

## **Apport de la cytologie au diagnostic, au pronostic et au suivi thérapeutique du mastocytome chez le Chien**

par J.-J. LEGRAND\*, B. CARLIER\* et A.-L. PARODI\*\*

---

Les auteurs décrivent leur expérience de l'examen cytologique du produit d'aspiration par aiguille fine de dix-sept mastocytomes du Chien. L'utilisation de la coloration de May-Grünwald-Giemsa rapide (Diff-Quick) a toujours permis d'identifier les mastocytomes et de les distinguer des autres tumeurs cutanées. La coloration de PAPANICOLAOU a permis de classer ces tumeurs en trois grades, identiques à ceux définis par PATNAÏK par examen histologique. Dans deux cas, les examens cytologiques ont permis d'objectiver la réponse thérapeutique au traitement par la L-Asparaginase.

*Mots clés* : Mastocytome du chien - Cytologie - Diagnostic - Grades - Thérapeutique - Techniques de coloration.

### USE AND IMPORTANCE OF CYTOLOGICAL EXAMINATION IN THE DIAGNOSIS, THE PROGNOSIS AND THE THERAPEUTIC EVALUATION OF THE MASTOCYTOMA IN THE DOG

Cytological analysis of seventeen canine mastocytoma after aspiration by a fine needle was performed.

The use of the quick May-Grunwald-Giemsa coloration (Diff-Quick) has always allowed the distinction of the mastocytoma from others skin tumors.

The PAPANICOLAOU coloration, allowed to classify those tumors in three grades which are similar to those defined by PATNAÏK by histological examination.

In two cases, cytological examination indicated that it was possible to objectify the therapeutical answer to the treatment by the L-Asparaginase.

*Key words* : Mastocytoma - Cytology - Diagnosis - Grades - Therapeutic - Coloration technics.

---

\* Docteurs vétérinaires, Clinique Vétérinaire de l'Ancienne Mairie, 165, rue Pierre-Brossolette, 93160 Noisy-le-Grand.

\*\* Professeur, Service d'Histologie et d'Anatomie Pathologique, Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort, 94 Maisons-Alfort.

Les mastocytomes représentent chez le Chien, suivant les études, 8 à 21 % des tumeurs cutanées, et 12 à 27 % des tumeurs malignes de la peau [2, 3, 8, 9, 12, 15]. 50 % des tumeurs se localisent préférentiellement sur le tronc et sur la région périnéale, 40 % sur les membres, et 10 % sur la tête et le cou [2, 16]. 11 % des cas sont multicentriques [1, 6, 7, 9]. Elles apparaissent le plus souvent sous la forme d'une masse dure ulcérée, inflammatoire, mais peuvent plus rarement avoir une consistance molle.

Le mastocytome peut se comporter comme une tumeur bénigne ou être très agressif, récidivant après exérèse et métastasant par voie lymphatique et sanguine. Il est très important de pouvoir évaluer le comportement biologique d'une tumeur donnée afin d'adapter la thérapeutique. Pour cela, on ne disposait jusqu'à présent que de données cliniques et en particulier de la vitesse de croissance de la tumeur et de l'aspect histologique. La classification en trois grades histologiques définie récemment par PATNAIK [10] est à ce sujet particulièrement intéressante puisqu'elle permet de distinguer trois catégories, le grade I étant associé avec un excellent pronostic et le grade III étant caractérisé par un comportement très agressif. La morphologie des noyaux des mastocytes néoplasiques étant le critère principal retenu pour classer les tumeurs dans ces catégories, il nous a semblé intéressant de vérifier si un examen cytologique du matériel obtenu par cyto-ponction à l'aiguille fine était suffisant pour les différencier. Ceci permettrait d'obtenir des renseignements précieux sur le pronostic avant une éventuelle intervention chirurgicale.

