



## Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : [http://oatao.univ-toulouse.fr/  
Eprints ID : 4029](http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints/ID%3A4029)

**To cite this version :**

Delverdier, Maxence and Bourges-Abella, Nathalie and Raymond-Letron, Isabelle and Trumel , Cathy and Degorce-Rubiales, Frédérique and Poujade, Agnès and Freiche, Valérie ( 2010)  
*Immunohistochimie des lymphomes gastrointestinaux du chat.*  
Revue de Médecine Vétérinaire, vol. 261 (n° 5). pp. 225-232. ISSN 0035-1555

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: [staff-oatao@inp-toulouse.fr](mailto:staff-oatao@inp-toulouse.fr).

# Immunohistochimie des lymphomes gastro-intestinaux du chat

M. DELVERDIER<sup>1,2\*</sup>, N. BOURGES-ABELLA<sup>2</sup>, I. RAYMOND-LETRON<sup>2</sup>, C. TRUMEL<sup>3</sup>, F. DEGORCE-RUBIALES<sup>4</sup>, A. POUJADE<sup>4</sup>, V. FREICHE<sup>5</sup>

<sup>1</sup>INRA, UMR1225, 23 chemin des capelles, F-31076 Toulouse, FRANCE.

<sup>2</sup>Unité d'Histologie - Anatomie pathologique, Ecole Nationale Vétérinaire, Université de Toulouse, 23 chemin des capelles, F-31076 Toulouse cedex 3, FRANCE.

<sup>3</sup>Unité de Biologie Médicale, Ecole Nationale Vétérinaire, Université de Toulouse, 23 chemin des capelles, F-31076 Toulouse cedex 3, FRANCE.

<sup>4</sup>Laboratoire d'Anatomie Pathologique du Sud-Ouest (LAPVSO), 129 route de Blagnac, F-31201 Toulouse 2, FRANCE.

<sup>5</sup>Clinique Vétérinaire Alliance, 8 boulevard Godard, F-33300 Bordeaux, FRANCE.

\* Auteur chargé de la correspondance : m.delverdier@envt.fr

## RÉSUMÉ

Chez le chat, les lymphomes sont les tumeurs les plus fréquentes du tractus digestif. La seule étude morphologique par l'examen cytologique et/ou histopathologique ne permet pas dans tous les cas de différencier un lymphome d'une lésion hyperplasique ou réactionnelle et elle n'autorise pas non plus le typage des tumeurs qui nécessite l'identification précise de la sous-population cellulaire à l'origine de la prolifération néoplasique. Actuellement, au moyen d'un nombre limité d'anticorps utilisables sur des prélèvements fixés par le formol et inclus en paraffine, c'est-à-dire dans les conditions de la pratique clinique courante, le recours à des techniques immunohistochimiques permet d'accroître de manière sensible les informations obtenues par l'examen histologique pratiquées sur des biopsies, aussi bien pour le typage des tumeurs que pour le diagnostic différentiel des lésions non tumorales. Les principes, modalités, indications et limites de ce type de méthodes appliquées à la gastroentérologie du chat sont présentés dans cette synthèse.

**Mots-clés :** Immunohistochimie, chat, gastro-entérologie, lymphomes, diagnostic.

## SUMMARY

### Immunohistochemistry of feline gastrointestinal lymphomas

Malignant lymphomas are the most common gastrointestinal tumours in cats. The histopathological and/or cytological investigations alone do not allow to differentiate between lymphomas and hyperplastic or reactive lesions and to precisely identify the cellular origin of neoplastic cells. Immunohistochemical techniques highly refine the information obtained by histological examination of biopsies, for a better identification of tumours as well as for an easier differential diagnosis of neoplastic and non-neoplastic lesions; and this with a limited number of antibodies which can be used on formalin-fixed and paraffin-embedded samples (i.e. in clinical practice). The principles, modes, instructions and limits of these methods applied to feline gastroenterology are presented in this synthesis.

**Keywords:** Weaner pig, grouping, biological performance, rank order fights.

## Introduction

Le terme de « lymphome digestif » désigne une tumeur dont le siège principal se situe dans le tractus intestinal et les nœuds lymphatiques de drainage. Le tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT, mucosa associated lymphoid tissue) du tractus intestinal est le site primaire de la prolifération néoplasique. Les nœuds lymphatiques périphériques ne sont pas impliqués dans les lymphomes digestifs.

Les lésions des lymphomes digestifs peuvent être diffuses ou localisées. Les lésions localisées peuvent reconnaître une topographie essentiellement intraluminaire ou intrapariétale. Les lésions peuvent être uniques ou multiples, à différents niveaux du tube digestif. Les tumeurs T lymphocytaires exhibent souvent un épithéliotropisme illustré dans des lésions précoces qui montrent une infiltration initialement intra-épithéliale et péri-glandulaire. Les tumeurs B lymphocytaires débutent en général dans les centres germinatifs de la sous-muqueuse [2].

Dans l'espèce féline, les lymphomes digestifs sont plus fréquents que les adénocarcinomes ou les léiomyosarcomes. Ils sont observés chez des animaux de plus de cinq ans (âge moyen de 10 ans) ce qui les différencie des lymphomes mul-

ticentriques qui peuvent concerner des animaux relevant de tranches d'âge plus variées (de 1 à 18 ans !) [2, 9]. Il n'y a pas de prédispositions raciales ou sexuelles. Les chats atteints présentent rarement un état leucémique ou un syndrome d'hypercalcémie. Les sites lésionnels, par ordre décroissant de fréquence, sont le jéjunum, la jonction iléo-caecocolique, le duodénum, le côlon et l'estomac [2]. Les tumeurs multiples peuvent correspondre à différentes combinaisons de ces sites.

