "Cytogenetic analysis of leukaemic cells in the dog. A report of 10 cases and a review of the literature." Journal Of Comparative Pathology **96**(6): 623-635.
- Grindem, C. B. et L. C. Buoen (1989). "Cytogenetic analysis in nine leukaemic cats." Journal Of Comparative Pathology **101**(1): 21-30.
- Grindem, C. B., J. A. Neel, *et al.* (2002). "Cytology of bone marrow." The Veterinary Clinics Of North America. Small Animal Practice **32**(6): 1313-1374.
- Grindem, C. B., J. B. Stevens, *et al.* (1992). "Chronic myelogenous leukaemia with meningeal infiltration in a dog." Comparative Haematology International **2**(3): 170-174.
- Grindem, C. B., J. B. Stevens, *et al.* (1985). "Morphological classification and clinical and pathological characteristics of spontaneous leukemia in 17 dogs." Journal Of The American Animal Hospital Association **21**(2): 219-226.
- Grindem, C. B., J. B. Stevens, *et al.* (1986). "Cytochemical reactions in cells from leukemic dogs." Veterinary Pathology **23**(2): 103-109.
- Hahn, K. A., R. C. Richardson, *et al.* (1994). "Diagnostic and prognostic importance of chromosomal aberrations identified in 61 dogs with lymphosarcoma." Veterinary Pathology **31**(5): 528-540.
- Hamilton, T. A. (1998). The leukemias. Cancer in dogs and cats: medical and surgical managements. W. B. Morrison: 721-729.
- Hamilton, T. A., W. B. Morrison, *et al.* (1991). "Cytosine arabinoside chemotherapy for acute megakaryocytic leukemia in a cat." Journal Of The American Veterinary Medical Association **199**(3): 359-361.
- Hamlin, R. H. et R. C. Duncan (1990). "Acute nonlymphocytic leukemia in a dog." Journal Of The American Veterinary Medical Association **196**(1): 110-112.
- Hammer, A. S., C. G. Couto, *et al.* (1990). "Essential thrombocythemia in a cat." Journal Of Veterinary Internal Medicine / American College Of Veterinary Internal Medicine **4**(2): 87-91.
- Han, T., E. Z. Ezdinli, *et al.* (1973). "Chlorambucil vs. combined chlorambucil-corticosteroid therapy in chronic lymphocytic leukemia." Cancer **31**(3): 502-508.
- Harris, C. K., E. R. Beck, *et al.* (1986). "Bone marrow transplantation in the dog." Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian **8**(5): 337-344.
- Harvey, J. W. (1981). "Myeloproliferative disorders in dogs and cats." The Veterinary Clinics Of North America. Small Animal Practice **11**(2): 349-381.
- Harvey, J. W. (1984). "Canine bone marrow: normal hematopoiesis, biopsy techniques, and cell identification and evaluation." Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian **6**(10): 909-925, 928.
- Harvey, J. W., T. G. Terrell, *et al.* (1981). "Well-differentiated lymphocytic leukemia in a dog: long-term survival without therapy." Veterinary Pathology **18**(1): 37-47.
- Helfand, S. C. (1987). "Low-dose cytosine arabinoside-induced remission of lymphoblastic leukemia in a cat." Journal Of The American Veterinary Medical Association **191**(6): 707-710.
- Helfand, S. C., S. A. Soergel, *et al.* (1994). "Clinical and immunological effects of human recombinant interleukin-2 given by repetitive weekly infusion to normal dogs." Cancer Immunology, Immunotherapy: CII **39**(2): 84-92.
- Hisasue, M., T. Nishimura, *et al.* (2008). "A dog with acute myelomonocytic leukemia." The Journal Of Veterinary Medical Science / The Japanese Society Of Veterinary Science **70**(6): 619-621.