En dehors de l'ablation chirurgicale, peu de thérapeutiques sont efficaces dans le traitement du mastocytome du Chien. Néanmoins, il peut être intéressant de provoquer une diminution de la taille de la tumeur avant de l'opérer. La L-Asparaginase s'est montrée efficace dans certains cas pour cet usage, néanmoins il est nécessaire d'effectuer une dizaine d'injections journalières avant de constater son efficacité par les critères cliniques [5]. Compte tenu du coût de ce médicament, nous avons recherché s'il existait des signes cytologiques de l'efficacité du traitement décelables avant les signes cliniques.

## I. MATERIEL ET METHODES

Les ponctions sont réalisées à l'aide d'une aiguille de 0,8 mm de diamètre extérieur montée sur une seringue de 5 ml. Toutes les masses cutanées examinées au cours de notre consultation, quels que soient leur aspect clinique et leur localisation, sont soumises à cette cytoponction afin d'en établir la nature.

L'étalement s'effectue par écrasement entre deux lames de verre, qui sont ensuite séchées à l'air, fixées au méthanol, puis colorées par la méthode du May-Grünwald-Giemsa rapide. Deux autres lames sont pré-

fixées avant séchage à l'aide d'une laque fixante (Cytofix N.D.) afin d'être colorées par la méthode de PAPANICOLAOU [17].

Après exérèse chirurgicale, les tumeurs sont soumises à un examen histologique afin de vérifier le diagnostic ainsi que l'absence de cellules néoplasiques aux marges de l'incision. Les mastocytomes sont alors gradés suivant la méthode de PATNAIK [10].

En un an, nous avons procédé à l'étude cytologique de dix-sept cas de mastocytomes selon ce protocole. Dans tous les cas, un examen histologique ultérieur a confirmé le diagnostic cytologique.

Deux chiens ont été traités pendant dix jours consécutifs par la L-Asparaginase avant d'être opérés. Dans les deux cas, nous avons mesuré chaque jour le diamètre de la tumeur et effectué une cytoponction afin de comparer l'évolution des signes cliniques et des signes cytologiques d'efficacité du traitement.

## II. RESULTATS

La technique de coloration des frottis influe beaucoup sur l'aspect cytologique des mastocytes néoplasiques. Ainsi, le May-Grünwald-Giemsa colore intensément leurs granules cytoplasmiques, ce qui gêne l'observation de la morphologie nucléaire. En revanche, les colorants de la technique de PAPANICOLAOU ont très peu d'affinité pour ces granules et le cytoplasme reste transparent, ce qui permet une observation des détails morphologiques des noyaux, finement colorés par l'hématéine. Nous décrivons donc séparément nos observations selon la technique de coloration utilisée.

Après coloration par le May-Grünwald-Giemsa, les mastocytes apparaissent comme de grandes cellules rondes ou ovales, au cytoplasme abondant, aux limites nettes.

Dans le cytoplasme, on observe un nombre variable de granules de couleur bleue à pourpre. Ces granules peuvent être plus ou moins nombreux, d'une tumeur à l'autre et souvent d'une cellule à l'autre dans le même mastocytome. En règle générale, nous avons observé que les granules cytoplasmiques des mastocytes provenant de tumeurs de grade I étaient nombreux, petits, et isomorphes, alors que ceux des mastocytes provenant de tumeurs des grades II et III étaient en nombre variable, nombreux dans certaines cellules et rares dans d'autres, et variaient en taille et en forme, certains étant petits et ronds, d'autres très gros et irréguliers. Néanmoins, ces variations sont inconstantes et insuffisantes pour permettre de distinguer les tumeurs des différents grades.

Les noyaux apparaissent ronds ou ovales, de taille variable, le plus souvent légèrement excentrés. Leur intensité tinctoriale est très variable d'une tumeur à l'autre et généralement ils restent mal visibles, masqués

par les granules cytoplasmiques. Les contours nucléaires sont réguliers et la chromatine apparaît grossièrement répartie. Bien que dans de rares cas nous ayons pu observer une hétérogénéité dans la morphologie nucléaire des mastocytes présents sur le frottis, dans la plupart des cas nous n'avons pas pu discerner de différences morphologiques entre les mastocytes de tumeurs appartenant aux différents grades. Nous avons observé des mastocytes plurinucléés sur plusieurs frottis obtenus à partir de tumeurs de tous grades histologiques.