D'un point de vue étiologique, l'intervention possible de rétrovirus a donné lieu à diverses hypothèses. Au moins la moitié des cas de lymphomes digestifs du chat ne semblent pas être l'objet d'une infection par le FeLV (de façon similaire aux lymphomes multicentriques). Il pourrait s'agir de situations où le virus est intégré, sans réplication, ou bien de cas relevant réellement d'une étiologie autre. D'autre part, une infection par le FIV pourrait dans certains cas conduire à une réactivation d'une infection latente par le FeLV ou bien encore intervenir par le biais d'une activation polyclonale des lymphocytes B. Quoiqu'il en soit, il est actuellement admis que les lymphomes digestifs du chat peuvent se développer sans exposition préalable au FeLV [2, 9, 14].

Le diagnostic histopathologique à partir de biopsies concerne toujours des lymphomes gastro-intestinaux primitifs. En effet,

le tractus gastro-intestinal peut parfois être infiltré lors de l'évolution d'un lymphome multicentrique mais le diagnostic est déjà établi à partir des prélèvements concernant d'autres sites lymphoïdes. La classification des lymphomes animaux est complexe, intégrant des données multiples tenant à la distribution et la localisation des lésions, aux aspects histo- et cytopathologiques et à l'immunophénotype. De plus, la plupart des systèmes de classification font référence aux lymphomes dont les lésions siègent dans les nœuds lymphatiques ou la peau. Les lymphomes digestifs, en pathologie vétérinaire, n'ont pas fait l'objet de travaux exhaustifs permettant de dégager une classification standardisée, communément admise. Enfin, une classification n'a de sens que si elle permet de dégager des modalités évolutives et thérapeutiques claires, adaptées. A cet égard, il sera sans doute utile de mieux caractériser les différentes formes lésionnelles par des moyens diagnostiques supplémentaires, dont l'immunohistochimie constitue un exemple, pour en apprécier sa pertinence.

## Rappels sur le tissu lymphoïde associé au tube digestif (G.A.L.T. : Gut Associated Lymphoid Tissue)

La plupart des données approfondies concernant le tissu lymphoïde sont issues de l'histologie humaine et les particularités des espèces animales d'intérêt vétérinaire, en particulier celles de l'espèce féline, n'ont pas encore été complètement identifiées faute d'investigations aussi poussées. Quelque soit l'organe, le tissu lymphoïde associé aux muqueuses (M.A.L.T. : Mucosa Associated Lymphoid Tissue) procède, soit de formations lymphoïdes organisées, soit de lymphocytes épars dans la muqueuse qui peuvent proliférer lors de stimulations antigéniques.

Dans l'intestin grêle, le M.A.L.T. appelé spécifiquement le G.A.L.T., comporte ainsi quatre compartiments [9, 12, 17] :  
- les plaques de Peyer : leur distribution topographique chez le chat n'a malheureusement pas fait l'objet d'études publiées contrairement au chien chez lequel il a été montré que l'iléon héberge 80 à 90 % des plaques de Peyer [9]. Ces formations lymphoïdes organisées présentent en surface un épithélium qui surplombe les follicules lymphoïdes, avec des cellules M spécialisées dans la présentation antigénique. Sous l'épithélium, la zone du dôme – équivalent de la zone marginale de la rate et des nœuds lymphatiques – a été décrite dans l'espèce humaine [1]. Elle rassemble une population hétérogène de lymphocytes B, de plasmocytes, de lymphocytes T auxiliaires et de macrophages. Les follicules lymphoïdes situés sous le dôme correspondent à la zone de prolifération des lymphocytes B. En leur sein, les centres germinatifs hébergent quelques lymphocytes T auxiliaires et les cellules folliculaires dendritiques. Les aires interfolliculaires sont le lieu de la prolifération des lymphocytes T (essentiellement auxiliaires) [12]. Les plaques de Peyer fournissent les précurseurs des plasmocytes et des lymphocytes T présents dans la muqueuse intestinale. Ces précurseurs sont redistribués dans le chorion de la muqueuse à la faveur du phénomène de « homing » (par reconnaissance de récepteurs spécifiques sur

l'endothélium des veinules post-capillaires) [12].

- Les plasmocytes (qui sécrètent des IgA) et les lymphocytes T (essentiellement les cellules auxiliaires du chorion de la muqueuse),
- Les lymphocytes T (principalement des cellules cytotoxiques) intra-épithéliaux de la muqueuse de l'intestin grêle,
- Les nœuds lymphatiques mésentériques dont l'histologie topographique est comparable à celle des nœuds lymphatiques périphériques [8].

## Immunohistochimie appliquée à l'étude des populations lymphocytaires des muqueuses digestives du chat : principes et généralités

La seule étude morphologique des cellules lymphoïdes en vue de leur identification souffre d'évidentes limites qui tiennent à l'existence de différentes sous-populations lymphocytaires (comment différencier, par exemple, un immunoblaste B d'un immunoblaste T ?) et aux variations morphologiques parfois subtiles, que présentent les populations lymphocytaires tumorales, rendant les efforts de classification quelque peu aléatoires dans certains cas. Face à ce type de problèmes, l'immunohistochimie apporte un complément incontournable pour une approche diagnostique plus approfondie. Après avoir rappelé les principes du marquage immunohistochimique, les cibles antigéniques d'intérêt diagnostique seront présentées chez le chat.

Les méthodes immunohistochimiques [15] sont basées sur la reconnaissance spécifique de déterminants antigéniques (« épitopes ») par des anticorps couplés à des systèmes de révélation. Elles rendent ainsi possible la détection microscopique de molécules d'identification au sein des cellules (marqueurs de différenciation) ou encore de molécules liées à un état fonctionnel (marqueurs de prolifération ou expression d'oncoprotéines diverses).