- Hodgkins, E. M., J. G. Zinkl, *et al.* (1980). "Chronic lymphocytic leukemia in the dog." Journal Of The American Veterinary Medical Association **177**(8): 704-707.
- Hohenhaus, A. E. (2005). Myelodysplastic syndromes. Small animal and exotics. Proceedings of the North American Veterinary Conference, Volume 19, Orlando, Florida, USA, 8-12 January, 2005. Gainesville; USA, Eastern States Veterinary Association.
- Hohenhaus, A. E., A. E. Peaston, *et al.* (2002). Cancer chemotherapy. Small Animal Clinical Pharmacology. J. E. Maddison, S. W. Page, D. Church: 293-326.
- Holzworth, J. (1960). "Leukemia and related neoplasms in the cat. I. Lymphoid malignancies." Journal Of The American Veterinary Medical Association **136**: 47-69.
- Hoyer, J. D., C. W. Ross, *et al.* (1995). "True T-cell chronic lymphocytic leukemia: a morphologic and immunophenotypic study of 25 cases." Blood **86**(3): 1163-1169.
- Huibregtse, B. A. and J. L. Turner (1994). "Hypereosinophilic syndrome and eosinophilic leukemia: a comparison of 22 hypereosinophilic cats." Journal of the American Animal Hospital Association **30**(6): 591-599.
- Jain, N. C. (1993). "Classification of myeloproliferative disorders in cats using criteria proposed by the Animal Leukaemia Study Group: a retrospective study of 181 cases (1969-1992)." Comparative Haematology International **3**(3): 125-134.
- Jain, N. C. (1993). The leukemias: general aspects. Essentials of Veterinary Hematology. R. C. Jain: 307-318.
- Jain, N. C., G. J. Kociba, *et al.* (1991). "Proposed criteria for classification of acute myeloid leukemia in dogs and cats." Veterinary Clinical Pathology **20**(3): 63-82.
- Jain, N. C., B. R. Madewell, *et al.* (1981). "Clinical-pathological findings and cytochemical characterization of myelomonocytic leukaemia in 5 dogs." Journal Of Comparative Pathology **91**(1): 17-31.
- Jandl, J. H. (1991). Hematopoietic malignancies. Blood: pathophysiology.
- Joiner, G. N., C. J. Fraser, *et al.* (1976). "A case of chronic granulocytic leukemia in a dog." Canadian Journal of Comparative Medicine **40**(2): 153-160.
- Keller, P., P. Sager, *et al.* (1985). "Acute myeloblastic leukaemia in a dog." Journal Of Comparative Pathology **95**(4): 619-632.
- Khanna, C. et D. Bienzle (1994). "Polycythemia vera in a cat: bone marrow culture in erythropoietin-deficient medium." Journal of the American Animal Hospital Association **30**(1): 45-49.
- Kheiri, S. A., T. MacKerrell, *et al.* (1998). "Flow cytometry with or without cytochemistry for the diagnosis of acute leukemias?" Cytometry **34**(2): 82-86.
- Kipps, T. J. (1995). Chronic lymphocytic leukemia and related diseases. Williams' hematology. E. Beutler, M. A. Lichtman, B. S. Coller, *et al.*: 1017-1039.
- Kirkness, E. F., V. Bafna, *et al.* (2003). "The dog genome: survey sequencing and comparative analysis." Science (New York, N.Y.) **301**(5641): 1898-1903.
- Koeffler, H. P. et D. W. Golde (1981). "Chronic myelogenous leukemia--new concepts (second of two parts)." The New England Journal Of Medicine **304**(21): 1269-1274.
- Kristensen, A. T., J. S. Klausner, *et al.* (1991). "Spurious hyperphosphatemia in a dog with chronic lymphocytic leukemia and an IgM monoclonal gammopathy." Veterinary Clinical Pathology **20**(2): 45-48.
- Leifer, C. E. and R. E. Matus (1985). "Lymphoid leukemia in the dog. Acute lymphoblastic leukemia and chronic lymphocytic leukemia." Veterinary Clinics of North America, Small Animal Practice **15**(4): 723-739.
- Leifer, C. E. et R. E. Matus (1986). "Chronic lymphocytic leukemia in the dog: 22 cases (1974-1984)." Journal Of The American Veterinary Medical Association **189**(2): 214-217.