Dans tous les cas, la coloration de May-Grünwald-Giemsa a permis une identification cytologique facile des mastocytes en mettant en évidence les granules cytoplasmiques particuliers à ces cellules.

A côté des mastocytes, on observe constamment sur les frottis des polynucléaires éosinophiles facilement reconnaissables à leur noyau pluri-lobé et à leurs granules cytoplasmiques acidophiles.

Quelques mélanocytes sont parfois observés parmi les mastocytes. Leur cytoplasme est abondant et contient de nombreux granules bruns ou noirs, leur noyau est ovale et nucléolé.

Après coloration par la méthode de PAPANICOLAOU, les mastocytes apparaissent comme des cellules rondes, au cytoplasme plus ou moins abondant finement granuleux.

Les granules cytoplasmiques restent indistincts, quel que soit le grade du mastocytome, leur présence n'étant décelable que par l'aspect finement granuleux du cytoplasme. Celui-ci est parfois faiblement coloré en orange mais le plus souvent incolore et sa transparence permet, dans tous les cas, une bonne observation de la morphologie du noyau.

Les noyaux sont finement colorés par l'hématéine qui met parfaitement en évidence les détails de leur membrane et de leur chromatine. La morphologie nucléaire apparaît identique à celle que l'on observe sur des préparations histologiques colorées par l'Hémalun-éosine. Nous avons ainsi pu retrouver les différences morphologiques observées en histologie, essentiellement sur l'aspect du noyau, entre les mastocytomes des différents grades :

— Les tumeurs de grade I sont constituées de mastocytes aux noyaux petits, ronds, à bords réguliers et à chromatine dense. Parfois, un ou deux petits nucléoles sont identifiables. Toutes les cellules sont identiques.

— Les tumeurs de grade II sont constituées de mastocytes de morphologie variable. Certaines cellules sont identiques à celles des tumeurs de grade I, mais on observe également un nombre variable de mastocytes au noyau plus volumineux, aux contours irréguliers, à chromatine moins dense, hétérogène, irrégulière, et contenant un ou plusieurs gros nucléoles.

**TABLEAU I**  
**Caractéristiques cytologiques des mastocytomes suivant leur grade**

Grade	May-Grünwald-Giemsa	Papanicolaou
I	<p>Petites cellules. Uniformité cellulaire.</p> <p>Nombreux granules cytoplasmiques de petite taille.</p> <p>Noyaux isomorphes et de taille uniforme.</p>	<p>Petites cellules isolées. Uniformité cellulaire.</p> <p>Noyaux petits, isomorphes, à chromatine régulière, dense, contenant parfois un ou deux petits nucléoles punctiformes.</p>
II	<p>Population cellulaire hétérogène.</p> <p>Granules cytoplasmiques plus ou moins nombreux et hétéromorphes.</p> <p>Polymorphie nucléaire difficilement perceptible.</p>	<p>Population cellulaire hétérogène.</p> <p>Coexistence de cellules au noyau à chromatine dense et d'autres au noyau à chromatine plus hétérogène, et contenant un gros nucléole de forme irrégulière.</p>
III	<p>Population cellulaire très hétérogène.</p> <p>Granules cytoplasmiques absents d'un nombre variable de mastocytes et de forme et de taille variables.</p> <p>Polymorphisme nucléaire important.</p>	<p>Population cellulaire très hétérogène.</p> <p>Hétérogénéité très importante dans la taille et la forme des noyaux. Noyaux le plus souvent de grande taille, à chromatine très irrégulière. Présence de nombreux noyaux vésiculaires.</p>

TABLEAU II

Classement par grades des dix-sept mastocytomes du Chien  
et durée de survie après exérèse ou traitement par la L-Asparaginase