Les méthodes les plus couramment utilisées en immunohistochimie vétérinaire utilisent la peroxydase comme enzyme du système de révélation, agissant sur un substrat chromogène (le plus souvent, la diaminobenzidine ou D.A.B.) pour produire une réaction colorée, visualisable sur les coupes histologiques, sur le site de fixation de l'anticorps. Le signal est généralement amplifié par des procédés concentrant la peroxydase sur les sites de reconnaissance de l'épitope. L'un des plus anciennement connus et qui est encore largement utilisé est représenté par la technique avidine – biotine [15]. Les molécules d'avidine (ou de streptavidine) peuvent lier avec une forte affinité plusieurs molécules de biotine dont certaines sont couplées aux anticorps anti-espèces (appelés conjugués ou second anticorps) qui se fixent sur les complexes immuns formés par l'association des antigènes et des anticorps spécifiques primaires. Un complexe préformé avidine – biotine – peroxydase peut ainsi se fixer sur les anticorps biotinylés ce qui

conduit à un accroissement important du marquage sur le site d'expression de l'épitope cible. Ces possibilités d'amplification du marquage sont importantes à considérer pour l'immunohistochimie pratiquée sur des biopsies réalisées dans le cadre de l'activité clinique courante. En effet, les échantillons tissulaires ne sont pas constitués par des tissus frais ou congelés mais par des tissus fixés, la fixation pouvant conduire, dans bon nombre de cas à une dénaturation des épitopes (et, en particulier, de ceux qui siègent en surface des cellules, sur la membrane plasmique). Des études réalisées sur des coupes histologiques issues de prélèvements fixés par le formol et inclus en paraffine, en conjuguant l'apport de procédés d'amplification avec celui de différentes techniques de démasquage des épitopes, ont permis d'identifier, dans l'espèce féline, un certain nombre d'anticorps opérationnels sur des biopsies digestives et ont rendu possible leur usage dans le cadre d'une activité clinique soutenue et régulière, suppose de pouvoir gérer un stock d'anticorps permettant un fonctionnement continu. La péremption rapide de ces réactifs rend donc nécessaire, pour des raisons de coût, un flux d'examen immunohistochimiques conséquent. Leur analyse doit être confiée à des pathologistes expérimentés en la matière, rompus aux nombreux problèmes d'interprétation que peuvent poser les réactions immunohistochimiques (bruit de fond, marquage non spécifique, réactivité croisée des anticorps ...) [15].

L'application de ces techniques à l'étude des infiltrations lymphocytaires du tube digestif chez le chat repose à l'heure actuelle sur quelques marqueurs d'usage courant. Il s'agit de marqueurs de différenciation des populations cellulaires du tissu lymphoïde et d'un marqueur de prolifération, l'épitope Ki-67. Les déterminants antigéniques de différenciation des cellules du tissu lymphoïde correspondent à des molécules généralement membranaires, communément désignés par l'abréviation CD (pour « cluster of differentiation » ou « classe de différenciation ») suivi d'un chiffre. L'immunophénotypage à finalité diagnostique est beaucoup moins développé en pathologie vétérinaire qu'il ne l'est en pathologie humaine, essentiellement pour des raisons financières de débouchés. Des réactifs utilisés en médecine humaine sont donc aussi employés chez les carnivores et de nombreuses études méthodologiques ont permis d'identifier certaines cibles antigéniques, dans ces espèces animales, susceptibles d'être reconnues par des anticorps hétérologues dirigés contre des épitopes humains pouvant être utilisés dans le cadre d'une activité diagnostique [8]. Pour l'immunophénotypage des infiltrats lymphocytaires du type digestif chez le chat, les principaux anticorps d'usage diagnostique courant, souvent inclus dans un panel associant plusieurs d'entre eux, sont les suivants :

- Pour les lymphocytes T, un anticorps monoclonal anti-CD3 $\epsilon$ , dirigé contre des séquences peptidiques  $\epsilon$  de la portion intracytoplasmique de la molécule CD3 ; cet anticorps est considéré comme un pan -T [14] capable de reconnaître l'ensemble des sous-populations lymphocytaires T (CD4, CD8, cytotoxiques indépendants du CMH) (figure 1C) ; on notera qu'un marquage spécifique du CD4 et/ou du CD8, nécessite le recours à des coupes à congélation,
- l'anticorps monoclonal anti-CD79a (clone HM57), qui reconnaît un épitope complexe de polypeptides associés aux

immunoglobulines de membrane des lymphocytes B dans l'espèce humaine, validé chez le chat pour les lymphocytes B et les plasmocytes [18],

- un anticorps monoclonal anti-CD20 like (clone BLA36) (figure 2C) qui reconnaît les lymphocytes B des centres germinatifs et du manteau [3] ainsi que les cellules dendritiques interdigitées des zones paracorticales des nœuds lymphatiques. Dans notre expérience, l'utilisation d'un second marqueur B se justifie pleinement chez le chat compte-tenu de la variabilité du marquage obtenu avec le CD79a,
- l'anticorps monoclonal anti-antigène myéloïde / histiocytaire humain (clone MAC 387) qui reconnaît les macrophages du chat [9],
- l'anticorps monoclonal anti-CD57 (clone NK1), utilisable en tant que marqueur des cellules NK [9],
- l'anticorps monoclonal MIB-1 [7, 11], dirigé contre l'épitope Ki-67, marqueur de prolifération majeur en pathologie vétérinaire, exprimé dans le noyau [nucléoplasme et nucléole(s)] des cellules engagées dans le cycle cellulaire (figures 1D et 2D).

A côté du cadre diagnostique, et notamment dans des travaux de recherche clinique, d'autres anticorps spécifiques du chat, peuvent être utilisés pour la mise en évidence de déterminants antigéniques supplémentaires (CD4, CD8 $\alpha$ , CD8 $\beta$ ...) permettant d'accroître encore les possibilités d'identification de certaines sous-populations cellulaires [16]. La nécessité de n'utiliser ces anticorps que sur des coupes à congélation limite leur usage diagnostique.

## Typologie anatomopathologique des lymphomes gastro-intestinaux du chat

Les lymphomes constituent les tumeurs gastro-intestinales les plus communes du chat.

