

TABLE DES MATIERES

TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	13
LISTE DES ABREVIATIONS.....	15
INTRODUCTION	17

PARTIE 1 Etude Bibliographique : Les facteurs pronostiques du mastocytome cutané canin

I. Les facteurs pronostiques cliniques 21

1) Age.....	21
2) Sexe.....	21
3) Race	23
4) Taille de la tumeur	23
5) Vitesse de croissance et temps de présence	24
6) Localisation de la tumeur	25
7) Stade clinique	27
Statut des marges d'exérèse	28
Présence de métastases	29
Récidives.....	30
Formes multicentriques.....	31
8) Durée de rémission et délai seuil	31
9) Concentration plasmatique en histamine.....	32
10) Présence de signes systémiques	32

II. Le grade histologique 35

1) Le grading d'Hottendorf	35
2) Le grading de Bostock	35
3) Le grading de Patnaik.....	37
4) Les limites du grade histologique	39

5) Valeur pronostique des différents critères histologiques	40
III. Les Nouvelles méthodes d'évaluation de la malignité des mastocytomes.	43
1) Les marqueurs de la prolifération cellulaire.....	43
AgNOR	44
PCNA	48
Ki-67	51
Les combinaisons des différents index	53
2) Les marqueurs de l'apoptose.....	54
3) La protéine p53	54
4) La polyploïdie.....	55
5) Tryptases	56
6) Le c-KIT	56
7) La densité tumorale en micro vaisseaux	61

PARTIE 2 Etude rétrospective : Bilan d'extension et pronostic des chiens atteints de mastocytomes cutanés canins

I. Matériel et méthodes	65
II. Résultats	67
1) Analyse épidémiologique : Age, sexe et race des chiens atteints	67
2) Localisation des mastocytomes.....	68
3) Analyse histologique	69
Attribution d'un grade	69
Index Ki-67	69
Marges d'exérèses	70
4) Traitement.....	70
5) Résultats du bilan d'extension.....	71
Mastocytomes multicentriques.....	71
Nœuds lymphatiques loco-régionaux	71
Echographie abdominale.....	72
Examen du buffy-coat.....	72
Cytoponction de foie et/ou de rate.....	72
Examen du myélogramme.....	73
6) Suivi.....	73
Récidives.....	73
Métastases	73
Décès.....	73
7) Facteurs pronostiques d'un bilan d'extension positif.....	74
8) Facteurs pronostiques du mastocytome	79
Bilan d'extension et pronostic.....	79
Autres facteurs pronostiques	79
III. Discussion	83
CONCLUSION.....	87
BIBLIOGRAPHIE.....	89

ANNEXES.....99

Annexe 1 : Fiche de suivi d'un animal.....101

Annexe 2 : Questionnaire de suivi.....103

Annexe 3 : Données de l'étude.....14

TABLE DES ILLUSTRATIONS

PARTIE 1

<u>Tableau 1</u>	Degré de différenciation des mastocytomes selon la race des chiens affectés.
<u>Tableau 2</u>	Les stades de mastocytome. Classification d'après l'OMS.
<u>Tableau 3</u>	Les stades de mastocytome. Classification d'après l'OMS, modifiée et simplifiée par Magnol <i>et al.</i> (58).
<u>Tableau 4</u>	Grading des mastocytomes d'après Bostock (12).
<u>Tableau 5</u>	Histopronostic des mastocytomes, d'après Bostock (12).
<u>Tableau 6</u>	Grading des mastocytomes et fréquence relative, d'après Patnaik (74).
<u>Tableau 7</u>	Taux de survie de chiens atteint de mastocytome et traités par chirurgie large selon le grade défini par Patnaik (74).
<u>Tableau 8</u>	Index AgNOR des mastocytomes récidivant et ne récidivant pas et métastasant et ne métastasant pas, établi sur 100 noyaux (AgNOR 100) et sur 200 noyaux (AgNOR 200), d'après Simoes <i>et al.</i> (91).
<u>Tableau 9</u>	Intervalle des valeurs AgNOR en fonction du grade histologique.
<u>Tableau 10</u>	Positivité en PCNA des mastocytomes selon les récidives et les métastases, établie sur 500 noyaux (PCNA 500), 1000 noyaux (PCNA 1000) ou sur 5 champs au grossissement 400 (PCNA 5HPF), d'après Simoes <i>et al.</i> (91).
<u>Tableau 11</u>	Positivité en PCNA (pour 1000 cellules) en fonction du grade histologique.
<u>Tableau 12</u>	Index Ki-67 (en pourcentage de noyaux positifs en Ki-67, établi par comptage sur 1000 noyaux) en fonction du grade histologique, d'après Abadie <i>et al.</i> (2).
<u>Tableau 13</u>	Index Ki-67 et Ag67 en fonction du grade histologique et des décès du à la tumeur, d'après Webster <i>et al.</i> (107)
<u>Tableau 14</u>	Probabilité de survie à un an selon le grade histologique et la valeur de l'index Ki-67, d'après Scase <i>et al.</i> (85)
<u>Tableau 15</u>	Prévalence des ITDs en fonction du grade histologique.
<u>Tableau 16</u>	Critères de catégorisation des tumeurs par immunomarquage de KIT, d'après Thinet (95).

PARTIE 2

<u>Fig. 1</u>	Age des chiens au diagnostic.
<u>Fig. 2</u>	Race des chiens.
<u>Fig. 3</u>	Localisation des mastocytomes.
<u>Fig. 4</u>	Grade histologique des mastocytomes.
<u>Fig. 5</u>	Statut des marges d'exérèses des mastocytomes.
<u>Fig. 6</u>	Part relative des différents traitements administrés.
<u>Fig. 7</u>	Traitement et grade histologique.
<u>Fig. 8</u>	Infiltration des nœuds lymphatiques loco-regionaux.
<u>Fig. 9</u>	Devenir des chiens de l'étude.
<u>Fig. 10</u>	Sexe des chiens et bilan d'extension.
<u>Fig. 11</u>	Race des chiens et bilan d'extension.
<u>Fig. 12</u>	Localisation du mastocytome et bilan d'extension.
<u>Fig. 13</u>	Forme multicentrique et bilan d'extension.
<u>Fig. 14</u>	Grade du mastocytome et bilan d'extension.
<u>Fig. 15</u>	Index Ki-67 et bilan d'extension.
<u>Fig. 16</u>	Marges d'exérèse et bilan d'extension.
<u>Fig. 17</u>	Traitement et bilan d'extension.
<u>Fig. 18</u>	Courbe survie de Kaplan Meier montrant la durée de survie en fonction du bilan d'extension.
<u>Fig. 19</u>	Courbe de récurrence en fonction du bilan d'extension.
<u>Fig. 20</u>	Forme multicentrique et pronostic.
<u>Fig. 21</u>	Marges d'exérèse et pronostic.
<u>Fig. 22</u>	Traitement et pronostic.

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AgNOR : Argyrophilic Nucleolar Organizing Region

CPH : Concentration Plasmatique en Histamine

ENVT : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

HPF : High Power Field

IM : Index Mitotique

IMVD : Intratumoral Micro Vessel Density

ITD : Internal Tandem Duplication

kDa : Kilodalton

M : Mitosis (phase du cycle cellulaire)

NOR : Nucleolar Organizing Region

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCNA : Proliferating Cell Nuclear Antigen

PCR : Polymerase Chain Reaction

RT-PCR : Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction

S : Synthesis (phase du cycle cellulaire)

INTRODUCTION

Le mastocytome est la tumeur cutanée la plus fréquente chez le chien : il représente 7% à 21% des tumeurs cutanées dans cette espèce (19, 36, 59) et jusqu'à 6% de toutes les tumeurs du chien (59).

Il s'agit d'une tumeur des mastocytes, cellules de l'inflammation produites dans la moelle osseuse. Elles sont présentes majoritairement au niveau des zones d'interface entre l'organisme et le milieu extérieur, notamment dans les tissus cutanés et sous cutanés, le parenchyme pulmonaire, le tube digestif et le foie.

La forme cutanée du mastocytome est beaucoup plus fréquente chez le chien que la forme viscérale primaire, qui elle est exceptionnelle.

Cliniquement, le mastocytome est une tumeur très polymorphe qui peut prendre de nombreux aspects : nodule dermique isolé, tumeur cutanée infiltrante ou empiètement œdémateux au niveau du périnée, du fourreau et du scrotum. Cette tumeur peut être présente sur toutes les parties du corps mais on admet classiquement la répartition suivante : 10% au niveau de la tête et du cou, 50% sur le corps et la région périnéale et 40% sur les membres. Elle est, de plus, plus fréquemment localisée sur la partie postérieure du corps. Jusqu'à 14% des chiens développent des formes cutanées multiples (17).

Le mastocytome affecte les chiens âgés en moyenne de 8,5 ans, sans prédisposition de sexe. Il existe cependant une prédisposition raciale marquée : celles les plus fréquemment touchées sont issues du croisement du bulldog et de l'English terrier (75) : Boxers (jusqu'à 80% des cas de mastocytome), Bull terriers et Boston terriers. Les races Setter anglais, Fox terrier, Labrador et Golden Retriever sont également citées comme étant fréquemment atteintes (9, 19, 34, 62).

Lors de la gestion d'un patient atteint de mastocytome cutané, un bilan d'extension de la maladie est indispensable et comprend en premier lieu une cytoponction à l'aiguille fine des nœuds lymphatiques loco-regionaux, qui doit être réalisée même s'il n'y a pas de modification macroscopique du nœud lymphatique (34, 51). On réalise ensuite une échographie abdominale, une cytoponction échoguidée de la rate et si possible du foie et un myélogramme, permettant ainsi d'explorer les différents sites de métastases du mastocytome.

Le mastocytome est une tumeur qui se comporte de façon extrêmement variable, pouvant aller d'une tumeur bénigne à une maladie systémique très agressive provoquant la mort de l'animal, sans qu'il soit possible cliniquement de prédire ce comportement. De nombreux facteurs, cliniques et histologiques, ont donc été étudiés pour permettre d'établir, avec le plus de précision possible, un pronostic vital pour l'animal.

Dans ce travail, nous envisagerons dans un premier temps les différents facteurs pronostiques du mastocytome cutané canin identifiés dans la bibliographie, puis nous étudierons, dans une étude rétrospective, l'influence des résultats du bilan d'extension sur le pronostic lors de mastocytome cutané chez le chien.

PARTIE 1 :
Etude Bibliographique

**Les facteurs pronostiques du
mastocytome cutané canin**

I. Les facteurs pronostiques cliniques

1) *Age*

L'âge a été montré dans de nombreuses études comme n'intervenant pas dans le pronostic des mastocytomes cutanés canins (3, 9, 74, 94).

Cependant, certaines études plus récentes (16, 48, 85, 89, 91) ont identifié l'âge des chiens au moment du diagnostic comme un facteur pronostic. Dans une étude sur 31 cas (62), les chiens les plus vieux ont un temps de survie post-opératoire plus court que les chiens plus jeunes ($P < 0,01$) et semblent avoir des récurrences plus rapides que les jeunes, bien que la différence ne soit pas significative ($P = 0,07$). Une autre étude sur 56 cas (50), sur des chiens traités par radiothérapie, rapporte des résultats similaires, avec les chiens de moins de 7,5 ans ayant un intervalle sans récurrence plus long que les chiens de plus de 7,5 ans.