Race	Age (ans)	Stade (1)	Grade		Survie	Remarques
			Histo	Cyto		
Teckel	9	III	III	III	2 m.	*Euthanasie
Croisé	13	I	II	II	6 m. +	
Epagneul breton	8	III	II	II	?	
Boxer	7	IV	III	III	2 m.	Mastocytose
Berger Pyrénées	13	IV	III	III	6 m.	*Nécrose tum.
Boxer	6	I	I	I	1 a. +	
Caniche	12	I	III	III	4 m.	Récidive
Boxer	9	III	III	III	2 m.	
Boxer	4	I	I	I	8 m. +	
Croisé	14	IV	III	III	15 j.	
Croisé	13	II	III	III	2 m. +	Récidive
Dogue alld	6	III	II	II	7 m. +	
Berger alld	9	I	III	III	1 m.	Métastases
Boxer	8	III	III	III	2 m. +	Métastases
Croisé	14	I	II	II	8 m. +	Récidive
Scottisch terrier	12	III	III	III	2 m. +	Nécrose tum.
Caniche	8	II	II	II	6 m.	Nécrose tum.

(1) Stade : stades cliniques O.M.S.

+ : toujours vivant au dernier examen.

\* : traité par la L-Asparaginase.

— Enfin, les tumeurs de grade III sont constituées par des mastocytes au noyau très volumineux aux contours irréguliers et au contenu vacuolaire, associés à un petit nombre de cellules des deux types précédents.

La classification cytologique doit se faire après examen d'un grand nombre de cellules, afin de tenir compte de l'homogénéité des tumeurs de grade I et de l'hétérogénéité des tumeurs de grades II et III.

Les caractéristiques des mastocytomes de chaque grade sont rassemblées dans le tableau I. Le tableau II résume la répartition des différentes tumeurs que nous avons examinées dans les trois grades définis par ПАТНАİK. La prédominance des mastocytomes de grade III provient du mode de recrutement d'une partie de l'effectif correspondant à des cas référés.

Le respect des règles techniques de réalisation des frottis, et en particulier leur fixation par une laque, est essentiel pour obtenir une coloration uniforme et reproductible des noyaux. Lorsque les frottis ont séché à l'air entre le moment de leur étalement et celui de leur fixation par la laque, on observe plusieurs modifications morphologiques et tinctoriales, essentiellement nucléaires, par rapport aux frottis provenant de la même tumeur et correctement préparés.

Au cours du traitement de deux mastocytomes par la L-Asparaginase, nous avons observé une diminution de la taille des cellules aux dépens du cytoplasme, avec une raréfaction ou même une disparition des granules. Ces modifications morphologiques du cytoplasme ont commencé à apparaître sur les frottis dans certaines cellules cinq jours après le début du traitement, puis le nombre de cellules dépourvues de granules cytoplasmiques a rapidement augmenté. Ces signes cytologiques ont précédé d'environ cinq jours la diminution de la taille des tumeurs qui n'a été cliniquement perceptible que dix jours après le début du traitement.

## DISCUSSION

La coloration de May-Grünwald-Giemsa rapide s'est montrée tout à fait adéquate pour l'identification des mastocytes dont les granulations cytoplasmiques sont toujours apparues parfaitement. Sur les frottis des mastocytomes de grade III, on note cependant une grande variabilité cellulaire dans le nombre et la taille des granules, certaines cellules pouvant n'en contenir aucun. La présence de polynucléaires éosinophiles sur le frottis peut aider dans une certaine mesure à diagnostiquer les mastocytomes très anaplasiques. La présence sur un frottis de quelques polynucléaires éosinophiles associés à un grand nombre de cellules rondes au cytoplasme abondant contenant parfois quelques granules basophiles et aux noyaux ronds très polymorphes doit faire fortement suspecter un mastocytome. En revanche, l'association d'un petit nombre de mastocytes bien différenciés au cytoplasme rempli de petits granules à un grand nombre de lymphocytes, de macrophages et de polynucléaires neutrophiles et éosinophiles est en faveur d'un processus inflammatoire [4]. Cette fiabilité du diagnostic cytologique du mastocytome sur des frottis d'aspiration a déjà été signalée par plusieurs auteurs. Ainsi, DUNCAN [4], dans une étude rétrospective de 64 tumeurs à cellules rondes, rapporte que, dans 60 cas, les diagnostics cytologiques et histologiques étaient concordants.