Pour les lymphomes de l'estomac, un large consensus se dégage pour reconnaître la forte prévalence des lymphomes B, à grandes cellules (avec une nette prédominance du type cytologique immunoblastique) [9, 13].

Pour l'intestin grêle, il existe actuellement un consensus pour reconnaître trois formes principales de lésions [2], à savoir, les lymphomes « lymphocytiques » à petites cellules, les lymphomes blastiques à grandes cellules et les lymphomes à grands lymphocytes granuleux.

Les lymphomes lymphocytiques à petites cellules (figures 1A et 1B) sont essentiellement de phénotype T, avec des cellules exprimant un épithéliotropisme (figure 1C) et une prolifération cellulaire (figure 1D) qui débute à la base des villosités, dans l'intestin grêle de vieux chats [2]. Chez des animaux âgés, une infiltration lymphocytaire du chorion de l'intestin grêle, à tendance monotypique, est fréquemment observée et la différenciation entre un processus inflammatoire et un lymphome débutant peut être particulièrement délicate dans bon nombre de cas. Lors d'une évolution tumorale, l'infiltration cellulaire se propage massivement à l'épithélium, rendant difficile l'identification de la limite de celui-ci et sa distinction d'avec le chorion sous-jacent. A la différence d'une infiltration inflam-

matoire, on ne relève pas, dans ce type d'infiltrat, d'accroissement spectaculaire du nombre des plasmocytes et des éosinophiles. A terme, l'infiltration s'étend à l'ensemble du chorion de la muqueuse puis de la paroi intestinale. De nombreux cas évoluent lentement sans signes cliniques traduisant une extension au foie, à la rate ou aux nœuds lymphatiques, même si ces organes peuvent montrer une infiltration microscopique débutante [2].

Les lymphomes blastiques à grandes cellules, par contre, présentent souvent une infiltration pariétale (figure 2A) rapidement évolutive, avec une hypertrophie des nœuds lymphatiques mésentériques. Une majorité de cas serait de phénotype B (figure 2C) (avec des variations, cependant, selon les études) [2, 9, 13]. Les cellules tumorales présentent parfois un pléomorphisme important (figure 2B), avec un cytoplasme abondant et un noyau indenté, ces caractéristiques cytologiques ayant conduit dans le passé à l'usage du vocable de lymphome « histiocytique » pour décrire certaines variantes anaplasiques de ces lésions. Ce type de lymphome présente en général une forte propension à la dissémination métastatique.

Les lymphomes à grands lymphocytes granuleux suivent en général une évolution rapide. Ils peuvent reconnaître une

filiation T – lymphocytaire ou peuvent être issus de cellules NK (Natural Killer). Les cellules tumorales présentent souvent une taille moyenne à grande, avec un noyau pléomorphe fréquemment indenté. Les granulations sont en général de grande taille et intensément acidophiles. Les cellules tumorales sont souvent mélangées avec d'autres types de lymphocytes et de macrophages. Une dissémination métastatique et une évolution leucémique sont fréquentes.

Enfin, une forte proportion des lymphomes qui se développent dans le colon sont de phénotype B [14].

## Apports de l'immunohistochimie au diagnostic

En pratique, actuellement, le recours à un examen immunohistochimique intervient le plus souvent dans le cas de figure d'un diagnostic différentiel entre infiltration inflammatoire et infiltration néoplasique. Une autre indication peut être le typage d'une lésion tumorale, déjà identifiée comme telle cliniquement et à l'histopathologie. Un panel minimal