2) *Sexe*

Le sexe des chiens ne semble pas être un facteur pronostique des mastocytomes (5, 91). Seules deux études suggèrent que les chiens mâles ont un temps de survie plus court (33, 48).

Une étude sur 54 cas (64) montre que les femelles ont un risque significativement plus élevé ($P = 0,006$) de développer une forme multiple du mastocytome par rapport à une forme simple. Or ces formes multiples sont classiquement associées à un pronostic plus sombre.

Le rôle des hormones sexuelles lors de mastocytome est peu clair et reste à étudier : des récepteurs aux oestrogènes ont été décrits dans les cellules tumorales de chiens présentant des mastocytomes (52).

Auteur	Race	Degré de différenciation de la tumeur		
		Bien différenciée	Moyennement différenciée	Peu différenciée
Ginn <i>et al.</i> (35)	Toutes races	29%	59%	12%
	Boxer	27%	73%	0%
Bensignor (9)	Toutes races	-	71%	29%
	Boxer	-	100%	0%
Bostock (12)	Toutes races	13%	18%	69%
	Boxer	46%	15%	39%
Zemke <i>et al.</i> (113)	Croisés	29,3%	62,6%	8,1%
	Boxer	29%	62,3%	8,7%

Tableau 1 : Degré de différenciation des mastocytomes selon la race des chiens affectés.

3) Race

Les chiens de race Boxer, qui semblent prédisposés au développement d'un mastocytome (certaines études font état de près de 80% de Boxers dans leurs effectifs), sembleraient avoir des tumeurs de grades moins importants et donc de meilleur pronostic que dans les autres races.

Bostock (12), dans son étude sur 114 chiens, a dans son effectif 41 boxers, dont la moyenne de survie est statistiquement plus longue ($P=0,05$) que pour les autres races : 40 semaines chez les Boxers contre 28 pour les autres races. Cette survie plus longue serait due au fait qu'ils développent plus de tumeurs bien différenciées (46%) par rapport aux autres races (25%). Cette différence se retrouve d'ailleurs dans d'autres études (cf. Tableau 1).

Cependant, toutes les études ne retrouvent pas de différences significatives entre les Boxers et d'autres races. Une étude rétrospective sur 88 chiens montre des pourcentages de tumeurs de chaque grade très proches chez des Boxers et chez des chiens de race croisée (113) (cf. Tableau 1). Enfin, certaines races seraient prédisposées au développement d'une forme multicentrique de mastocytome, comme les Boxers (48) ou les Golden Retriever (65).

4) Taille de la tumeur

Certaines études ont corrélié le volume de la tumeur au moment du diagnostic au devenir des chiens :

- Ginn *et al.* (35) , dans une étude concernant 83 chiens atteints de mastocytome, ont montré que la médiane de survie est significativement plus élevée ($P=0,0001$) pour ceux dont la tumeur avait un diamètre inférieur à 5 cm.
- De même, La Due *et al.* (50) ont montré que les chiens présentant une tumeur de moins de 9 cm^3 ont une durée de rémission significativement plus longue que ceux atteints d'une tumeur de plus de 9 cm^3 ($P=0,006$) lors de traitement par radiothérapie.
- Thamm *et al.* (94) trouvent que les tumeurs ulcérées sont de plus mauvais pronostic que les tumeurs non ulcérées ($P=0,03$), ce qu'ils considèrent en fait comme un marqueur de la taille des tumeurs, étant donné que les tumeurs ulcérées sont souvent plus grosses que les tumeurs non ulcérées.
- Enfin, dans une étude sur des mastocytomes de grade 3 traités par chirurgie et radiothérapie, une corrélation est trouvée entre le diamètre de la tumeur avant

chirurgie et la durée de rémission : les tumeurs de moins de 3 cm de diamètre ont une durée de rémission plus longue (37).

- En revanche, Seguin *et al.* (56) montrent que la taille de la tumeur primaire n'influence pas le taux de récurrence.

Les mastocytomes de grande taille sont donc de moins bon pronostic que ceux de petite taille.

5) Vitesse de croissance et temps de présence

Certains auteurs, plutôt que de s'intéresser à la taille de la tumeur, ont essayé d'analyser l'influence de la vitesse de croissance de la tumeur sur le pronostic. Ceci permet de différencier au sein des tumeurs de même taille celles dont la croissance a été rapide ou lente. Bostock (12) propose pour mesurer la vitesse de croissance, de déterminer un indice correspondant au volume de la tumeur en cm^3 lors de l'exérèse sur le temps de présence avant exérèse en semaines. Si cet indice est égal ou supérieur à $5\text{cm}^3/\text{semaine}$, alors le pronostic est réservé, avec seulement 30% d'animaux vivants à 30 semaines contre 60% si l'indice est inférieur à $1\text{cm}^3/\text{semaine}$.

Il montre également que le temps de présence de la tumeur avant la chirurgie a une influence sur le pronostic indépendamment de la taille de la tumeur. Les tumeurs présentes depuis plus de 28 semaines avant exérèse sont associées à un temps de survie significativement plus long ($P=0,01$) : 58 semaines contre 22 semaines pour les tumeurs présentes entre 13 et 28 semaines avant la chirurgie et 19 semaines pour celles présentes depuis moins de 12 semaines.

Ceci illustre que les tumeurs peu agressives ont tendance à croître plus lentement et à moins gêner l'animal que les tumeurs plus agressives qui grossissent rapidement et s'ulcèrent, poussant les propriétaires à demander un avis vétérinaire plus précoce.

Dans certaines études cependant, il n'y avait pas d'association entre le temps de présence de la tumeur avant exérèse et la survie ou les récurrences (70). Mais peu d'études ont pris en compte ce paramètre, étant donné la difficulté de recueillir sur ce point des commémoratifs précis.

6) Localisation de la tumeur

La localisation de la tumeur peut être importante pour le pronostic : de nombreux auteurs ont rapporté que les mastocytomes localisés au niveau inguinal, préputial ou périnéal sont plus sujets à des métastases ou des récidives que ceux localisés dans d'autres parties du corps (16, 53, 104). Cependant, il s'agit plus d'observations cliniques que de véritables études sur le sujet. Ceci semble cependant être confirmé par une étude (103), qui indique que les mastocytomes localisés sur le tronc ont un moins bon pronostic après radiothérapie que ceux localisés aux extrémités.

Les mastocytomes localisés sur le museau seraient également associés à un pronostic plus sombre, les chiens ayant alors un risque accru de métastases loco-régionales (58% des chiens avaient un nœud lymphatique infiltré au moment du diagnostic), comparé aux tumeurs des membres et du tronc (34).

Cependant, des études plus récentes n'ont pas montré d'association significative entre la localisation de la tumeur et le pronostic vital de l'animal (3, 4, 9, 48, 74, 94). Une étude portant sur des mastocytomes de grade 3 nous indique même que les chiens ayant des mastocytomes localisés au niveau du prépuce ou du périné ont des durées de rémission plus longues que les autres (37) !

Une étude portant exclusivement sur des chiens présentant des mastocytomes inguinaux et/ou périnéaux (16), aboutit à des temps de survie et des périodes de rémission comparables aux données de la littérature pour les tumeurs d'autres localisations. Cependant, les animaux de cette étude ont reçu des traitements particulièrement agressifs, ce qui a pu influencer ces résultats.

Une autre étude plus récente encore compare les survies et périodes de rémission de chiens ayant des tumeurs « inguinales ou périnéales » à celles de chiens ayant des tumeurs d'autres localisations cutanées. Aucune différence significative n'a été observée. Cependant, il est possible que ce manque de corrélation provienne de la définition des localisations, qui est laissée à l'appréciation des cliniciens. En effet, lorsque les localisations sont plus précisément définies, « préputiale ou scrotale », la différence devient alors significative : intervalle de rémission de 4,2 vs. 33,9 mois.

Stade	Caractéristique de la tumeur
1	Tumeur unique confinée au derme Bilan d'extension négatif
2	Tumeur unique confinée au derme Atteinte du nœud lymphatique régional
3	Tumeurs multiples confinées au derme ou tumeur unique infiltrante, avec ou sans atteinte du nœud lymphatique régional.
4	Toute tumeur présentant des métastases à distance Toute récurrence de tumeur avec métastases.
Sous-stade a : Absence de signes systémiques Sous-stade b : Présence de signes systémiques	

Tableau 2 : Les stades de mastocytome. Classification d'après l'OMS

Stade	Caractéristique de la tumeur
0	Tumeur de stade 1 incomplètement excisée (marges d'exérèse infiltrées)
1	Tumeur unique confinée au derme Bilan d'extension négatif
2	Tumeur cutanée et/ou sous-cutanée localement infiltrante, ou tumeur de stade 1 récidivante Bilan d'extension négatif
3	Tumeur unique de stade 1 ou 2 Bilan d'extension régional positif (adénopathie cancéreuse prouvée par examen cytologique ou histologique)
4	Tumeur multicentrique avec ou sans adénopathie Tout stade accompagné de métastases à distance (foie, rate, moelle osseuse, sang)

Tableau 3 : Les stades de mastocytome. Classification d'après l'OMS, modifiée et simplifiée par Magnol *et al.*(58)

D'autres observations effectuées chez des chiens présentant des métastases systémiques montrent que la répartition des tumeurs est la même que dans la population globale, ce qui semble indiquer que la localisation de la tumeur primaire n'a pas d'influence sur la dissémination systémique de la maladie (70).

7) Stade clinique

Les différents stades cliniques du mastocytome furent définis par Owen en 1980 dans le cadre de l'OMS (cf. Tableau 2). Il s'agit en fait d'une classification TNM, courante en cancérologie : T pour tumeur, N pour nœud lymphatique et M pour métastases. Ces différents critères permettent la définition des différents stades cliniques, pour aider à l'établissement d'un pronostic : plus le stade est élevé, plus le pronostic est sombre.

Les stades originaux ont ensuite été modifiés par différents auteurs au cours du temps, en ajoutant un stade 0 (54, 103) ou en modifiant les critères de chaque stade (cf. Tableau 3) (58).

Bien qu'il soit couramment montré que les stades élevés, correspondant aux tumeurs infiltrantes ou récidivantes, sont de moins bon pronostic que les stade 0 et 1 (46, 103), la valeur pronostique de ce système est discutée par de nombreux auteurs.

En effet tous les auteurs ne retrouvent pas d'association significative entre pronostic et stade clinique (16, 34, 50, 94).

Par exemple, dans une étude sur des chiens traités par radiothérapie (103), ceux avec des mastocytomes de stade 0 survivent significativement plus longtemps que ceux avec des mastocytomes de stade 1 à 3 (il n'y avait pas dans cette étude de chiens atteints de mastocytome de stade 4), mais aucune différence n'est notée entre les stades 1, 2 et 3.