Bien que, selon certains auteurs, la visualisation des mastocytes, lorsqu'ils sont peu abondants, puisse être facilitée en colorant le frottis par la méthode de ZIEHL-NIELSEN utilisée en bactériologie [14], les granules alcool-acido-résistants apparaissant alors en rouge, nous pensons personnellement que cette technique est peu applicable en routine par le vétérinaire praticien au cours de la consultation, ce qui en limite l'inté-

rêt. Il reste à évaluer l'intérêt de cette coloration dans la recherche des mastocytes circulant dans le sang ou sur les frottis de moelle osseuse.

Les conditions techniques de réalisation et de coloration des frottis influent beaucoup sur la morphologie cyto-nucléaire des mastocytes néoplasiques. La coloration par le May-Grünwald-Giemsa rapide présente les avantages de pouvoir être effectuée rapidement et facilement et d'être très fiable pour le diagnostic du mastocytome [4, 11, 13]. En revanche, elle est très mal adaptée à l'observation de la morphologie des noyaux. La présence de nombreuses granulations cytoplasmiques fortement colorées par le May-Grünwald-Giemsa rend souvent leur observation très difficile. Par ailleurs, les colorants se fixent fortement sur les protéines nucléaires, provoquent une distension des noyaux, dont les contours apparaissent plus réguliers et dont les détails de la chromatine sont obscurcis [17].

Comme cela a été constaté pour d'autres cellules néoplasiques, la coloration par la technique de PAPANICOLAOU, après fixation du frottis encore humide, est la plus adéquate pour observer la morphologie nucléaire. L'aspect morphologique des noyaux est alors identique à celui observé en histologie et, comme le confirme l'examen du tableau II, cette coloration s'avère parfaitement indiquée pour l'établissement de la classification en grades cytologiques. La cytologie s'avère même plus précise que l'histologie pour juger de la morphologie nucléaire. Ainsi, avec la coloration de PAPANICOLAOU, un ou deux nucléoles sont visibles dans certains mastocytes de tumeurs appartenant au grade I, mais ils sont de petite taille et la chromatine des noyaux est bien régulière. Nous avons par ailleurs observé des cellules binucléées sur des frottis de mastocytomes de tous grades et nous pensons que ce critère n'est pas utilisable en cytologie.

Lors d'un essai clinique de phase I, la L-Asparaginase s'est montrée active sur la moitié des mastocytomes traités. L'efficacité clinique se traduisant par une diminution de la taille de la tumeur dix jours après le début de la chimiothérapie [5].

La disparition des granulations cytoplasmiques que nous avons constatée dans nos deux observations, cinq à six jours après le début du traitement, pourrait s'expliquer par la perte de l'aptitude des mastocytes à synthétiser de la L-Asparagine et partant les protéines. L'administration de la L-Asparaginase inhiberait finalement la synthèse de l'histamine, de l'héparine et des autres acides aminés contenus dans les granules cytoplasmiques. Dans les deux observations, les modifications cytomorphologiques ont été suivies d'une diminution de la taille de la tumeur. Ces résultats préliminaires permettent d'espérer un témoin précoce de l'efficacité du traitement du mastocytome par la L-Asparaginase mais restent à confirmer, en particulier sur des tumeurs insensibles au traitement.

## CONCLUSION

L'examen cytologique du produit d'aspiration par aiguille fine des masses cutanées permet de diagnostiquer facilement les mastocytomes du Chien, de classer ces tumeurs selon le système de PATNAÏK, et dans deux cas d'objectiver la réponse thérapeutique au traitement de la L-Asparaginase.

Si la coloration de May-Grünwald-Giemsa rapide est parfaitement adaptée au diagnostic rapide de ces tumeurs, il est essentiel d'utiliser la technique de coloration de PAPANICOLAOU, qui seule permet de les grader.