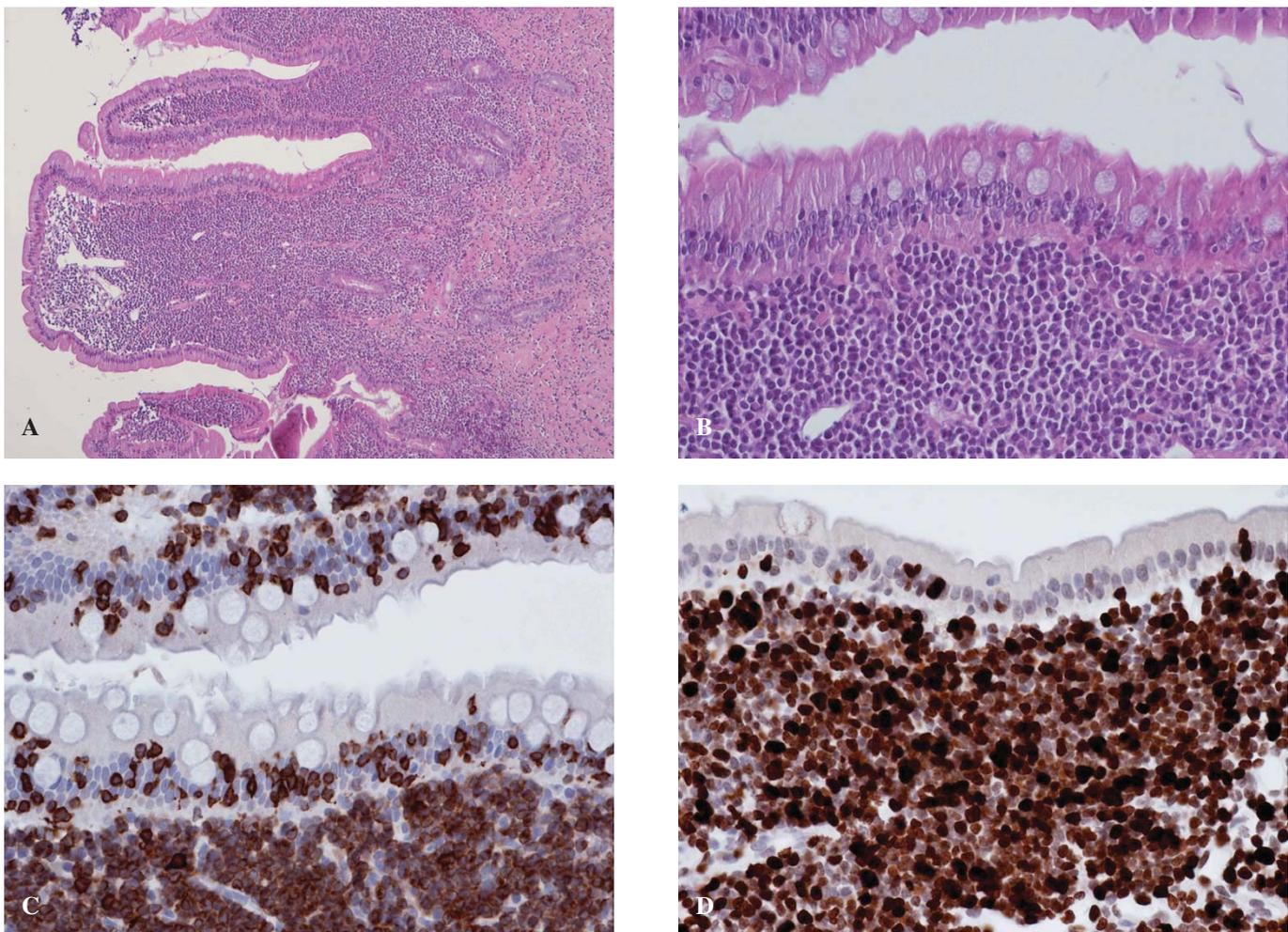


FIGURE 1 : Iléon., chat : A. Infiltration lymphomateuse de la muqueuse (lymphome T) (hémalun - éosine, X100) ; B. Aspect cytologique d'une infiltration lymphocytaire à petites cellules de l'infiltration tumorale précédente (hémalun - éosine, X400) ; C. Expression de l'épitope CD3ε par la population tumorale, avec un contingent de cellules en voie d'exocytose (épitéliotropisme), anticorps monoclonal anti-CD3ε, immunopéroxydase, X400 ; D. Expression de l'épitope Ki-67 par la population tumorale, anticorps MIB-1, immunopéroxydase, X100.

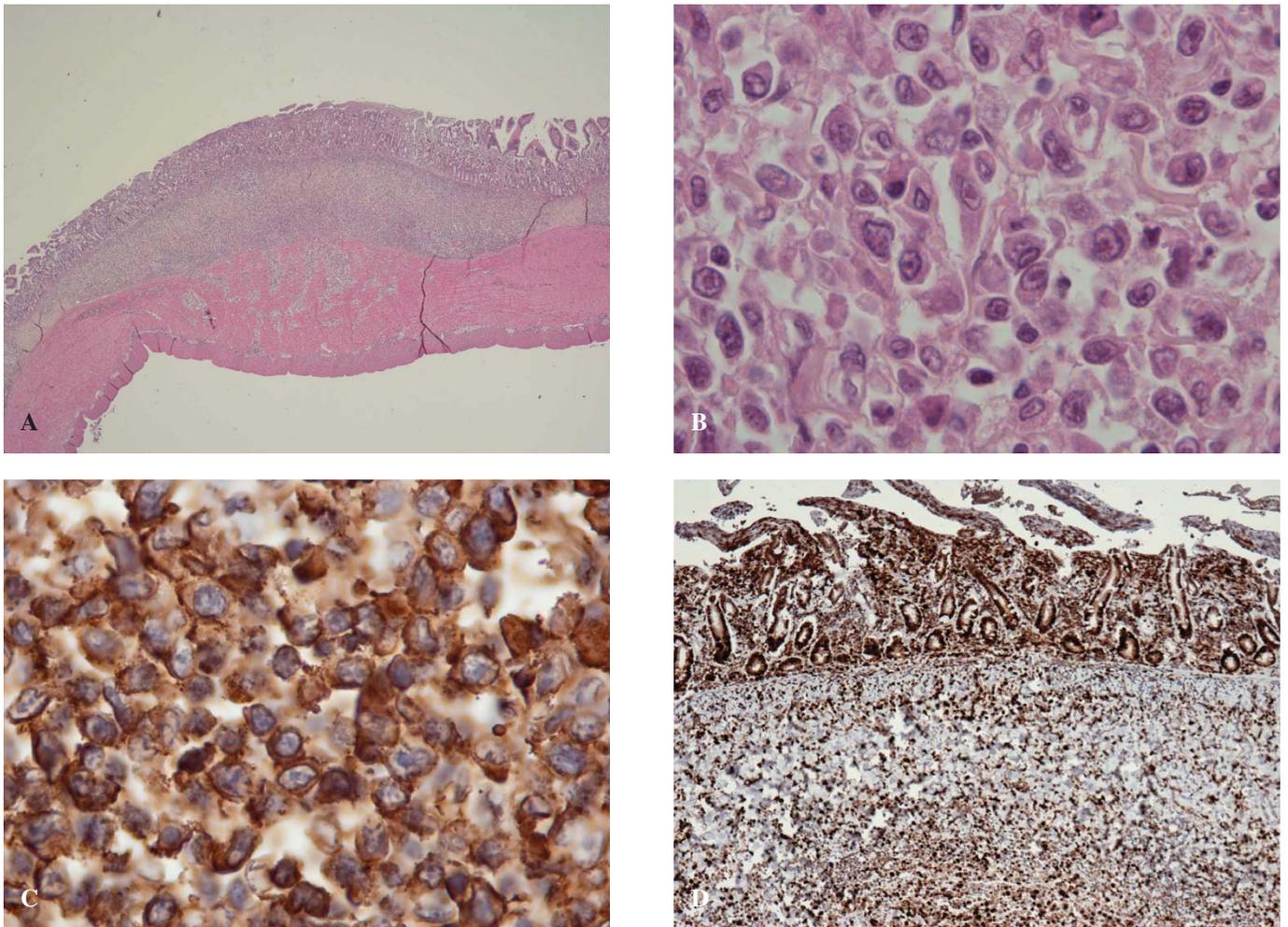


FIGURE 2 : Iléon, chat : **A.** Infiltration lymphomateuse de la muqueuse, de la sous-muqueuse et de la musculature (lymphome B) (hémalun - éosine, X20) ; **B.** Aspect cytologique des cellules blastiques de grande taille de l'infiltration tumorale précédente (hémalun - éosine, X1000) ; **C.** Expression de l'épitope signant la nature B de l'infiltration tumorale, anticorps BLA36, immunopéroxydase, X1000 ; **D.** Expression de l'épitope Ki-67 par la population tumorale, anticorps MIB-1, immunopéroxydase, X100.