La principale controverse provient des mastocytomes multicentriques classés par l'OMS comme stade 3 alors que les études actuelles ne montrent pas de valeur péjorative de ce critère sur la survie des chiens (40).

Les autres controverses à propos de la classification des différents stades concernent la définition de « métastase ». En effet, des chiens sains peuvent présenter de façon physiologique des mastocytes dans le sang, les nœuds lymphatiques, la rate, le foie et même la moelle osseuse (11, 25, 51, 61). Cependant, l'OMS suggère d'évaluer les spécimens

cytologiques juste par la présence ou l'absence de mastocytes, tout spécimen cytologique contenant des mastocytes étant alors considéré comme positif. Ainsi, des chiens peuvent être considérés comme positifs, et donc classés dans un stade plus élevé alors que les cellules observées ne sont en fait pas des métastases. On observerait donc en général un « sur-classement » des chiens dans les différents stades.

Le système des stades cliniques a donc besoin d'être révisé et clarifié pour acquérir une meilleure valeur pronostique : « le système TNM reflète l'état actuel de nos connaissances et requerra des modifications dans le futur » (73).

Nous envisagerons donc séparément la valeur pronostique de chacun des critères utilisés dans les différents stades cliniques.

Statut des marges d'exérèse

Les cellules tumorales sont souvent présentes au-delà des bords palpables de la tumeur. L'exérèse d'un mastocytome est traditionnellement effectuée avec des marges de 3cm sur les bords et d'un plan musculaire en profondeur (41). Cependant, il arrive malgré ces précautions que des cellules tumorales soient laissées au niveau des marges d'exérèse de la tumeur. Les marges de la tumeur retirée sont donc analysées pour rechercher d'éventuelles cellules tumorales.

De façon surprenante, les marges infiltrées sont loin d'aboutir systématiquement à des récurrences locales de la tumeur : 2 cas sur 11 dans l'étude de Michels *et al.* (62), dans 18 à 35% des cas dans d'autres études (63, 65, 87).

Les théories avancées pour expliquer le faible taux de récurrence associé à des marges infiltrées sont nombreuses. Cela pourrait provenir de notre incapacité à distinguer au niveau des marges d'exérèse les mastocytes tumoraux des mastocytes normaux de la peau qui seraient attirés sur le site par la présence de la tumeur. Il pourrait donc s'avérer intéressant d'étudier par d'autres méthodes, le caractère tumoral des mastocytes présents au niveau des marges d'exérèse (66). Une autre explication tiendrait au fait qu'après la chirurgie, le nombre de cellules cancéreuses restantes est suffisamment faible pour qu'elles puissent être détruites par les réactions immunitaires de l'hôte, qui sont déjà en place lors de la chirurgie (63).

Lors de l'étude de Michels *et al.* (62), aucune différence significative n'est notée quant au nombre de récurrences ou au nombre de décès imputable à la tumeur entre les chiens ayant des marges saines *versus* infiltrées sur la durée totale du suivi. Il y a cependant significativement plus de chiens ayant des marges infiltrées qui ont des récurrences de leur tumeur au bout de 12 et 24 mois, ce qui suggère des récurrences plus rapides lorsque les marges ne sont pas saines. Certaines études trouvent une influence du statut des marges d'exérèse sur la survie des chiens (35) ou sur l'apparition de récurrences (89), alors que d'autres n'en trouvent pas (16).

Une étude propose d'analyser différemment le statut des marges d'exérèse selon le grade de la tumeur (66). Dans cette étude, le pourcentage de récurrences est très différent selon le grade de la tumeur (19% pour les grades 3, 6% pour les grades 2, 1% pour les grades 1). Les auteurs concluent donc que des marges infiltrées ne constituent pas un facteur pronostic négatif lorsque la tumeur est bien différenciée.

Récemment, la présence de cellules tumorales à 1, 2 et 3 cm de la tumeur a été étudiée sur des pièces d'exérèse (92). Les résultats montrent que des marges de 2 cm seraient suffisantes, ce qui engendrerait un délabrement moins important lors de la chirurgie que les marges de 3 cm actuellement préconisées.

L'utilisation de marges de 2 cm a ensuite été étudiée par Fulcher *et al.* (29), avec seulement 9% de marges d'exérèse infiltrées, toutes pour des tumeurs de grades 2 (il n'y avait pas de tumeurs de grade 3 dans cette étude). Dans cette étude, aucune récurrence locale n'a eu lieu. Une autre étude devrait être réalisée, incluant des mastocytomes de grade 3 pour voir si des marges de 2 cm sont suffisantes aussi dans ce cas. Si le résultat était différent, un établissement du grade avant la chirurgie serait indiqué, ce qui permettrait d'adapter la chirurgie au grade de la tumeur.

Présence de métastases

Dans 5 à 40% des cas, une dissémination interne par voie lymphatique et sanguine peut se produire (9, 12, 67, 74), aboutissant ainsi à la présence de métastases dans les nœuds lymphatiques, le foie, la rate et la moelle osseuse le plus souvent.

Les métastases au nœud lymphatique loco-régional concerneraient 7% des mastocytomes de grade 1, 20% des mastocytome de grade 2 et 82% des mastocytomes de grade 3 (12). Les métastases à distance concerneraient 2 à 3% des mastocytomes de grade intermédiaire dans

des études réalisées ante mortem (28, 87) et jusqu'à 90% des tumeurs de grade 3 lors d'une étude post-mortem (42).

La valeur pronostique de la présence de ces métastases au moment du diagnostic est controversée : certains auteurs ne trouvent pas de valeur pronostique, ni pour l'apparition de récurrence, ni pour la durée de survie (87), alors que pour d'autres, les chiens présentant des métastases ont 3,2 fois (89), 5 fois (81), voir 7,7 fois (34), plus de risques de mourir de leur mastocytome que les autres.

Les métastases au nœud lymphatique loco-régional sont associées dans plusieurs études à une durée de survie plus courte (65, 94). Cependant, dans l'étude de Murphy *et al.*, la moitié des chiens atteints de métastases étaient encore vivants à la fin du suivi alors qu'ils n'avaient eu pour tout traitement qu'une chirurgie d'exérèse de leur tumeur. Ces résultats semblent indiquer que ces métastases ne sont pas forcément associées à un pronostic sombre et qu'elles peuvent être contrôlées par simple chirurgie d'exérèse de la tumeur.

Cependant, les auteurs avouent qu'il est difficile de savoir si les NL classés comme infiltrés dans leur étude l'étaient réellement ou s'il s'agissait de NL présentant des mastocytes résidents (65, 87). Des chiens sains ont donc pu être comptés comme présentant des métastases, améliorant ainsi le pronostic apparent des chiens ayant des NL infiltrés.

Dans une étude effectuée sur 18 chiens présentant des métastases à distance de leur mastocytome (70), les durées de survie vont de 3 à 660 jours, avec une médiane de 90 jours. Tous les chiens sauf un sont morts de leur tumeur à la fin du suivi. Ces durées de survie sont bien plus faibles que celles habituellement données pour les mastocytomes, indiquant ainsi un impact négatif des métastases à distance sur la survie.

Récidives

Les récurrences ont une fréquence variable selon les études : 3 à 11% après résection complète (62, 65, 86, 108), 18 à 35% après résection incomplète de la tumeur (62, 63, 65, 86). Certains auteurs font même état de près de 50% de récurrences (43, 62, 69).

Ces récurrences, lorsqu'elles surviennent, sont toujours plus agressives que la tumeur initiale, et progressent le plus souvent vers la malignité, avec apparition de tumeurs multicentriques et/ou de métastases dans 59% des cas (1).

Ces récurrences sont donc unanimement reconnues comme ayant un impact négatif sur la survie des chiens (46, 86, 89, 94).

Patnaik (74) fait même état de 100% de mortalité et Bostock (12) de 86% chez les chiens traités par chirurgie et présentant des récives de leur mastocytome.

Formes multicentriques

Elles représentent 11% à 14% des mastocytomes. Elles sont considérées comme stade 3, indiquant un pronostic réservé. Cependant, des données disponibles suggèrent que le pronostic est le même quelque soit le nombre de mastocytomes présents sur un chien (65, 85, 94, 103), bien que d'autres études associent la présence de plusieurs tumeurs avec un pronostic plus sombre (48, 77). Pour l'instant, il n'a pas été clairement déterminé si les tumeurs multicentriques correspondaient à des éclosions séparées ou bien à une dissémination systémique de la maladie. Une étude a montré sur deux chiens présentant des mastocytomes multicentriques que la mutation du gène c-kit était la même dans les différentes tumeurs d'un même chien, montrant ainsi que toutes les tumeurs d'un chien dérivait d'une cellule unique (112). Il s'agit donc dans ce cas d'une dissémination de la tumeur primaire. Cependant, cette découverte sur deux chiens n'exclut pas la possibilité que certains chiens présentent des tumeurs indépendantes.

8) *Durée de rémission et délai seuil*

Ce paramètre a été étudié par Patnaik *et al.* (74), qui montre que, dans leur étude sur 83 chiens traités par exérèse large, tous les chiens atteignant le délai d'un an et huit mois post-chirurgie sont encore vivant 4 ans après. Il parle donc de délai seuil.

Dans une étude sur le traitement des mastocytomes de grade 2 par radiothérapie (3), on remarque de la même façon une stabilisation autour de 500 jours pour les durées de rémission : tous les chiens n'ayant pas eu de récive à cette date n'en développent pas sur une période de suivi de 1700 jours.

Cependant, ce phénomène reste peu étudié dans la littérature et un autre auteur ne retrouve pas ce phénomène dans son étude rétrospective portant sur 85 cas de mastocytomes (9).

9) Concentration plasmatique en histamine

L'ulcération gastro-intestinale est l'un des principaux syndromes paranéoplasiques accompagnant le développement d'un mastocytome. Ces ulcérations peuvent aboutir à une perforation et à la mort de l'animal. L'hyperhistaminémie accompagnant la libération du contenu cellulaire des mastocytes tumoraux est considérée comme un des facteurs principaux contribuant à l'ulcération gastrique et à la perforation (26, 80).

Fox *et al.* ont rapporté que la concentration plasmatique en histamine (CPH) était significativement plus élevée chez les chiens atteints de mastocytome que chez les chiens sains, mais ne trouvent pas d'association avec le stade, le grade ou la taille de la tumeur (26).

Dans une étude d'Ishiguro *et al.*, les chiens ayant un développement métastatique de leur maladie montrent une augmentation progressive de leur CPH, aboutissant à une hyperhistaminémie marquée, alors que les chiens encore vivants à la fin du suivi ne montrent que peu de variations de leur CPH. L'évolution de l'histaminémie au cours de la maladie semble donc corrélée à la dissémination métastatique de la tumeur (45). Il est également suggéré (26) que la mesure de la CPH pourrait être utile pour évaluer la réponse à un traitement ou pour détecter des micrométastases.

Il faut cependant garder à l'esprit que d'autres facteurs peuvent faire varier l'histaminémie, en particulier les allergies.