- Leifer, C. E., R. E. Matus, *et al.* (1983). "Chronic myelogenous leukemia in the dog." Journal Of The American Veterinary Medical Association **183**(6): 686-689.
- Lichtman, M. A. (1990). Chronic myelogenous leukemia and related disorders. Hematology. W. J. Williams, E. Beutler, A. J. Ersler, *et al.*: 202-223.
- Linnabary, R. D., M. A. Holscher, *et al.* (1978). "Acute myelomonocytic leukemia in a dog." Journal of the American Animal Hospital Association **14**(1): 71-75.
- MacEwen, E. G., F. H. Drazner, *et al.* (1975). "Treatment of basophilic leukemia in a dog." Journal Of The American Veterinary Medical Association **166**(4): 376-380.
- MacEwen, E. G. *et P. W. Hess* (1977). Canine lymphosarcoma and leukemia. Current veterinary therapy. VI. Small animal practice. R. W. Kirk. Philadelphia; USA, W.B. Saunders.: 473-479.
- Madewell, B. R. (1986). "Hematological and bone marrow cytological abnormalities in 75 dogs with malignant lymphoma." Journal Of The American Animal Hospital Association **22**(2): 235-240.
- Magnol, J. P., T. Marchal, *et al.* (2001). Cancérologie clinique du chien: démarche diagnostique, stratégie thérapeutique 38-53.
- Mahaffey, E. A., T. P. Brown, *et al.* (1987). "Basophilic leukaemia in a dog." Journal Of Comparative Pathology **97**(4): 393-399.
- Mashita, T., T. Shimoda, *et al.* (2006). "A cat with acute myeloblastic leukemia without maturation (M1) treated with combination chemotherapy." Journal of Veterinary Medical Science **68**(1): 97-101.
- Matus, R. E., C. E. Leifer, *et al.* (1983). "Acute lymphoblastic leukemia in the dog: a review of 30 cases." Journal of the American Veterinary Medical Association **183**(8): 859-862.
- McDonough, S. P. and P. F. Moore (2000). "Clinical, hematologic, and immunophenotypic characterization of canine large granular lymphocytosis." Veterinary Pathology **37**(6): 637-646.
- McGrath, C. J. (1974). "Polycythemia vera in dogs." Journal Of The American Veterinary Medical Association **164**(11): 1117-1122.
- McGrath, C. J., D. R. Krawiec, *et al.* (1982). "Canine polycythemia vera: a review of diagnostic features." Veterinary Medicine & Small Animal Clinician **77**(4): 611-613.
- McManus, P. M. (2005). "Classification of myeloid neoplasms: a comparative review." Veterinary Clinical Pathology **34**(3): 189-212.
- Mears, E. A., R. E. Raskin, *et al.* (1997). "Basophilic leukemia in a dog." Journal Of Veterinary Internal Medicine / American College Of Veterinary Internal Medicine **11**(2): 92-94.
- Meckenstock, G., C. Aul, *et al.* (1998). "Dyshematopoiesis in de novo acute myeloid leukemia: cell biological features and prognostic significance." Leukemia & Lymphoma **29**(5-6): 523-531.
- Médaille, C., A. Briend-Marchal (2008). Annexes. Guide pratique des analyses biologiques vétérinaires. C. Médaille, A. Briend-Marchal: 305-319.
- Médaille, C., A. Briend-Marchal (2008). Exploration biologique de l'équilibre hydrique et électrolytique. Guide pratique des analyses biologiques vétérinaires. C. Médaille, A. Briend-Marchal: 39-41.
- Messick, J., M. Carothers, *et al.* (1990). "Identification and characterization of megakaryoblasts in acute megakaryoblastic leukemia in a dog." Veterinary Pathology **27**(3): 212-214.
- Minelli, M., B. Miniscalco, *et al.* (1998). "Diagnostic and chemotherapeutic approach to a case of acute monocytic leukaemia (M5) in a cat. / Approccio diagnostico e