d'anticorps opérationnels pour des prélèvements fixés par le formol et inclus en paraffine est généralement utilisé [9, 14] pour l'identification des sous-populations B et T-lymphocytaires et des cellules de filiation macrophagique / dendritique ainsi que pour l'évaluation de l'expression de l'épitope Ki-67. Le matériel biopsique représente un échantillonnage des lésions, soumis à des aléas tenant aussi bien à la variabilité de leur distribution qu'aux techniques de prélèvement. De plus, l'examen immunohistochimique est un examen microscopique qui intervient dans un second temps, après un examen histopathologique. L'interprétation globale des marquages doit tenir compte des données cliniques et morphologiques disponibles. Pour toutes ces raisons, dans bon nombre de situations, l'immunohistochimie fournit des éléments d'orientation diagnostique qui doivent être confrontés à la réalité de l'expression clinique. Ce n'est malheureusement pas toujours, pour ce type de prélèvements, un examen de certitude. L'importance des caractéristiques morphologiques des lésions identifiées à l'examen histopathologique conventionnel (topographie de l'infiltration lymphocytaire, degré de préservation des différentes structures tissulaires, caractéristiques cytologiques...) ne doit surtout pas être négligée par rapport à celle de l'immunohistochimie.

## IDENTIFICATION DE LA NATURE TUMORALE D'UNE INFILTRATION LYMPHOCYTAIRE

L'usage des marqueurs immunohistochimiques peut s'avérer complémentaire pour certains cas difficiles et, notamment, lorsque les biopsies révèlent la présence d'une prolifération lymphoïde à petites cellules, l'aspect morphologique seul n'étant souvent pas suffisant pour distinguer une lésion tumorale d'une hyperplasie pseudolymphomateuse [2, 9]. L'expansion monotypique d'une sous-population cellulaire donnée oriente vers l'hypothèse tumorale. Certains cas sont caricaturaux, tant l'ampleur du déséquilibre des sous-populations B et T-lymphocytaires dans la muqueuse ne laisse pas de doute sur la nature tumorale de l'infiltration. Dans d'autres situations, le déséquilibre est moins prononcé et le diagnostic différentiel devient beaucoup plus difficile d'autant qu'il n'existe pas de critères précis, quantitatifs ou autres, permettant de trancher avec certitude. La détermination de tels critères se heurte à de nombreux obstacles méthodologiques tenant notamment à la représentativité des échantillons biopsiques analysés et à celles des champs cellulaires analysés. Ce type d'examen microscopique doit être pratiqué

par des pathologistes très expérimentés, aguerris par une longue pratique des confrontations anatomo-cliniques avec les gastroentérologues.

L'expression de l'épitope Ki-67 est également à considérer dans le cadre d'un diagnostic différentiel entre lymphome et hyperplasie, certains auteurs signalant un très faible niveau d'expression pour la seconde catégorie de lésions [9]. Là encore, il n'y a pas de critère précis, de valeur « seuil », permettant de traiter simplement tous les cas de figure et notamment pour certains lymphomes T à petites cellules, de bas grade, certains animaux semblant passer par des phases transitoires, plus ou moins longues, d'un état intermédiaire, entre hyperplasie et lymphome [2]. Un développement d'outils diagnostiques de biologie moléculaire permettant de caractériser des réarrangements de gènes typiques de la malignité, aisément accessibles dans les conditions de la pratique vétérinaire courante, apporterait probablement une aide conséquente dans la résolution de tels problèmes, comme cela a été montré dans certaines études expérimentales [13].

## TYPAGE DES LYMPHOMES DIGESTIFS DU CHAT

En cancérologie, un typage précis des lésions tumorales constitue un facteur important de meilleure connaissance des modalités évolutives et donc, de définition d'un pronostic et d'une stratégie thérapeutique.

Par le passé, diverses études ont donné des résultats hétérogènes quant à l'immunophénotypage des lymphomes digestifs du chat [5, 6, 19]. Diverses explications ont été envisagées tenant à des biais de recrutement (par exemple, sélection d'animaux présentant une infection rétrovirale), à des problèmes méthodologiques (nombre et nature des anticorps primaires utilisés) ou encore à la localisation anatomique précise des lésions (peu d'études envisageaient séparément les lymphomes gastriques et ceux de l'intestin). Plus récemment, des études s'appuyant sur une méthodologie plus homogène ont produit une meilleure convergence de résultats [9, 14] :

- l'estomac présente une très forte prédominance de lymphomes B, à grandes cellules (souvent d'aspect immunoblastique),
- pour l'intestin grêle, la ventilation des cas pourrait reconnaître une dominante de lymphomes T (50 % des cas, environ) et une forte proportion de lymphomes B (35-40 % des cas), les autres phénotypes représentant des lymphomes n'exprimant ni marqueur B ni marqueur T, ou beaucoup plus rarement, quelques cas de lymphomes B riches en cellules T,
- dans le côlon, le phénotype B est très largement dominant.