10) Présence de signes systémiques

Les mastocytomes s'accompagnent très fréquemment de manifestations paranéoplasiques dont la plupart sont dues au relargage dans la circulation sanguine du contenu des granules cytoplasmiques des mastocytes tumoraux: histamine, héparine, sérotonine, facteurs chimiotactiques pour les éosinophiles, enzymes protéolytiques... Ces manifestations peuvent être à l'origine de mortalité mais ne sont pas en relation avec l'agressivité de la tumeur elle-même.

On rencontre des chocs anaphylactiques, des cicatrisations de plaie retardées, un gonflement et une rougeur locale lors de manipulations de la tumeur (signe de Darier), des coagulopathies locales ou systémiques, des glomérulonéphrites focales, des ulcérations gastro-intestinales (jusqu'à 83% (56)) avec des signes allant de l'inappétence à la perforation avec péritonite.

Ces signes systémiques, lorsqu'ils sont présents, constituent un facteur pronostique négatif (60, 64, 87, 108).

Grade	1	2	3
Fréquences relatives	39%	27%	34%
Rapport diamètre du noyau/diamètre cellulaire	R>0,7 Noyau irrégulier et limites cytoplasmiques indistinctes	R=0,55-0,7 Noyau découpé et basophile, limites cytoplasmiques indistinctes	R<0,55 Noyau régulier et sphérique, limites cytoplasmiques très nettes
Mitoses	Parfois nombreuses	Rares	Extrêmement rares
Morphologie cellulaire	Haut degré de pléomorphisme	Pléomorphisme fréquent	Monomorphisme
Cellularité	Très cellulaire	Cellules plutôt groupées	Cellules plutôt dispersées

Tableau 4 : Grading des mastocytomes d'après Bostock (12).

Grade	1	2	3
Durée moyenne de survie	18 semaines	28 semaines	51 semaines
Taux de survie à 30 semaines	13%	45%	77%

Tableau 5 : Histopronostic des mastocytomes, d'après Bostock (12).

II. Le grade histologique

L'examen histologique d'un mastocytome comporte deux aspects : confirmer la nature de la tumeur et la situer sur une échelle de malignité propre à ce type de néoplasme. C'est ce que l'on appelle « grader » une tumeur : plus les cellules tumorales sont indifférenciées ou anaplasiques, plus le pronostic à long terme pour l'animal est sombre

Plusieurs grades ont été définis par différents auteurs : d'abord par Hottendorf en 1969 (43), puis par Bostock en 1973 (12) et enfin par Patnaik en 1984 (74).

1) Le grading d'Hottendorf

Dès 1967, Hottendorf (43) classe les mastocytomes cutanés canins en trois catégories sur la base de critères histologiques, avec les pourcentages suivants : 19% d'anaplasiques, 27% d'intermédiaires et 54% de matures ou bien différenciés. Il établit ensuite le lien entre ce classement et l'extension de la maladie aux organes internes : plus la tumeur est anaplasique et plus les organes internes sont infiltrés (100% des tumeurs indifférenciées contre 57% des intermédiaires).

2) Le grading de Bostock

Les critères histologiques retenus sont les suivants :

- rapport nucléocytoplasmique et caractéristiques des cellules,
- index mitotique,
- degré de pléomorphisme,
- cellularité de la tumeur.

Ils permettent de définir trois grades, présentés dans le Tableau 4.

Dans cette étude (12), portant sur 114 chiens ayant subi une exérèse large de leur mastocytome, 51 sont morts, dont 44 de leur tumeur au bout de 2,5 ans. Les relations entre le grade de la tumeur et le pronostic vital sont consignées dans le Tableau 5. On remarque que le grade 1 de cette classification est très agressif (69% des animaux décédés) alors que les grades 2 et 3 sont de meilleur pronostic (31% des animaux décédés).

Grade	1	2	3
Fréquence relative	36%	43%	20%
Degré de l'envahissement tumoral	Infiltration dermique	Derme profond et tissu sous-cutané	Tissu sous-cutané et tissu profond
Densité et morphologie cellulaires	Cellules disposées en amas ou en chapelets Cellules rondes, bien différenciées, monomorphes Noyaux ronds, à chromatine condensée Cytoplasme abondant à contours nets Granulations de taille moyenne	Cellularité variable Cellules disposées en groupe Cellules rondes ou ovoïdes. Parfois cellules géantes Noyaux ronds ou dentelés à chromatine dispersée, contenant un seul nucléole. Rares cellules binucléées Cytoplasme souvent abondant à contour net Granulations fines et indistinctes ou grosses granulations hyperchromatiques	Cellularité importante Cellules pléomorphiques Cellules géantes fréquentes Noyaux pléomorphes et vésiculés pouvant contenir jusqu'à 3 nucléoles. Cellules binucléées fréquentes Cytoplasme à contour indistinct Granulations fines ou absentes
Mitoses	Pas de mitose	Rares (1 à 2 par champ au grossissement 400)	Nombreuses (3 à 6 par champs au grossissement 400)
Nature et densité de la « stroma réaction »	Pas d'œdème ni de nécrose	Stroma fibro-vasculaire et scléro-hyalin. Zones diffuses d'œdème et de nécrose	Oedème, hémorragie et /ou nécrose fréquents

Tableau 6 : Grading des mastocytomes et fréquence relative, d'après Patnaik (74).

Cette classification est aujourd'hui peu utilisée, au profit de celle de Patnaik. En effet, le grading de Bostock se heurte à des difficultés, d'abord en raison du caractère subjectif de certains critères non quantifiés, mais aussi car la présentation inversée par rapport à celle utilisée habituellement (le grade 1 est ici le plus malin) est source de confusion (59). De plus, les différences observées entre les groupes définis par Bostock ($P=0,01$ pour les comparaisons grade 3/grades 1 et 2, et $P=0,05$ pour celle grade 1/grade 2) sont moins marquées que celles existant entre les trois grades définis par Patnaik et al. ($P<0,0001$ pour les comparaisons grade 1/grade 2, grade 2/grade 3 et grade 1/grade3).

3) Le grading de Patnaik

Il s'agit de la classification la plus largement utilisée actuellement.

Les critères histologiques retenus sont les suivants :

- degré de l'envahissement tumoral en profondeur,
- densité cellulaire,
- morphologie cellulaire,
- index mitotique,
- nature et importance de la stroma-réaction.

Les caractéristiques et fréquences des trois grades sont reportées dans le Tableau 6 .

L'étude porte sur 83 chiens, dont 40% sont morts de leur tumeur durant la période de suivi de 1500 jours (74). Les relations entre le grade de la tumeur et le pronostic vital sont consignées dans le Tableau 7. Le grade 1, qui correspond dans ce système aux tumeurs les mieux différenciées, est de bon pronostic (93% de survie) alors que le grade 3 est de mauvais pronostic (6% de survie). Le grade 2 est intermédiaire (44% de survie). Cette différence est statistiquement significative, avec $P<0,0001$.

De nombreuses publications ont utilisé et étudié ce grading, et toutes ont confirmé sa valeur pronostique (2, 34, 35, 59, 66, 85, 87, 89, 91, 94, 104).

Le grade des tumeurs est aussi prédictif pour les récurrences, avec 19% de récurrences pour les tumeurs de grades 3, 6% pour celles de grade 2 et 1% pour celles de grade 1.

Le grading de Patnaik est donc aujourd'hui le plus utilisé, et constitue le moyen le plus sûr de prévoir l'évolution des mastocytomes traités par exérèse large, et d'orienter le traitement.

Auteurs	Nombre de chiens suivis	Durée du suivi	Taux de survie des grades 1	Taux de survie des grades 2	Taux de survie des grades 3
Patnaïk <i>et al.</i> (74)	83	50 mois	93%	44%	6%
Abadie <i>et al.</i> (2)	74	24 mois	100%	44%	1%
Magnol <i>et al.</i> (59)	75	20 mois	100%	65%	12%
Murphy <i>et al.</i> (66)	280	24 mois	100%	89%	36%

Tableau 7 : Taux de survie de chiens atteint de mastocytome et traités par chirurgie large selon le grade défini par Patnaïk (74).

Le grade de Patnaik est plus précis que celui de Bostock (12) : le nombre de chiens survivants avec une tumeur de grade 1 est respectivement 2 et 16 fois plus élevé que pour ceux ayant une tumeur de grade 2 ou 3. Le taux de survie des chiens ayant une tumeur de grade 2 est 5 fois plus important que celui des chiens ayant une tumeur de grade 3. Dans le grading de Bostock, les tumeurs bien différenciées étaient associées à un taux de survie respectivement 6 et 2 fois plus important que les tumeurs peu et moyennement différenciées.

Un lien a été mis en évidence entre grade de la tumeur et dissémination métastatique (70) : chez des chiens présentant des métastases systémiques, les tumeurs de grade 3 sont beaucoup plus représentées que les tumeurs de grade 1 ou 2 ($P=0,00012$), ce qui est très différent des proportions classiquement retrouvées. Ceci nous indique que les mastocytomes de grade 3 sont plus susceptibles de donner des métastases systémiques que les mastocytomes de grade inférieur.

4) Les limites du grade histologique

La première limite, lors de l'utilisation du grade, est le caractère subjectif de certains paramètres. Ainsi les mêmes mastocytomes ne seront pas forcément notés de la même façon par différents observateurs.

Dans une étude de Northrup *et al.* (68), 20 mastocytomes de chaque grade sont examinés par 10 anatomo-pathologistes travaillant à l'Université de médecine vétérinaire de Géorgie. Seulement 7% des mastocytomes ont eu le même grade attribué par les 10 pathologistes, et 10% trois grades différents ! Seulement 50% des tumeurs ont eu le même grade attribué par plus de 80% des pathologistes. On voit donc que le grade attribué peut varier de façon notable selon l'observateur, et l'on peut imaginer que cette différence serait encore plus importante si les différents anatomopathologistes venaient d'institutions, voire de pays différents. Dans cette étude, deux points particuliers influençaient grandement les différences de notation : les grades attribués n'étaient souvent pas les mêmes selon que le pathologiste acceptait ou non de classer comme bien différenciés les mastocytomes s'étendant au tissu sous cutané ou montrant des figures de mitoses.

L'étude conclut sur l'intérêt qu'aurait l'amélioration du système du grading pour mieux corréler les caractéristiques morphologiques, immunologiques ou moléculaires avec le comportement biologique et la réponse aux différents traitements des tumeurs et de déterminer plus précisément les différents critères pour diminuer les différences de notation entre les différents pathologistes.

Une autre étude soulève ce problème (93), avec seulement 50% des tumeurs qui obtenaient le même grade, attribué par trois anatomo-pathologistes confirmés.