- chemioterapico in un caso de leucemia monocitica acuta (M5) felina." Veterinaria (Cremona) **12**(5): 77-80.
- Modiano, J. F., J. Wojcieszyn, *et al.* (1998). "Timely and accurate diagnosis of leukemias in small animals: the first step towards successful therapy." Proc Ann Mtg Vet Cancer Pathol Soc **18**: 28.
- Montserrat, E., F. Bosch, *et al.* (1997). "Treatment of B-cell chronic lymphocytic leukaemia: current status and future perspectives." Journal Of Internal Medicine. Supplement **740**: 63-67.
- Moore, P. F., P. V. Rossitto (1993). "Development of monoclonal antibodies to canine T cell receptor complex (TCR/CD3) and their utilization in the diagnosis of T cell neoplasia." Veterinary Pathology **30**: 457.
- Mori, T., T. Kadosawa, *et al.* (2001). "Acute respiratory failure caused by leukaemic infiltration of the lung of a dog." The Journal Of Small Animal Practice **42**(7): 349-351.
- Morris, J., J. Dobson (2001). Hematopoietic system: leukaemia. Small Animal Oncology. J. Morris, J. Dobson: 239-246.
- Morris, J. S., J. K. Dunn, *et al.* (1993). "Canine lymphoid leukaemia and lymphoma with bone marrow involvement: a review of 24 cases." Journal of Small Animal Practice **34**(2): 72-79.
- Muller, A., L. Cauzinille, *et al.* (1997). "Chronic myeloid leukaemia in a dog: a case report. / Un cas de leucémie myéloblastique chronique chez un chien." Pratique Médicale & Chirurgicale de l'Animal de Compagnie **32**(3): 259-264.
- Mylonakis, M. E., T. A. Petanides, *et al.* (2008). "Acute myelomonocytic leukaemia with short-term spontaneous remission in a cat." Australian Veterinary Journal **86**(6): 224-228.
- Nagashima, N., R. Kano, *et al.* (2005). "Acute monocytic leukaemia in a cat." The Veterinary Record **157**(12): 347-349.
- Ndikuwera, J., D. A. Smith, *et al.* (1992). "Chronic granulocytic leukaemia/eosinophilic leukaemia in a dog?" Journal of Small Animal Practice **33**(11): 553-557.
- Nolte, M., M. Werner, *et al.* (1993). "Different cytogenetic findings in two clinically similar leukaemic dogs." Journal Of Comparative Pathology **108**(4): 337-342.
- O'Brien, S., A. del Giglio, *et al.* (1995). "Advances in the biology and treatment of B-cell chronic lymphocytic leukemia." Blood **85**(2): 307-318.
- Ogilvie, G. K. (1995). "Hematopoietic growth factors: frontiers for cure." The Veterinary Clinics Of North America. Small Animal Practice **25**(6): 1441-1456.
- Prechal, J. (1995). Primary polycythemia. Current opinion in hematology. J. W. Adamson.
- Presley, R. H., A. Mackin, *et al.* (2006). "Lymphoid leukemia in dogs." Compendium Continuing Education for Veterinarian **28**(12): 831-849.
- Pui, C. H. et W. E. Evans (1998). "Acute lymphoblastic leukemia." The New England Journal Of Medicine **339**(9): 605-615.
- Radhakrishnan, A., R. E. Risbon, *et al.* (2004). "Progression of a solitary, malignant cutaneous plasma-cell tumour to multiple myeloma in a cat." Veterinary And Comparative Oncology **2**(1): 36-42.
- Ragan, H. A., P. L. Hackett, *et al.* (1976). "Acute myelomonocytic leukemia manifested as myelophthasic anemia in a dog." Journal Of The American Veterinary Medical Association **169**(4): 421-425.
- Ramaswamy, S. et T. R. Golub (2002). "DNA microarrays in clinical oncology." Journal Of Clinical Oncology: Official Journal Of The American Society Of Clinical Oncology **20**(7): 1932-1941.