La cytologie permet donc d'appréhender le comportement biologique des mastocytomes dès l'étape diagnostique sans avoir recours à une exé-rèse exploratoire. La combinaison des données cliniques et cytologiques permet dès lors au vétérinaire de proposer à son client un choix thérapeutique.

Lors de l'utilisation de la L-Asparaginase, l'examen cytologique permet également d'objectiver la réponse thérapeutique avant l'examen clinique, et ainsi de réduire le coût de ce traitement au minimum en cas d'échec.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] BRODEY (R.S.). — Canine and feline neoplasia. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.*, 1970, 14, 309-354.
- [2] COHEN (D.), REIF (S.S.), BRODEY (R.S.). — Epidemiological analysis of the most prevalent sites and types of canine neoplasia observed in a veterinary hospital. *Cancer Res.*, 1974, 34, 2859-2868.
- [3] DORN (E.R.), TAYLOR (D.), SCHNEIDER (R.). — Survey of animal neoplasms in Alameda and Contra Costa Countries, California. II. Cancer morbidity in dogs and cats from Alameda Country. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1968, 40, 307-318.
- [4] DUNCAN (J.R.) and PRASSE (K.W.). — Cytology of cutaneous round cell tumors. *Vet. Pathol.*, 1979, 16, 673-679.
- [5] HARDY (W.) and OLD (L.J.). — L-Asparaginase in the treatment of neoplastic diseases of the dog, cat and cow, in : GRUNDMANN (E.) and OETTGEN (H.F.) edit. : *Experimental and clinical effects of L-Asparaginase*. New York, Springer Verlag, 1970, pp. 131-136.
- [6] HESS (P.). — Canine mast cell tumors. *Vet. Clin. North Am.*, 1977, 42, 133-143.
- [7] HOTTENDORF (G.H.) and NIELSEN (S.W.). — Pathologic report of 29 necropsies on dogs with mastocytoma. *J. Pathol. Vet.*, 1968, 5, 102-121.
- [8] LARSSON (B.). — Some aspects of canine mastocytoma. *Nord. Vet. Med.*, 1957, 9, 241-256.
- [9] ORKIN (M.) and SCHWARTZMAN (R.M.). — A comparative study of canine and human dermatology. Cutaneous tumors : The mast cell and human mastocytoma. *J. Comp. Dermatol.*, 1959, 32, 451-466.
- [10] PATNAÏK (A.K.), EHLER (W.N.) and Mac EWEN (E.G.). — Canine cutaneous mast cell tumor : Morphologic grading and survival time in 83 dogs. *Vet. Pathol.*, 1984, 21, 469-474.

- 
- [11] PERMAN (V.), ALASKEN (R.C.) and RISS (R.C.). — *Cytology of the Dog and Cat*. South Bend Indiana, A.A.H.A., 1978, pp. 13-16.
- [12] PRIESTER (W.A.). — Skin tumors in domestic animals. Data from 12 United States and Canadian colleges of veterinary medicine. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1973, 50, 457-466.
- [13] REBER (A.H.). — The pathologic cytology of solid masses and internal organs. I. *Handbook of veterinary cytology*, St. Louis, Missouri, Ralston Purina Company, 1978, pp. 37-50.
- [14] REST (J.R.) and LEE (R.L.). — Staining of mast cell granules by the Ziehl Neelsen method and differential diagnosis of malignant dermal tumors in the dog. *Vet. Rec.*, 1979, 104, 79.
- [15] STANNARD (A.A.) and PULLEY (L.T.). — Tumors of the skin and soft tissues, in: MOULTON (J.E.): *Tumors in domestic animals*, Berkeley, University of California Press, 1978, pp. 16-74.
- [16] STOCKHAM (S.L.), BASEL (D.L.) and SCHMIDT (D.A.). — Idiopathic mastocytosis in dogs. *Vet. Clin. Pathol.*, 1983, 13, 33.
- [17] TAKAHASHI (M.). — *Atlas en couleur de cytologie du cancer*, 1983, Vigot, Paris.
-