Le deuxième point limitant l'utilisation du grade histologique est le peu d'informations qu'il apporte dans le cas des mastocytomes de grade 2. En effet, s'il est couramment admis que pour les mastocytomes de grade 1 la chirurgie seule suffit comme traitement et que pour les grades 3 une thérapie adjuvante doit obligatoirement être mise en place, la conduite à tenir devant un mastocytome de grade 2 reste floue. En effet, environ 30% de ces tumeurs vont récidiver et 5 à 22% métastaser (87, 108). La survie moyenne à 4 ans après exérèse est de 44%. Ceci implique que si l'on traite tous les chiens atteints de mastocytomes de grade 2 par des thérapies complémentaires à la chirurgie, la moitié environ recevra un traitement inutile, coûteux et potentiellement dangereux ; alors que si on ne traite que par chirurgie, un chien sur deux mourra de sa tumeur quatre ans après la chirurgie. Cette limite s'applique également dans une moindre mesure aux mastocytomes de grade 1 qui se comportent de façon agressive (7%) et aux grades 3 qui se comportent de façon bénigne (6%).

Dans une étude menée par Séguin et al. (87), il analyse le comportement de mastocytomes de grade 2 traités uniquement par chirurgie, et obtient 84% de rémission durant la période de suivi. Il en conclut donc qu'il n'est pas utile de traiter de façon plus agressive que la chirurgie les mastocytomes de grade 2 si les marges d'exérèse sont saines.

5) Valeur pronostique des différents critères histologiques

Pour limiter les variations entre pathologistes, certains auteurs proposent d'analyser séparément la valeur pronostique de chacun des paramètres histologiques utilisés pour l'établissement du grade dans le grading de Patnaik. En effet, certains paramètres sont plus sujets que d'autres à une évaluation subjective, ou à être hétérogène au sein de la tumeur.

Les paramètres les plus sensibles dans une étude (77) sont le caractère infiltrant de la tumeur et l'index mitotique, qui pourraient donc, comme le suggèrent les auteurs, être utilisé indépendamment du grade, évitant ainsi des paramètres plus subjectifs, comme la différenciation cellulaire, la morphologie du noyau ou l'agencement cellulaire.

Dans une autre étude de Simoes *et al.* (91), les meilleurs indicateurs histologiques sont les variations de la taille et de la forme des cellules et l'index mitotique.

Cependant, une autre étude portant sur le caractère infiltrant de la tumeur (48) ne trouve pas de valeur pronostique à ce critère. Celui-ci est assez particulier car il s'agit d'un composant important du grading de Patnaik, alors qu'il n'est pas présent dans le grading de Bostock.

L'index mitotique (IM) a été particulièrement étudié dans une étude récente (81), montrant une forte corrélation avec la survie des animaux. L'index mitotique est une mesure indirecte de la prolifération cellulaire basée sur la quantification des figures de mitoses sur un spécimen histopathologique. Cette mesure est assez simple à pratiquer et ne demande pas de coloration particulière. De plus, elle s'est révélée être l'un des facteurs pronostiques les plus utiles dans le cas des carcinomes thyroïdiens et tumeurs gastro-intestinales chez l'homme (105, 110). Dans cette étude, les chiens ayant une tumeur avec un $IM < 5$ (groupe A) survivent en moyenne 70 mois, alors que les chiens ayant une tumeur avec un $IM > 5$ (groupe B) survivent en moyenne 2 mois. Les mêmes différences sont retrouvées à l'intérieur du grade 2 (80 mois pour le groupe A vs. 3 mois pour le groupe B) et du grade 3 (tous les chiens du groupe A étaient vivants après 16 mois alors que les chiens du groupe B sont tous morts avant au bout de 4 mois).

La détermination de l'index mitotique permettrait donc d'affiner le pronostic des mastocytomes de grade 2 et même de déterminer les mastocytomes de grade 3 à comportement moins agressif.

Le grade est actuellement pour le mastocytome un des meilleurs facteurs pronostiques disponible, et est bien corrélé avec la survie, mais ne permet pas de prédire le comportement de chaque tumeur individuellement. Il permet cependant au praticien d'informer le mieux possible les propriétaires et de pouvoir choisir la thérapie la mieux adaptée.

III. Les Nouvelles méthodes d'évaluation de la malignité des mastocytomes.

Comme nous l'avons vu précédemment, le grade histologique est un des meilleurs facteurs pronostiques disponibles. Il ne permet cependant pas de prédire le comportement de chaque tumeur et notamment pour les tumeurs de grade 2, il reste difficile d'établir un pronostic individuel.

De plus, le grade histologique pose le problème de sa subjectivité, on a ainsi vu que différents observateurs n'attribuaient pas le même grade aux mêmes mastocytomes.

Les nouvelles méthodes d'évaluation de la malignité des mastocytomes ont donc deux objectifs : d'une part remplacer ou compléter le grade histologique par un outil moins subjectif, d'autre part, affiner le pronostic des mastocytomes de grade intermédiaire.

De nombreux marqueurs de malignité, en s'appuyant sur leur efficacité soit pour d'autres tumeurs du chien, soit dans d'autres espèces, ont été testés pour les mastocytomes cutanés canins.

Nous envisagerons pour chaque indice sa signification et sa valeur pronostique dans le cas du mastocytome.

1) Les marqueurs de la prolifération cellulaire.

La propension à une croissance incontrôlée est une des caractéristiques d'une tumeur, c'est pourquoi les mesures de la prolifération cellulaire sont très utilisées pour l'établissement d'un pronostic lors de cancers humains et animaux.

Comme pour tout tissu, les principaux paramètres de la croissance tumorale sont représentés par la durée du cycle cellulaire néoplasique (temps de génération), la proportion de cellules tumorales en prolifération (fraction de croissance) et enfin la proportion des pertes cellulaires tumorales.

La fraction de croissance, estimée par la fréquence des mitoses a été associée avec le pronostic des mastocytomes (12, 13, 59, 74, 81). Cependant, le comptage des figures

mitotiques manque de standardisation et de reproductibilité : les figures mitotiques peuvent être difficiles à identifier, particulièrement sur les cellules avec un noyau pycnotique et la mitose n'est qu'une séquence du cycle cellulaire parfois très brève (24, 38, 78). C'est pour cela que des méthodes alternatives pour estimer la croissance de la tumeur ont été considérées.

Ces marqueurs ont donc pour but d'améliorer l'évaluation de la prolifération cellulaire des tumeurs, jusque là déterminée par l'index mitotique.

AgNOR

Les NOR ou « Nuclear Organizer Regions » correspondent à des boucles d'ADN dans les nucléoles des cellules, impliquées dans la synthèse des ribosomes. Ces régions se forment à la fin de la télophase, lorsque les nucléoles se reforment après la mitose et seraient la conséquence d'une demande accrue en biosynthèse ribosomale durant la mitose. Ces régions sont dites agryophiliques, c'est-à-dire visualisables au microscope après coloration par une solution argentée. Ces AgNORs (« Agryophilic Nuclear Organizer Regions ») sont donc des indicateurs de la prolifération cellulaire. L'index utilisé correspond au nombre moyen d'AgNOR par noyau de cellule tumorale (44).

La mise en évidence de ces régions peut être réalisée sur des coupes tissulaires de prélèvements fixés au formol et inclus en paraffine, ce qui correspond aux conditions standards de traitement d'un prélèvement en vue d'un examen histopathologique.

Cet index a été aussi bien utilisé chez l'homme que chez les carnivores domestiques pour déterminer la malignité de nombreuses tumeurs, dont le mastocytome (23, 27).

En 1989, une première étude de Bostock *et al.* (13) montre une bonne corrélation entre le nombre moyen d'AgNOR par cellule tumorale et le grade histologique de la tumeur, ainsi qu'avec le comportement de la tumeur. Dans cette étude, ils constatent qu'aucun des 50 chiens suivis dont l'index AgNOR était inférieur à 1,7 n'est mort de son mastocytome au bout de 62 semaines, contrairement à 73% des chiens présentant un index supérieur à 4,9.

Une étude de Simoes *et al.* (91) évalue la corrélation entre l'index AgNOR et les taux de récidives et de métastases de 116 chiens atteints de mastocytome cutané. Les résultats obtenus sont présentés dans les Tableaux 8 et 9. Les comptages sont effectués sur 100 noyaux (AgNOR 100) et sur 200 noyaux (AgNOR 200), les deux valeurs étant très bien corrélées

($r=0,96$). Ces deux index sont significativement différents entre les mastocytomes récidivant et ceux ne récidivant pas et entre ceux métastasant et ceux ne métastasant pas, sans chevauchement des intervalles de valeur de chaque groupe. Il est également montré que les chiens ayant un index inférieur à 2,25 ont une durée de vie significativement plus longue que ceux pour lesquels il est supérieur à cette valeur.

Les auteurs de cette étude mettent en avant un point intéressant : la fraction de croissance de la tumeur estimée comme un pourcentage de mitoses dans la population des cellules tumorales n'est pas corrélée avec l'index AgNOR, qui est pourtant décrit comme étant un indicateur de la prolifération cellulaire. Ce manque de corrélation suggère que l'index AgNOR et l'index mitotique sont des indicateurs indépendants de la prolifération cellulaire dans les mastocytomes canins.

En fait, la quantité d'AgNOR par noyau a été montrée comme corrélée avec le temps de doublement cellulaire in vitro (20, 71, 97) et avec le taux de croissance de la tumeur in vivo (72, 82, 98). Le nombre moyen d'AgNOR par noyau est donc inversement proportionnel au « generation time » mais ne donne pas d'information sur la phase du cycle cellulaire et ne différencie même pas les cellules cyclées des non cyclées (107).

Webster et al. (107) démontrent également dans leur étude que la valeur de l'index AgNOR est significativement corrélée avec l'augmentation du taux de récidives locales et à distance et l'augmentation du taux de mortalité liée à la tumeur.

Cependant, dans certaines études, les intervalles de valeurs AgNOR se chevauchent (cf. Tableau 9). Dans l'étude de Thamm *et al.* (94), bien que l'index AgNOR soit reconnu comme facteur pronostic pour le taux de survie, il n'est pas corrélé avec le grade histologique.

Une explication de ce défaut de corrélation grade/index peut être que les valeurs AgNOR éloignées de la moyenne pour un grade donné correspondent en fait aux tumeurs de ce grade qui se comportent de façon imprévue : ainsi la valeur AgNOR d'un mastocytome de grade 3 se comportant de façon bénigne (6% des cas selon Patnaik *et al.* (74)) pourrait être plus proche de la valeur moyenne d'un grade 2 que de celle d'un grade 3. Il se pourrait aussi que cette différence soit due à des erreurs de comptage des AgNOR ou d'attribution du grade.

	Récidives		Métastases	
	Mastocytome ne récidivant pas	Mastocytome récidivant	Mastocytome ne métastasant pas	Mastocytome métastasant
AgNOR 100	2,2+- 0,1	2,9+-0,2	2,3+-0,1	2,8+-0,2
AgNOR 200	2,2+- 0,2	2,9+-0,5	2,2+-0,2	2,9+-0,4

Tableau 8 : Index AgNOR des mastocytomes récidivant et ne récidivant pas et métastasant et ne métastasant pas, établi sur 100 noyaux (AgNOR 100) et sur 200 noyaux (AgNOR 200), d'après Simoes *et al.*(91)

Auteurs	Grade 1	Grade 2	Grade 3
Bostock <i>et al.</i> (13)	1,1-3,5	2,5-4,2	5,1-8,1
Kravis <i>et al.</i> (49)	1,66-3,3	2,17-4,01	4,83-6,47
Hung <i>et al.</i> (44)	2,5-4,84	7-11,72	15,1-18,3

Tableau 9 : Intervalle des valeurs AgNOR en fonction du grade histologique.