- Raskin, R. E. (1996). "Myelopoiesis and myeloproliferative disorders." The Veterinary Clinics Of North America. Small Animal Practice **26**(5): 1023-1042.
- Raskin, R. E. et J. D. Krehbiel (1985). "Myelodysplastic changes in a cat with myelomonocytic leukemia." Journal Of The American Veterinary Medical Association **187**(2): 171-174.
- Raskin, R. E., J. M. Medley, *et al.* (1986). Allogenic bone marrow transplantation for the treatment of acute feline leukemia. Veterinary Clinical Pathology. **15**: 5-5.
- Reagan, W. J., D. B. DeNicola (1998). Myeloproliferative and lymphoproliferative disorders. Cancer on Dogs and Cats: Medical and Surgical Management. W. Morrison: 116-118.
- Reed, C., G. V. Ling, *et al.* (1970). "Polycythemia vera in a cat." Journal Of The American Veterinary Medical Association **157**(1): 85-91.
- Reimann, N., S. Bartnitzke, *et al.* (1998). "Trisomy 1 in a canine acute leukemia indicating the pathogenetic importance of polysomy 1 in leukemias of the dog." Cancer Genetics And Cytogenetics **101**(1): 49-52.
- Reimann, N., S. Bartnitzke, *et al.* (1996). "An extended nomenclature of the canine karyotype." Cytogenetics And Cell Genetics **73**(1-2): 140-144.
- Rohrig, K. E. (1983). "Acute myelomonocytic leukemia in a dog." Journal Of The American Veterinary Medical Association **182**(2): 137-141.
- Ruslander, D. A., D. H. Gebhard, *et al.* (1997). "Immunophenotypic characterization of canine lymphoproliferative disorders." In Vivo (Athens, Greece) **11**(2): 169-172.
- Safran, N., K. Perk, *et al.* (1992). "Isolation and preliminary characterisation of a novel retrovirus isolated from a leukaemic dog." Research In Veterinary Science **52**(2): 250-255.
- Sharifi, H., S. M. Nassiri, *et al.* (2007). "Eosinophilic leukaemia in a cat." Journal Of Feline Medicine And Surgery **9**(6): 514-517.
- Shull, R. M., R. C. DeNovo, *et al.* (1986). "Megakaryoblastic leukemia in a dog." Veterinary Pathology **23**(4): 533-536.
- Simpson, J. W., R. W. Else, *et al.* (1990). "Successful treatment of suspected essential thrombocythaemia in the dog." Journal of Small Animal Practice **31**(7): 345-348.
- Stockham, S. L., K. S. Keeton, *et al.* (2003). "Clinical assessment of leukocytosis: distinguishing leukocytoses caused by inflammatory, glucocorticoid, physiologic, and leukemic disorders or conditions." The Veterinary Clinics Of North America. Small Animal Practice **33**(6): 1335-1357.
- Suter, S. E., W. Vernau, *et al.* (2007). "CD34+, CD41+ acute megakaryoblastic leukemia in a dog." Veterinary Clinical Pathology / American Society For Veterinary Clinical Pathology **36**(3): 288-292.
- Sutton, R. H. et S. Wilkins (1981). "A case of canine myeloid neoplasia." The Journal Of Small Animal Practice **22**(3): 139-147.
- Swenson, C. L., M. A. Carothers, *et al.* (1993). "Eosinophilic leukemia in a cat with naturally acquired feline leukemia virus infection." Journal of the American Animal Hospital Association **29**(6): 497-501.
- Tablin, F., N. C. Jain, *et al.* (1989). "Ultrastructural analysis of platelets and megakaryocytes from a dog with probable essential thrombocythemia." Veterinary Pathology **26**(4): 289-293.
- Tarrant, J. M., T. Stokol, *et al.* (2001). "Diagnosis of chronic myelogenous leukemia in a dog using morphologic, cytochemical, and flow cytometric techniques." Veterinary Clinical Pathology **30**(1): 19-24.
- Teske, E., P. van Heerde, *et al.* (1994). "Prognostic factors for treatment of malignant lymphoma in dogs." Journal Of The American Veterinary Medical Association **205**(12): 1722-1728.