Ces études posent des jalons pour une meilleure standardisation du typage des lymphomes gastro-intestinaux du chat. Aux dires mêmes de leurs auteurs, elles nécessitent d'être complétées par des études portant sur des effectifs de cas plus importants, avec une analyse de l'évolution clinique dans le temps. Ce type d'approche pourrait permettre une meilleure évaluation pronostique et une rationalisation de la stratégie thérapeutique. A titre d'exemple, une étude récente [10] a montré que la plupart des animaux présentant un lymphome lymphocytaire de bas grade (à 90 % T-lymphocytaire, dans cette étude) répondait à un traitement associant prednisone et chlorambucil. Les auteurs de cette étude insistent cependant

sur la nécessité de mener des études complémentaires pour mieux valider le diagnostic des lésions tumorales et, en particulier, leur différenciation d'avec un processus inflammatoire ou hyperplasique.

Une autre application de l'immunohistochimie au typage des lymphomes digestifs du chat concerne le cas des lymphomes à grands lymphocytes granuleux (LGL pour « Large Granular Lymphocytes ») comme cela a été démontré dans une étude récente [16]. Il semble que dans l'espèce féline, le désordre prolifératif le plus fréquent concernant la population des LGL soit représenté par un lymphome intestinal agressif, avec ou non un profil leucémique. Une forte majorité de cas reconnaîtrait comme origine la population des lymphocytes intra-épithéliaux, avec un phénotype cytotoxique CD3ε<sup>+</sup>, CD8αα<sup>+</sup>. Le second marqueur, à la différence du premier, n'est pas aisément disponible (spécifique du chat, il est produit par le laboratoire de l'équipe qui a réalisé ces travaux) et il nécessite le recours à des coupes à congélation, la fixation par le formol dénaturant les sites antigéniques. Compte-tenu de la grande difficulté que pose la reconnaissance des LGL sur des coupes histologiques de routine, lors de suspicion clinique de lymphome à grands lymphocytes granuleux (et, notamment, lors de lymphocytose à LGL), on ne peut que recommander, pour un diagnostic précis, l'usage d'un examen cytologique, à la fois sur les lésions intestinales et le sang périphérique, pour la reconnaissance de ce type cellulaire. L'expression immunohistochimique du CD3 sur les échantillons biopsiques qui ont servi à l'examen histologique confirme l'origine intra-épithéliale des LGL. En cas d'absence d'expression du CD3, il est alors possible d'envisager l'éventualité, apparemment rare, d'une origine à partir de LGL de type NK (Natural Killer).

En bilan, les immunomarquages actuellement réalisables de façon simple dans les conditions de la pratique courante permettent une approche diagnostique relativement satisfaisante des principales formes de lymphomes digestifs chez le chat. Cependant, ils présentent un certain nombre de limites.

## LIMITES DE L'EXAMEN IMMUNOHISTOCHEMIE

Un certain nombre de restrictions doivent être considérées quant aux apports de l'immunohistochimie, tenant aux prélèvements soumis à l'analyse et aux limites de la méthode elle-même.

Les prélèvements sont constitués par un matériel biopsique qui ne fournit qu'un échantillonnage des lésions dont la représentativité doit toujours, par précaution, faire l'objet d'une analyse critique. Il serait sans doute souhaitable qu'un consensus se dégage dans la communauté des gastroentérologues vétérinaires pour standardiser la méthodologie d'investigation de ce type de lésions, notamment pour les infiltrations diffuses qui ne se traduisent pas par la présence d'une masse aisément identifiable.

Les techniques de prélèvements elles-mêmes nourrissent un questionnement quant aux choix de la méthode la plus adaptée. Les biopsies sont obtenues par endoscopie, laparoscopie ou laparotomie. Pour le laboratoire d'histologie, les prélèvements

se présentent sous la forme de biopsies endoscopiques ou transpariétales. Certains auteurs [4] considèrent que la réalisation de biopsies transpariétales est nécessaire au diagnostic de lymphome intestinal car les sites lésionnels les plus fréquents sont le jéjunum et l'iléon, non accessibles à l'endoscopie chez la plupart des chats. Ce point semble devoir être nuancé car :

- de nombreuses formes lésionnelles se traduisent dans l'intestin par une infiltration diffuse, difficile à différencier d'un processus hyperplasique, qui est bien mise en évidence sur des biopsies endoscopiques de bonne qualité comprenant du chorion interglandulaire,
- les biopsies chirurgicales, dans un nombre non négligeable de cas, ne sont pas adéquates car elles ne concernent qu'une portion trop étroite de la muqueuse,
- beaucoup de lésions de la muqueuse ne sont pas identifiables depuis la face séreuse.

Enfin, l'interprétation des marquages immunohistochimiques, indépendamment des problèmes liés à la représentativité des prélèvements et à leur qualité, est limitée par le nombre relativement important de cas présentant un profil ambigu d'une infiltration où une sous-population cellulaire montre une expansion, sans que suffisamment de critères soient réunis pour conclure avec certitude à une tumeur. Il est indéniable que des études cliniques prospectives visant à identifier des critères diagnostiques plus précisément définis doivent être conduites dans le futur dans le but d'améliorer sensiblement la qualité du diagnostic microscopique.

## Conclusion

Les lymphomes digestifs constituent des tumeurs fréquentes dans l'espèce féline. Le recours aux biopsies est un examen de choix pour l'établissement du diagnostic, la pertinence des informations obtenues par l'examen anatomopathologique étant étroitement conditionnée par la qualité des prélèvements (représentativité des échantillons, portions prélevées de la muqueuse...). L'examen histopathologique de routine permettra souvent le diagnostic de lymphome, mais dans un nombre non négligeable de cas, il ne sera pas à même de différencier un processus inflammatoire chronique et une prolifération tumorale à petites cellules. Ce cas de figure constitue une première indication du recours à l'immunohistochimie qui accroît sensiblement les possibilités d'identification de la ou des sous-populations cellulaires concernées ainsi que celles d'évaluation de l'activité de prolifération des cellules. L'autre indication est représentée par une identification plus précise des principaux phénotypes tumoraux en vue d'une meilleure approche pronostique et thérapeutique, plus adaptée à chaque cas.