C'est pour cette raison que plusieurs auteurs ont proposé des méthodes standardisées, permettant d'augmenter la sensibilité et la spécificité de la détection des AgNOR en les marquant plus fortement et en limitant la formation de dépôts de colorant, souvent à l'origine de faux positifs. Ainsi, Hung *et al.* (44) proposent l'utilisation d'une nouvelle technique de mise en évidence des AgNOR qui permet d'augmenter de façon très nette les comptages AgNOR et la corrélation entre ces comptages et le grade histologique (cf. Tableau 9). Récemment a été mis en place un comité international de standardisation des méthodes AgNOR, qui a publié des méthodes de coloration AgNOR standardisées et reproductibles pour une grande variété de prélèvements (6, 96).

Cette méthode standardisée est utilisée pour la première fois pour les mastocytomes canins par Scase *et al.*. Leur étude montre que l'index AgNOR est corrélé avec la survie ($P < 0,001$), mais qu'il ne permet pas de prédire le comportement des tumeurs indépendamment du grade histologique (85). Seguin *et al.* arrivent à la même conclusion dans leur étude portant uniquement sur des mastocytomes de grade 2 aux marges infiltrées, dans laquelle l'index AgNOR n'a pas de valeur pronostique. Ceci réduit fortement l'utilité de cet indicateur car il ne permet pas de préciser le pronostic parmi les mastocytomes de même grade, et notamment de grade intermédiaire.

L'index AgNOR constitue donc un indicateur pronostique fiable, surtout depuis que des méthodes standardisées ont vu le jour. Cependant, aucun auteur n'a jusque là mis en évidence la supériorité ou la complémentarité de cet index par rapport au grading histologique. Il ne permet pas d'affiner le pronostic des mastocytomes de grade intermédiaire. Un des intérêts de ce marqueur pourrait cependant être qu'il est réalisable, avec une bonne fiabilité, sur des prélèvements réalisés par aspiration à l'aiguille fine (49). Ceci permettrait d'obtenir des informations sur l'agressivité de la tumeur sur une cytologie, obtenue de manière moins invasive que les prélèvements nécessaires pour une analyse histologique.

PCNA

L'Antigène Nucléaire de Prolifération Cellulaire (PCNA) est une protéine non histone de 36 kDa agissant comme cofacteur de l'ADN polymérase δ , enzyme qui intervient dans la réplication de l'ADN précédant la mitose. Bien que la demi-vie de PCNA soit longue et qu'il soit impliqué dans d'autres fonctions nucléaires, le pic d'expression est observé pendant la phase de synthèse de l'ADN (phase S du cycle cellulaire). La détection immunohistochimique de ce marqueur permet donc de déterminer la proportion de cellules en prolifération active (fraction de croissance de la tumeur). L'index PCNA correspond au nombre de noyaux positifs pour cet antigène. En médecine humaine, l'index PCNA est bien corrélé au pronostic de plusieurs types de tumeurs (39, 90, 111). Quelques études récentes ont cherché à évaluer l'intérêt de ce marqueur pour le pronostic des mastocytomes cutanés canins.

Simoes *et al.* montrent sur 114 mastocytomes cutanés canins que l'index PCNA est significativement plus élevé pour les tumeurs métastasant que pour celle ne métastasant pas, et qu'il en est de même pour les tumeurs récidivant comparées à celles ne récidivant pas (91). Ces résultats sont observés sans chevauchement des intervalles des valeurs de chaque groupe, et ce, quel que soit le nombre de cellules sur lequel est fait le comptage. Ils sont exprimés dans le Tableau 10. Le comptage est effectué sur 500 cellules (PCNA 500), 1000 cellules (PCNA 1000) et dans 5 champs au grossissement 400 (PCNA 5 High Power Field). Le temps de survie des chiens ayant un PCNA 5 HPF inférieur à 261 est significativement plus long que celui des chiens dont l'index est supérieur à cette valeur (80% des animaux sont vivants 800 jours après la chirurgie, contre 50% à la même date pour une valeur supérieure à 261).

Une étude réalisée par Hung *et al.* sur 14 chiens atteints de mastocytome montre également une bonne corrélation entre les grades histologiques et la valeur de l'index PCNA (cf. Tableau 11).

Une étude plus récente d'Abadie *et al.* (1), montre également que les index PCNA des chiens mourant de leur mastocytome sont significativement plus élevés que ceux des chiens n'en mourant pas. Cependant, les auteurs constatent un chevauchement important des intervalles des valeurs PCNA des 2 groupes (chiens mourant de leur mastocytome vs. chiens n'en mourant pas) : 618 ± 169 et 426 ± 235 (pour 1000 cellules) respectivement. De plus, les scores PCNA ne sont pas corrélés au grade histologique. Ceci est aussi montré par Seguin *et*

al. qui ne trouvent pas de valeur pronostique de PCNA dans les mastocytomes de grade 2 (86).

Enfin, deux autres études ne montrent aucune corrélation significative entre l'index PCNA et le pronostic des mastocytomes (85, 107).

Les différences existant entre les études sont probablement en partie liées à un manque de standardisation des techniques d'immunomarquage, notamment en ce qui concerne le choix des anticorps. De nombreux anticorps anti-PCNA différents sont disponibles dans le commerce et les résultats obtenus ne sont pas forcément équivalents. La mesure de l'index PCNA présente d'autres inconvénients : la demi-vie du PCNA est assez longue (20h), il peut donc encore être détecté dans des cellules sorties du cycle cellulaire, d'où une surestimation de la prolifération cellulaire. De plus, le marquage du noyau de cellules ne se multipliant pas est possible, notamment pour celles en train de subir une réparation de leur ADN. Enfin, la répartition des cellules positives en PCNA au sein d'un même prélèvement est parfois inégale, ce qui ne facilite pas le comptage (2, 91).

Pour limiter les erreurs, certains auteurs ont envisagé de ne prendre en compte que les cellules les plus fortement marquées qui correspondraient aux cellules réellement en phase S. Ceci n'est cependant pas souhaitable car la mesure de PCNA serait alors trop subjective (2).

L'index PCNA est donc un indicateur peu fiable de la prolifération cellulaire et les dernières études encouragent son abandon au profit d'autres marqueurs tels que Ki-67.

	Récidives		Métastases	
	Mastocytomes ne récidivant pas	Mastocytomes récidivant	Mastocytomes ne métastasant pas	Mastocytomes métastasant
PCNA 500	105,1 ± 7,7	167 ± 10,9	174 ± 14	114 ± 7,3
PCNA 1000	204 ± 15	339,7 ± 21,2	353 ± 28	225 ± 14
PCNA 5HPF	393 ± 82	875,8 ± 115,4	976 ± 76	451 ± 76

Tableau 10: Positivité en PCNA des mastocytomes selon les récurrences et les métastases, établie sur 500 noyaux (PCNA 500), 1000 noyaux (PCNA 1000) ou sur 5 champs au grossissement 400 (PCNA 5HPF), d'après Simoes *et al.*(91).

Auteurs	Grade 1	Grade 2	Grade 3
Abadie <i>et al.</i> (2)	427 ± 238	507 ± 237	590 ± 148
Hung <i>et al.</i> (44)	15,5 ± 9,4	49 ± 12,2	531 ± 9,7

Tableau 11: Positivité en PCNA (pour 1000 cellules) en fonction du grade histologique.

Ki-67

L'antigène Ki-67 est une grosse protéine (395 kDa) dont la fonction cellulaire est encore inconnue, mais qui semble cependant indispensable au déroulement de cycle cellulaire, car l'inhibition de son expression cellulaire par des mutations de l'ADN stoppe la prolifération cellulaire. Elle est exprimée durant les différentes phases du cycle cellulaire et se trouve absente des cellules quiescentes. Le nombre de cellules positives au Ki-67 dans une tumeur est donc utilisé pour déterminer le nombre relatif de cellules activement impliquées dans le cycle cellulaire (fraction de croissance de la tumeur). Sa détection immunohistochimique peut, comme les AgNOR et les PCNA, être effectuée sur des coupes tissulaires préparées en vue d'un examen histopathologique. En médecine humaine, l'index Ki-67 est, pour de nombreuses tumeurs, bien corrélé à leur grade histologique de malignité (14, 31, 32).

L'antigène Ki-67 constitue un antigène plus spécifique de la prolifération cellulaire que le PCNA car sa demi-vie après la mitose est plus courte (inférieure à une heure), et sa présence lors de phase de réparation de l'ADN n'a jamais été rapportée. La distribution des cellules positives au Ki-67 au sein des tumeurs est homogène, ce qui facilite leur comptage. Dans l'étude d'Abadie *et al.* (2), l'index Ki-67 (c'est-à-dire le pourcentage de noyaux positifs pour cet antigène) est significativement plus élevé pour les animaux mourant de leur mastocytomes que pour ceux survivant ($P < 0,001$), sans qu'il n'y ait de chevauchement des intervalles de valeurs. Les résultats sont également significativement différents entre les trois grades histologiques ($P < 0,001$) (cf. Tableau 12), ce qui permettrait d'utiliser cet index pour discriminer les différents grades.

La détection de cet antigène a également permis d'affiner le pronostic des mastocytomes de grade 2, qui sont les plus fréquents et les moins prévisibles. Ainsi deux sous-groupes ayant des taux de survie significativement différents en fonction de leur index ont pu être créés : le taux de survie un an après l'exérèse est de 88% pour les chiens atteints de mastocytome de grade 2 avec un index inférieur à 9,3% contre 37% pour ceux avec un index supérieur à 9,3%. Ceci est confirmé par Scase *et al.* dans une étude portant sur un plus grand nombre de cas : une association significative entre l'index Ki-67 et la survie est trouvée ($P < 0,001$), ainsi qu'une valeur permettant de scinder les mastocytomes de grade 2 en deux groupes de pronostic différent (cf. Tableau 14) (85).

	Grade 1	Grade 2	Grade 3
Index Ki-67	3,1 ± 1,6	9,3 ± 6,7	20,4 ± 9,5

Tableau 12: Index Ki-67 (en pourcentage de noyaux positifs en Ki-67, établi par comptage sur 1000 noyaux) en fonction du grade histologique, d’après Abadie *et al.*(2).

		Nombre de cas	Ki-67		Ag67	
			≤ 23	> 23	< 54	54 ≥
Grade 1		56	56/56	0/56	56/56	0/56
Grade 2	Total	41	26/41	15/41	26/41	15/41
	Décédés	5	2/5	3/5	1/5	4/5
Grade 3		7	0/7	7/7	0/7	7/7

Tableau 13 : Index Ki-67 et Ag67 en fonction du grade histologique et des décès dus à la tumeur, d’après Webster *et al.* (107).

Probabilité de survie (an)	1	2	3
Ki-67<1,8%	0,92	0,86	0,77
Ki-67>1,8%	0,43	0,21	0,21

Tableau 14 : Probabilité de survie à un an selon le grade histologique et la valeur de l’index Ki-67, d’après Scase *et al.* (85).