- Theilen, G. H., B. R. Madwell (1979). Leukemia-sarcoma disease complex. Veterinary Cancer Medicine. G. H. Theilen, B. R. Madwell.
- Thomas, R., W. Bridge, *et al.* (2003). "Isolation and chromosomal assignment of canine genomic BAC clones representing 25 cancer-related genes." Cytogenetic and Genome Research **102**(1/4): 249-253.
- Thomas, R., K. C. Smith, *et al.* (2003). "Chromosome aberrations in canine multicentric lymphomas detected with comparative genomic hybridisation and a panel of single locus probes." British Journal Of Cancer **89**(8): 1530-1537.
- Thomsen, M. K., A. L. Jensen, *et al.* (1991). "Enhanced granulocyte function in a case of chronic granulocytic leukemia in a dog." Veterinary Immunology And Immunopathology **28**(2): 143-156.
- Thrall, M. A. (1981). "Lymphoproliferative disorders ; lymphocytic leukemia and plasma cell myeloma." Veterinary Clinics of North America, Small Animal Practice **11**(2): 321-347.
- Tigaud, J. D. (1991). "Les facteurs de croissance hématopoïétiques en onco-hématologie." Medicine Science **7**: 444-452.
- Tolle, D. V., S. M. Cullen, *et al.* (1983). "Circulating micromegakaryocytes preceding leukemia in three dogs exposed to 2.5 R/day gamma radiation." Veterinary Pathology **20**(1): 111-114.
- Toth, S. R., A. S. Nash, *et al.* (1985). "Chronic eosinophilic leukaemia in blast crisis in a cat negative for feline leukaemia virus." The Veterinary Record **117**(18): 471-472.
- Vail, D. M., K.M. Young (2007). Canine lymphoma and lymphoid leukemia. Small Animal Clinical Oncology. S. J. Withrow, D.M. Vail: 699-733.
- Vardiman, J. W., N. L. Harris, *et al.* (2002). "The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms." Blood **100**(7): 2292-2302.
- Varet, B., A. Buzyn (2003). Leucémies aiguës lymphoblastiques; Leucémies aiguës myéloïdes; Leucémies lymphoïdes chroniques; Leucémies myéloïdes chroniques. Le livre de l'interne: Hématologie: 153-230; 449-467.
- Vernau, K. M., K. A. Terio, *et al.* (2000). "Acute B-cell lymphoblastic leukemia with meningeal metastasis causing primary neurologic dysfunction in a dog." Journal Of Veterinary Internal Medicine / American College Of Veterinary Internal Medicine **14**(1): 110-115.
- Vernau, W. et P. F. Moore (1999). "An immunophenotypic study of canine leukemias and preliminary assessment of clonality by polymerase chain reaction." Veterinary Immunology And Immunopathology **69**(2-4): 145-164.
- Villiers, E., S. Baines, *et al.* (2006). "Identification of acute myeloid leukemia in dogs using flow cytometry with myeloperoxidase, MAC387, and a canine neutrophil-specific antibody." Veterinary Clinical Pathology / American Society For Veterinary Clinical Pathology **35**(1): 55-71.
- Watson, A. D. J., A. S. Moore, *et al.* (1994). "Primary erythrocytosis in the cat: treatment with hydroxyurea." Journal of Small Animal Practice **35**(6): 320-625.
- Weiden, P. L., R. Storb, *et al.* (1976). "Severe hereditary haemolytic anaemia in dogs treated by marrow transplantation." British Journal Of Haematology **33**(3): 357-362.
- Weiss, D. J. (2001). "Evaluation of monoclonal antibodies for identification of subpopulations of myeloid cells in bone marrow obtained from dogs." American Journal Of Veterinary Research **62**(8): 1229-1233.
- Weiss, D. J. (2001). "Evaluation of proliferative disorders in canine bone marrow by use of flow cytometric scatter plots and monoclonal antibodies." Veterinary Pathology **38**(5): 512-518.

- Weiss, D. J. (2001). "Flow cytometric and immunophenotypic evaluation of acute lymphocytic leukemia in dog bone marrow." Journal Of Veterinary Internal Medicine / American College Of Veterinary Internal Medicine **15**(6): 589-594.
- Weiss, D. J. (2003). "New insights into the physiology and treatment of acquired myelodysplastic syndromes and aplastic pancytopenia." The Veterinary Clinics Of North America. Small Animal Practice **33**(6): 1317-1334.
- Weiss, D. J. (2006). "A retrospective study of the incidence and the classification of bone marrow disorders in the dog at a veterinary teaching hospital (1996-2004)." Journal Of Veterinary Internal Medicine / American College Of Veterinary Internal Medicine **20**(4): 955-961.
- Weiss, D. J. et S. A. Smith (2000). "Primary myelodysplastic syndromes of dogs: a report of 12 cases." Journal Of Veterinary Internal Medicine / American College Of Veterinary Internal Medicine **14**(5): 491-494.
- Wilkins, L., J. Tchinda, et al. (1998). "Analysis of hematologic diseases using conventional karyotyping, fluorescence in situ hybridization (FISH), and comparative genomic hybridization (CGH)." Human Pathology **29**(8): 833-839.
- Winton, E. F. et A. A. Langston (2004). "Update in acute leukemia 2003: a risk adapted approach to acute myeloblastic leukemia in adults." Seminars In Oncology **31**(2 Suppl 4): 80-86.
- Wong, K. F., J. K. Chan, *et al.* (1996). "T-cell form of chronic lymphocytic leukaemia: a reaffirmation of its existence." British Journal Of Haematology **93**(1): 157-159.
- Workman, H. C. et W. Vernau (2003). "Chronic lymphocytic leukemia in dogs and cats: the veterinary perspective." The Veterinary Clinics Of North America. Small Animal Practice **33**(6): 1379-1399.
- Young, K. M., E. G. MacEwen (2007). Canine acute myeloid leukaemia, chronic myeloproliferative diseases, and myelodysplasia. Small Animal Clinical Oncology. S. J. Withrow, D. M. Vail: 756-769.