Dans l'état actuel de développement des techniques et des outils disponibles, l'immunohistochimie constitue déjà un apport au diagnostic en fournissant un surcroît de précision important par rapport à l'examen histopathologique de routine. Cet apport doit pouvoir s'améliorer encore à l'avenir, avec le développement de l'usage de nouveaux marqueurs et avec des études cliniques prospectives permettant l'identification de critères diagnostiques étroitement corrélés à l'évolution clinique ou à la sensibilité thérapeutique.

## Remerciements

Les auteurs adressent leurs sincères remerciements à M. Benoît Séverac, Professeur d'Anglais à l'ENVT, pour les corrections apportées au résumé en anglais.

## Bibliographie

1. - BROUSSE N. : Tissus lymphoïdes normaux. *In* : SOLAL-CELIGNY P., BROUSSE N., FERME C., GISSELBRECHT C., REYES F., COIFFIER B. : Lymphomes : lymphomes non hodgkiniens, maladie de Hodgkin, Frison-Roche (ed), 3<sup>ème</sup> édition, Paris 1997, pp.: 126-143.
2. - BROWN C.C., BAKER D.C., BARKER I.K.: Neoplastic and proliferative lesions of the stomach and intestine: malignant lymphomas. *In*: M. Grant Maxie (ed). Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals, 5th edition, Elsevier Saunders, Philadelphia, 2007, chap. 1, pp.: 124-126.
3. - DARBÈS J., MAJZOUB M., HERMANN W.: Evaluation of the cross-reactivity between human and feline or canine leukocyte antigens using commercially available antibodies. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1997, **9**, 94-97.
4. - EVANS S.E., BONCZYNSKI J.J., BROUSSARD J.D., HAN E., BAER K.E.: Comparison of endoscopic and full-thickness biopsy specimens for diagnosis of inflammatory bowel disease and alimentary tract lymphoma in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2006, **229**, 1447-1450.
5. - GABOR L.J., CANFIELD P.J., MALIK R.: Immunophenotypic and histological characterisation of 109 cases of feline lymphosarcoma. *Aust. Vet. J.*, 1999, **77**, 436-441.
6. - JACKSON M.L., WOOD S.L., MISRA V., HAINES D.M.: Immunohistochemical identification of B and T lymphocytes in formalin-fixed, paraffin-embedded feline lymphosarcomas: relation to feline leukemia virus status, tumor site, and patient age. *Can. J. Vet. Res.*, 1996, **60**, 199-204.
7. - JOLING P., BROEKHUIZEN R., DE WEGER R.A., ROTTIER P.J.M., EGBERINK H.: Immunohistochemical demonstration of cellular antigens of the cat defined by anti-human antibodies. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1996, **53**, 115-127.
8. - JONES M., CORDELL J.L., BEYERS A.D., TSE A.G.D., MASON D.Y.: Detection of T and B cells in many animal species using cross-reactive anti-peptide antibodies. *J. Immunol.*, 1993, **150**, 5429-5435.
9. - KERBORIOU F.: Les lymphomes malins digestifs félines: étude histologique et immunohistochimiques de 35 cas – application au diagnostic différentiel de l'entérite lymphoplasmocytaire. Thèse de doctorat vétérinaire, Lyon, 2002.
10. - Kiselow M.A., Rassnick K.M., Mc Donough S.P., Golstein R.E., Simpson K.W., Weinkle T.K., Erb H.N.: Outcome of cats with low-grade lymphocytic lymphoma: 41 cases (1995-2005). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2008, **232**, 405-410.
11. - LAPRIE C., ABADIE J., AMARDEILH M., RAYMOND I., DELVERDIER M.: Detection of the Ki-67 proliferation associated nuclear epitope in normal canine tissues by the use of the monoclonal antibody MIB-1. *Anat. Histol. Embryol.*, 1998, **27**, 251-256.
12. - MC LEAN C., LANDSVERK T.: IMMUNE SYSTEM. *In*: EURELL J.A., FRAPPIER B. (ED) : *Dellmann's Textbook of Veterinary Histology*, sixth edition, Blackwell Publishing, Ames, Iowa, 2006, pp.: 134-152.
13. - MOORE P.F., WOO J.C., VERNAU W., KOSTEN S., GRAHAM P.S.: Characterization of feline T cell receptor gamma (TCRG) variable region genes for the molecular diagnosis of feline intestinal T cell lymphoma. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2005, **106**, 167-178.
14. - POHLMAN L., HIGGINBOTHAM M.L., WELLES E., JOHNSON C.: Immunophenotypic and histologic classification of 50 case of feline gastrointestinal lymphoma. *Vet. Pathol.*, 2009, **46**, 259-268.
15. - RAMOS-VARA J.A.: Technical aspects of immunohistochemistry. *Vet. Pathol.*, 2005, **42**, 405-426.

16. - ROCCABIANCA P., VERNAU W., CANIATTI M., MOORE P.F.: Feline large granular lymphocyte (LGL) lymphoma with secondary leukemia: primary intestinal origin with predominance of a CD3/CD8 (alpha)(alpha) phenotype. *Vet. Pathol.*, 2006, **43**, 15-28.
17. - SAMUELSON D.A.: Immune System. *In: Textbook of Veterinary Histology*, Saunders Elsevier, St-Louis, Missouri, 2007, pp.: 268-270.
18. - WILLETT B.J., CALLANAN J.J.: The expression of leukocyte differentiation antigens in the feline immune system. *In: Willet B.J. and Jarret O. (eds). Feline Immunology and Immunodeficiency*, Ed. Oxford University press, New York, 1995, chap. 1, pp.: 3-15.
19. - ZWAHLEN C.H., LUCROY M.D., KRAEGEL S.A., MADEWELL B.R.: Results of chemotherapy for cats with alimentary malignant lymphoma: 21 cases (1993-1997). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1998, **213**, 1144-1149.