Webster montre aussi dans son étude que Ki-67 est très bien corrélé au pronostic des mastocytomes, à la fois pour l'apparition de récurrences et pour la survie (107). Une très forte corrélation est aussi trouvée dans cette étude entre grade histologique et index Ki-67 (cf. Tableau 13).

Un seul auteur ne trouve pas de valeur pronostic à Ki-67 utilisé seul pour des mastocytomes de grade 2 (86), et recommande son utilisation conjointe à PCNA (cf. infra).

L'index Ki-67 semble donc être un excellent indicateur pronostique lors de mastocytome cutané canin. Son utilisation devrait être systématique, notamment pour les mastocytomes de grade 2, mais aussi pour ceux de grade 1, pour mieux prévoir un éventuel comportement agressif.

Les combinaisons des différents index

Certains auteurs ont essayé de combiner différents index pour augmenter leur valeur pronostique.

Seguin *et al.* (86) montrent dans leur étude que seule la combinaison des indices PCNA et Ki-67 a une valeur pronostique dans le cas des mastocytomes de grade 2 avec marges d'exérèse infiltrées : en prenant en compte ces deux indices, les scores sous la moyenne ont significativement plus de récurrences locales.

En s'appuyant sur la formule suivante : $\text{prolifération} = 1/\text{generation time} \times \text{fraction de croissance}$ (15), Webster *et al.* définissent deux nouveaux indices : $\text{Ag67} = \text{AgNOR} \times \text{Ki-67}$ et $\text{AgPCNA} = \text{AgNOR} \times \text{PCNA}$. Dans cette étude (107), alors que AgPCNA ne montre un intérêt que pour la durée de survie, Ag67 est corrélé à la survie et aux récurrences locales et à distance. Ag67 et Ki-67 sont les deux meilleurs indices dans cette étude, et une valeur seuil de 54 est déterminée pour Ag67, sans chevauchement des intervalles de valeurs. Tous les mastocytomes de grade 1 sont en dessous de cette valeur, tous les grades 3 sont au dessus. Parmi les grade 2, 26 sont en dessous et 15 au dessus et parmi les grades 2 mourant de leur tumeur, 1 est en dessous et 4 au dessus, ce qui est statistiquement significatif (cf. Tableau 13) Ag67 est le meilleur indicateur d'une diminution de l'intervalle de rémission dans cette étude. Les auteurs recommandent donc son utilisation conjointe avec Ki-67, qui est le meilleur indicateur pour la durée de survie.

2) *Les marqueurs de l'apoptose*

La croissance tumorale ne dépend pas seulement du taux de prolifération des cellules tumorales mais aussi du taux de disparition de ces cellules. Ainsi une tumeur ayant un taux de prolifération cellulaire bas et un taux de mortalité cellulaire également bas peut être aussi agressive qu'une tumeur plus proliférative mais qui aurait un taux de mortalité cellulaire plus important. En médecine humaine, des marqueurs de l'apoptose ont donc été étudiés pour voir si ils pouvaient aussi être utilisés pour déterminer le pronostic des tumeurs. Ceci a été prouvé dans le cas de la survivine, membre de la famille des inhibiteurs de l'apoptose. La survivine a comme rôle principal de maintenir la stabilité des chromosomes durant la mitose. Elle est le plus souvent indétectable dans les tissus sains mais semble exprimée dans la quasi-totalité des tumeurs humaines dans lesquelles sa présence a été recherchée. Dans beaucoup de ces tumeurs, il a été démontré que la survivine était un facteur pronostic.

Dans une étude récente de Scase et *al.* (85), la plupart des mastocytomes étudiés étaient positifs pour la recherche de survivine, avec une coloration du noyau et/ou du cytoplasme, mais aucune association significative entre la survie des chiens et la fréquence des cellules exprimant la survivine, ni entre la survie et la localisation de la coloration n'a été trouvée.

3) *La protéine p53*

La protéine p53 est un facteur de transcription nucléaire dont la fonction inclut l'arrêt du cycle cellulaire dans les cellules où l'ADN est endommagé, l'induction de la transcription des enzymes de réparation de l'ADN durant cet arrêt et l'induction de l'apoptose pour les cellules ayant subi des dommages irréversibles. Toutes ces fonctions sont essentielles au maintien de l'intégrité du génome, et c'est pour cela qu'elle appartient au groupe des protéines dites "tumor-supressor". La mutation du gène codant pour p53 est l'altération génétique la plus fréquemment trouvée dans les cancers humains. La demi-vie de la protéine normale est considérée comme trop courte pour être détectée par immunohistochimie. Les protéines mutantes sont en revanche plus stables que les protéines sauvages, et s'accumulent dans le noyau, permettant ainsi leur détection.

Cette technique a donc été utilisée pour évaluer la malignité de cellules tumorales en médecine vétérinaire : chez le chien, un lien entre la détection de la protéine p53 et le

comportement des ostéosarcomes et des carcinomes thyroïdiens a été montré (83). En revanche aucun intérêt dans le pronostic des tumeurs colorectales n'a été trouvée (109).

Deux études récentes ont été consacrées à l'évaluation de la relation entre la détection de cette protéine et l'évolution des mastocytomes cutanés canins (35, 46).

Pour Jaffe *et al.*, si les tumeurs de grade 3 sont significativement associées à un marquage plus important de p53 que les tumeurs de grade inférieur, les chevauchements entre les valeurs des deux groupes sont trop importants pour que ce critère d'évaluation soit fiable (46). Ainsi, ils trouvent des tumeurs ne montrant pas ou très peu de cellules positives pour p53 dans les trois grades histologiques. Ginn *et al.* concluent également que ce marquage est inutile dans le cas des mastocytomes cutanés canins, peut être à cause d'un manque de spécificité de cette méthode de détection immunohistochimique chez le chien (35). Ils montrent que la détermination qualitative ou quantitative de la positivité des tumeurs pour la protéine p53 n'augmente pas la précision du pronostic apporté par l'histopathologie et l'évaluation du stade clinique pour la détermination de la durée de rémission et du taux de survie après la chirurgie. La détection de la protéine p53 ne semble donc pas avoir d'intérêt dans le pronostic des mastocytomes cutanés canins.

4) La polyploïdie

L'analyse du contenu de l'ADN par cytométrie de flux est très utilisée en médecine humaine pour le diagnostic et le pronostic des cancers. En effet dans certaines tumeurs, ce contenu est anormal : elles sont dites « aneuploïdes », et sont associées à un mauvais pronostic (5, 7, 18).

Chez le chien, l'association entre aneuploïdie et malignité des tumeurs n'a pas été nettement démontrée (10, 40, 57).

Une étude réalisée en 1992 (8) analyse le contenu de l'ADN de 40 mastocytomes cutanés canins par la même technique. Des histogrammes ont été établis, distinguant les tumeurs diploïdes (deux pics) des tumeurs aneuploïdes (un pic). Les auteurs ne constatent pas de différences significatives entre ces deux types de tumeur en ce qui concerne le grade histologique. Une différence a été trouvée entre les mastocytomes de stade 1 et ceux de stade plus élevé, et pour la survie lors de la première année de suivi.

L'évaluation de la polyploïdie des mastocytes tumoraux n'a donc que peu d'intérêt dans le pronostic des mastocytomes cutanés canins.

5) *Tryptases*

Les tryptases sont une des protéases les plus couramment trouvées dans les granulations des mastocytes. Les cellules des mastocytomes peu différenciés tendent à avoir moins de granules cytoplasmiques et à moins bien se colorer lors de colorations usuelles que les cellules des mastocytomes bien différenciés. Ce défaut de coloration pourrait être dû à un défaut de production ou de stockage des composants cellulaires réagissant avec les colorants. Webster et Kiupel (106) ont donc étudié l'expression cytoplasmique des tryptases dans les mastocytomes cutanés canins, mais ne trouvent aucune corrélation entre l'expression des tryptases et le pronostic des tumeurs.

6) *Le c-KIT*

Des analyses menées sur des mastocytomes de l'homme et des rongeurs ont révélé des mutations du proto-oncogène c-KIT (30, 99-101). Le gène c-KIT code pour un récepteur membranaire, qui, activé par son ligand, le Stem Cell Factor (SCF), déclenche une cascade responsable du développement, de la maturation et de la survie de plusieurs lignées cellulaires, incluant les mastocytes (88).

Le récepteur KIT est constitué d'un domaine extracellulaire et d'un domaine intracellulaire à activité tyrosine kinase. Des mutations du domaine kinase ou du domaine juxta membranaire voisin sont responsables de l'activation du récepteur KIT en l'absence de son ligand. Cette activation anarchique peut conduire les cellules à une croissance incontrôlée et à un comportement agressif typique d'un développement tumoral (47).

Chez le chien, des mutations du gène c-KIT provoquant une activation constitutive du récepteur KIT ont aussi été identifiées et toutes ont été trouvées dans la portion juxta membranaire (53, 55). Il s'agit principalement de duplications internes en tandem (ITD) localisées au niveau des exons 11 et 12 du gène c-KIT. Les premières études (53, 55) retrouvent ces mutations dans environ 50% des tumeurs.

D'autres études ont cherché à établir la prévalence de ces ITDs et leurs liens avec la progression de la maladie sur un nombre plus important de cas :

- L'étude de Zemke *et al.* (113) suggère un lien entre le grade de la tumeur et la présence d' ITDs dans le domaine juxta membranaire de c-kit. Aucune mutation n'est identifiée parmi les tumeurs de grade 1, moins de 10% des tumeurs de grade 2 présentent ces mutations alors qu'elles sont retrouvées dans 4 des 6 tumeurs de grade 3. Dans cette étude, le pourcentage de tumeurs exprimant ces mutations (13.6%) est plus faible que dans les études précédentes.
- Downing *et al.* (22) trouvent significativement moins d'ITDs parmi les tumeurs de grade 1 que parmi les tumeurs de grades 2 et 3 mais aucune différence entre les tumeurs de grades 2 et 3. Cependant, et bien que la différence ne soit pas significative, les chiens ayant des tumeurs à ITD ont deux fois plus de chance d'avoir des récurrences et des métastases que les chiens n'en ayant pas.
- Webster *et al.* (107) trouvent que les tumeurs présentant des ITDs ont une fraction de croissance (mesurée par l'index Ki-67) et une vitesse de progression du cycle cellulaire (mesurée par l'index AgNOR) plus élevées que les tumeurs n'en présentant pas ($P=0,0015$ et $P=0,0025$ respectivement).

On peut remarquer que dans les différentes études, la prévalence des ITDs est très variable (16% à 50%). Cette différence peut s'expliquer de plusieurs façons : tout d'abord, certaines études (53) n'ont étudié que des tumeurs de grade 2 et n'avaient qu'un petit nombre de cas, ce qui augmente les biais (53, 55), ensuite, on peut imaginer que les différences dépendent du type de clientèle. En effet, les clientèles de cas référés uniquement (22) verront plus de tumeurs agressives que d'autres clientèles (113).