## ANNEXES

### Annexe 1 : Normes hématologiques des carnivores domestiques.

	<b>Chien</b>	<b>Chat</b>	<b>Unités</b>
<b>Hématies</b>	5,6-8,5	5,0-10,0	$10^{12}/L$
<b>Hémoglobine</b>	13,2-19,2	8,0-15,0	g/dL
<b>Hématocrite</b>	38-57	24-45	%
<b>VGM</b>	62-71	39-50	$\mu m^3$
<b>TCMH</b>	22-35	13-17	pg
<b>CCMH</b>	33-36	32-36	g/dL
<b>Leucocytes</b>	6,0-13,0	5,5-16,0	$10^9/L$
<b>Granulocytes neutrophiles</b>	3,9-12,0	2,5-12,5	$10^9/L$
<b>Granulocytes éosniophiles</b>	0-1,9	0-0,75	$10^9/L$
<b>Granulocytes basophiles</b>	0-0,2	0-0,2	$10^9/L$
<b>Lymphocytes</b>	0,8-3,6	1,5-7,0	$10^9/L$
<b>Monocytes</b>	0,1-1,3	0-0,85	$10^9/L$
<b>Plaquettes</b>	150-500	200-600	$10^9/L$
<b>Réticulocytes</b>	20-80	20-60	$10^9/L$

L : litre ; g : gramme ; VGM : Volume Globulaire Moyen ; TCMH : Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine ; CCMH : Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine.

Annexe 2 : Pourcentages cellulaires de la moelle osseuse chez le chien adulte.

<b>Myélogramme</b>	<b>Chien adulte (% moyen)</b>
<b>Myéloblastes</b>	1,24
<b>Promyélocytes</b>	1,37
<b>Myélocytes neutrophiles</b>	5,78
<b>Myélocytes éosinophiles</b>	1,19
<b>Métamyélocytes neutrophiles</b>	5,60
<b>Métamyélocytes éosinophiles</b>	1,47
<b>Band cells</b>	25,98
<b>Granulocytes neutrophiles</b>	8,15
<b>Granulocytes éosinophiles</b>	2,78
<b>Granulocytes basophiles</b>	0,11
<b><i>Total cellules myéloïdes</i></b>	<b>54</b>
<b>Proérythroblastes</b>	1,24
<b>Erythroblastes basophiles</b>	5,79
<b>Erythroblastes polychromatophiles</b>	20,1
<b>Erythroblastes acidophiles</b>	11,3
<b><i>Total cellules érythroïdes</i></b>	<b>38</b>
<b>Lymphocytes</b>	2,8
<b>Plasmocytes</b>	1,1
<b>Monocytes</b>	0,18
<b>Cellules réticulaires</b>	0,39
<b>Noyaux nus</b>	2,29
<b><i>Rapport M/E</i></b>	<b>1,42</b>

# LES LEUCEMIES DU CHAT ET DU CHIEN : CLASSIFICATION, DIAGNOSTIC ET TRAITEMENT

**GODART Pierre-Olivier**

## **Résumé**

Les leucémies sont des cancers concernant les cellules sanguines et trouvent leur origine dans la moelle osseuse hématopoïétique, elles aboutissent toutes à un processus néoplasique circulant. Ces maladies sont rares chez les carnivores domestiques et leur étiologie demeure encore mal connue, contrairement à leur équivalent humain. Dans les espèces canine et féline, la classification des leucémies repose sur les différentes lignées hématolymphopoïétique qu'elles peuvent possiblement toucher, mais également sur leur évolution clinique. Ainsi, on distingue les leucémies lymphoïdes (plus fréquentes, notamment chez le chat) des leucémies myéloïdes, et les leucémies aiguës (à évolution rapide voire fulgurante) des leucémies chroniques (souvent asymptomatiques). Leur diagnostic s'effectue non seulement d'après les données cliniques, mais surtout à l'aide des résultats d'examen complémentaires : notamment le myélogramme pour les leucémies aiguës, et l'hémogramme pour les leucémies chroniques.

Le pronostic des leucémies aiguës est très sombre, d'autant plus que l'état clinique très dégradé n'autorise souvent pas la mise en place d'un traitement anti-cancéreux agressif dès la première présentation de l'animal. En revanche, les leucémies chroniques sont souvent asymptomatiques, de découverte fortuite, et ne nécessitent pas systématiquement de traitement.

La prise en charge thérapeutique des leucémies associe un traitement anti-cancéreux à une thérapie de soutien. Les protocoles chimiothérapeutiques sont nombreux, variés et semblables à ceux initiés dans le cas de lymphomes.

Le sujet de cette étude est de présenter les aspects cliniques, diagnostiques et thérapeutiques des leucémies, tout en précisant les nouvelles techniques souvent inspirées de l'expérience acquise en médecine humaine.

## **Mots clés**

LEUCEMIE ; CLASSIFICATION ; DIAGNOSTIC ; TRAITEMENT ; LEUCEMIE AIGUE ;  
LEUCEMIE CHRONIQUE ; LEUCEMIE LYMPHOÏDE ; LEUCEMIE MYELOÏDE ;  
SYNDROME MYELODYSPLASIQUE ; CARNIVORE ; CHIEN ; CHAT

## **Jury**

Président : Pr

Directeur : Dr FREYBURGER

Assesseur : Dr CORDONNIER

## **Adresse de l'auteur**

11 avenue du général Leclerc  
94700 Maisons-Alfort

# LEUKAEMIAS IN DOGS AND CATS :

## CLASSIFICATION, DIAGNOSIS AND TREATMENT

**GODART Pierre-Olivier**

### **Summary**

Leukaemias are blood cells cancers and stem from the bone marrow, they all lead to a neoplastic circulating process. Those diseases are rare in dogs and cats, and their etiology still remains unclear, in opposition to human leukaemias. In feline and canine species, the classification of leukaemias is based on the different blood cell lineages they affect, but also on the clinical evolution. Thus, we distinguish lymphoid leukaemias (the most common, particularly in the cats) from myeloid leukaemias, and acute leukaemias (fast and severe) from chronic leukaemias (often indolent). Their diagnosis is based on clinical signs, and above all on the results from the blood count (chronic leukaemias) and the myelogram (acute leukaemias).

The prognosis of acute leukaemias is very poor, a fortiori if the clinical condition of the patient does not allow a strong antineoplastic treatment at the first presentation. On the other hand, chronic leukaemias are often asymptomatic, fortuitously diagnosed and do not require consistently a treatment.

The patient management includes an antineoplastic treatment and a support therapy. Many antineoplastic protocols exist and they are very similar with those used for the lymphoma.

The subject of this study is to present the different aspects of the leukaemias (in particular the clinical aspects, the diagnosis and the treatment) and, in the same time, to state the new medical techniques that are usually coming from the experience gained in human medicine.

### **Keywords**

LEUKAEMIA ; CLASSIFICATION ; DIAGNOSIS ; TREATMENT ; ACUTE  
LEUKAEMIA ; CHRONIC LEUKAEMIA ; LYMPHOID LEUKAEMIA ; MYELOID  
LEUKAEMIA ; MYELODYSPLASTIC SYNDROME ; CARNIVORE ; DOG ; CAT

### **Jury**

Président : Pr

Director : Dr FREYBURGER

Assessor : Dr CORDONNIER

### **Author's address**

11 avenue du général Leclerc  
94700 Maisons-Alfort