	Total	Grade 1	Grade 2	Grade 3
Downing <i>et al.</i> (22)	52/157(33%)	1/12 (8%)	42/119 (35%)	9/26 (35%)
Zemke <i>et al.</i> (113)	8/88(16,9%)	0/24 (0%)	4/58 (7%)	4/6 (67%)
Webster (108)	9/56 (16%)	–	–	–

Tableau 15 : Prévalence des ITDs en fonction du grade histologique.

Marquage		Qualité	Localisations	Nombre de tumeurs
Catégorie 1	Tumeur de classe 1	Intensité modérée, marquage diffus et homogène de l'ensemble des cellules	Cytoplasmique et membranaire modérés, jamais périnucléaire	9 sur 24, soit 37%
Catégorie 2	Tumeur de classe 2	Intensité forte, marquage hétérogène	Surtout cytoplasmique, parfois membranaire important, avec granulations cytoplasmiques très nombreuses	6 sur 24, soit 25%
	Tumeur de classe 3	Intensité faible, sauf pour quelques cellules l'exprimant intensément	Surtout cytoplasmique, avec fréquentes granulations diffuses	4 sur 24, soit 17%
	Tumeur de classe 4	Intensité faible	Spot de marquage périnucléaire intense et membranaire discret	5 sur 24, soit 21%

Tableau 16 : Critères de catégorisation des tumeurs par immunomarquage de KIT, d'après Thinet (95).

D'autres auteurs se sont intéressés à l'expression du produit du gène c-KIT, le récepteur KIT. En effet, les cellules tumorales des mastocytomes cutanés canins expriment la protéine KIT, et sa détection est possible par des méthodes immunohistochimiques (79). Un lien entre l'intensité de la coloration et le grade de la tumeur a été établi, les tumeurs bien différenciées exprimant faiblement KIT alors que les peu différenciées ont une forte expression. De plus, il existe des différences dans la répartition du marquage : les mastocytes normaux et quelques cellules néoplasiques expriment KIT le long de la membrane cellulaire alors que la plupart des cellules néoplasiques expriment KIT dans le cytoplasme, surtout autour du noyau (79).

Des études réalisées depuis montrent que 100% des mastocytomes expriment KIT (76, 95, 106), contrairement aux histiocytomes tumoraux, plasmocytomes et lymphomes, qui ne le font pas. La détection immunohistochimique de KIT, reproductible et utilisable en routine, présente donc un intérêt certain dans le diagnostic différentiel des tumeurs à cellules rondes, parfois délicat. Une remarque est à faire cependant sur les mélanomes achromiques, qui expriment KIT, et qui nécessitent donc un immunomarquage supplémentaire pour les différencier (95).

Plusieurs auteurs se sont intéressés à l'impact de la répartition de KIT dans la cellule sur le pronostic :

- Thinet et Abadie (95), dans une thèse expérimentale, montrent que les tumeurs appartenant à la catégorie 1 montrent une expression de Kit comparable à celle des mastocytes normaux, tandis que celles appartenant à la catégorie 2 en montrent une distincte (Tableau 16).

Les durées moyennes de survie sont significativement différentes, avec 32,7 mois de survie pour les tumeurs de catégorie 1 et 9,5 mois pour celles de catégorie 2. L'étude propose donc de s'affranchir du grading de Patnaïk pour adopter une classification bipolaire, plus discriminante.

- Webster et Kiupel (106) montrent qu'une augmentation du marquage dans le cytoplasme par rapport à un marquage peri-membranaire est associée à un comportement plus agressif.

- Preziosi *et al.* (76) différencie trois catégories : marquage cytoplasmique diffus, marquage membranaire et marquage perinucléaire. Une très forte corrélation est trouvée entre le grade histologique de la tumeur et le marquage ($P < 0,00000$) : 76,5% et 100% des cas avec des répartitions cytoplasmiques diffuses et mixtes diffuses/membranaires respectivement, sont

classées comme grade 1, 100% des tumeurs avec un marquage perinucléaire de KIT sont des grades 3 et 100% des cas avec des marquages membranaires et membranaires/perinucléaires sont des grades 2. Les courbes de survie révèlent une différence de la durée de survie entre les différents groupes ($P < 0,037$). Le marquage perinucléaire n'étant retrouvé que pour les mastocytomes de grade 3, il pourrait être considéré comme spécifique.

- Webster *et al.* (107) démontrent que les mastocytomes ayant un marquage cytoplasmique de KIT ont une fraction de croissance (mesurée par l'index Ki-67) et une vitesse de progression du cycle cellulaire (mesurée par l'index AgNOR) plus importantes que ceux ayant un marquage perimembranaire.

Les résultats de ces études suggèrent donc que la sur-expression du gène c-KIT serait un facteur important de la malignité des mastocytomes. La répartition du marquage de KIT est un paramètre objectif de l'expression du gène c-KIT, plus facile à déterminer que l'intensité de la coloration qui est affectée par la variabilité inter observateurs et les différences de méthodes de fixation des prélèvements (76).

Il reste cependant à déterminer plus précisément le lien entre sur expression du gène c-KIT et mutation de ce gène. L'intérêt de l'immunomarquage, plus facile et moins onéreux que les techniques d'extraction de l'ADN, n'en serait alors que renforcé.

Une étude récente s'intéresse à l'expression de c-KIT en mesurant par RT-PCR en temps réel (RRT-PCR) les ARNm de c-KIT, à la fois dans les tissus tumoraux et dans le sang de chiens atteints de mastocytomes (102). Cette étude nous montre que c-kit est détectable par RRT-PCR dans le sang des animaux atteints, même en l'absence de mastocytes circulants observés par cytologie, alors qu'il n'est pas détectable chez les chiens témoins sains. Aucun lien n'est trouvé entre le taux de c-KIT et la survie ou le grade de la tumeur. Ces résultats nous montrent la complexité des mécanismes moléculaire en jeu lors de mastocytomes.

Enfin ce proto-oncogène représente une possible alternative thérapeutique aux protocoles de chimiothérapie conventionnels, grâce à des inhibiteurs spécifiques de l'activité Tyrosine kinase de KIT, tel que le STI 571 ou Imatinib (113).

7) *La densité tumorale en micro vaisseaux*

L'IMVD (« Intratumoral Microvessel density ») est une expression de l'angiogénèse intratumorale. En oncologie humaine, une relation entre une IMVD élevée et l'agressivité de la tumeur a été montrée pour de nombreux types tumoraux. De récentes études ont également montré le rôle pronostique de cet indicateur pour des tumeurs animales (73). L'angiogénèse tumorale jouerait un rôle dans la croissance de la tumeur en augmentant l'apport de nutriments et d'oxygène aux cellules tumorales et un rôle dans l'apparition de métastases en permettant la dissémination des tumeurs primaires via la circulation sanguine.

Dans le cas des mastocytomes du chien, la survie des chiens est significativement différente ($P=0,046$) entre les chiens ayant une densité en micro vaisseaux dite haute et ceux ayant une densité dite basse (78). Une différence significative existe aussi entre les tumeurs de grade 1 et de grade 3 ($P=0,0002$) et entre les tumeurs modérément et hautement invasives.

Ce paramètre est aussi prédictif des récurrences proches de la chirurgie, sur environ 6/7 mois.

Cette technique de marquage immunohistochimique est simple et peu coûteuse, mais requiert une certaine expérience, surtout pour repérer les aires de haute densité en micro vaisseaux, ou « Hot Spot ».

Ce paramètre serait donc utile pour prédire le comportement post chirurgical des mastocytomes.

PARTIE 2 :
Etude Rétrospective

**Bilan d'extension et pronostic des chiens
atteints de mastocytomes cutanés canins**

I. Matériel et méthodes

Cette étude rétrospective porte sur des cas de mastocytomes cutanés canins vus en consultation de cancérologie à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (ENVT) et à la Clinique vétérinaire de la Rivière (Plaisance du Touch, 31), entre Septembre 1999 et Septembre 2002 et entre Juin 2004 et Janvier 2007.

Les cas provenant de l'ENVT ont été recherchés dans les archives des consultations de l'ENVT.

Les cas de mastocytomes cutanés canins qui ont été inclus dans cette étude sont ceux pour lesquels a été réalisé un bilan d'extension. Ce bilan d'extension comprend, lorsqu'il est complet :

- une analyse cytologique et/ou histologique des nœuds lymphatiques loco-regionaux,
- une échographie abdominale,
- une cytoponction de la rate et/ou du foie,
- un myélogramme,
- un buffy-coat.

La plupart des cas de cette étude ont subi une exérèse chirurgicale de leur mastocytome et par la suite une analyse histologique et immunohistochimique (Index Ki-67).

Les résultats des analyses cytologiques et histologiques des tumeurs ont été recueillis respectivement auprès des laboratoires de cytologie et d'anatomo-pathologie de l'ENVT.

Grâce aux dossiers des animaux retenus et aux comptes-rendus de cytologie et d'histologie, nous avons établi pour chaque animal une fiche de renseignements comportant : (cf. Annexe 1)

- le nom du propriétaire et de l'animal,
- le numéro de dossier,
- le sexe de l'animal,
- l'âge de l'animal lors de la première consultation en cancérologie,
- la race de l'animal,
- la localisation de la tumeur : la surface corporelle est divisée en quatre zones distinctes : tête et cou, tronc (thorax et abdomen), extrémités et région ano-génitale. Pour les chiens présentant 5 mastocytomes ou plus, la localisation des tumeurs n'est pas prise en compte.
- les résultats du bilan d'extension,

- les résultats de l'analyse histologique : grade de la tumeur selon Patnaik (74), valeur de l'index Ki-67, infiltration des marges,
- les traitements éventuels,
- le suivi de l'animal : récurrence, apparition de métastases, décès (dû à la tumeur ou pas).

Dans les cas où le suivi de l'animal n'avait pas été effectué à l'ENVET, les propriétaires ont été joints par téléphone afin de pouvoir disposer de données suffisantes concernant l'apparition d'éventuelles récurrences et/ou métastases et la survie de l'animal (cf. Annexe 2).

Les données ont été analysées grâce au test du Chi deux, en rejetant l'hypothèse nulle si la probabilité que la différence entre deux groupes soit due au hasard est inférieure à 0,05. Les courbes de survie ont été établies par la méthode de Kaplan-Meier et ont été comparées grâce au test du logrank. Les chiens encore vivants à la fin du suivi ou morts d'une autre cause que leur mastocytome ont été censurés lors de l'analyse de survie.

II. Résultats

L'étude porte sur 48 cas de mastocytomes. Sur ces 48 cas, 21 ont fait l'objet d'un bilan d'extension avec cytoponction de foie et/ou rate, les 27 autres ont eu un bilan sans cytoponction de foie et/ou rate. Les résultats ont été compilés dans un tableau visible en [Annexe 3](#).

1) Analyse épidémiologique : Age, sexe et race des chiens atteints

L'âge moyen des chiens au moment du diagnostic de mastocytome est de 7,8 ans, l'âge médian de 7,5 ans. Le plus jeune chien a 2,5 ans et le plus vieux 12 ans ([Fig.1](#)).

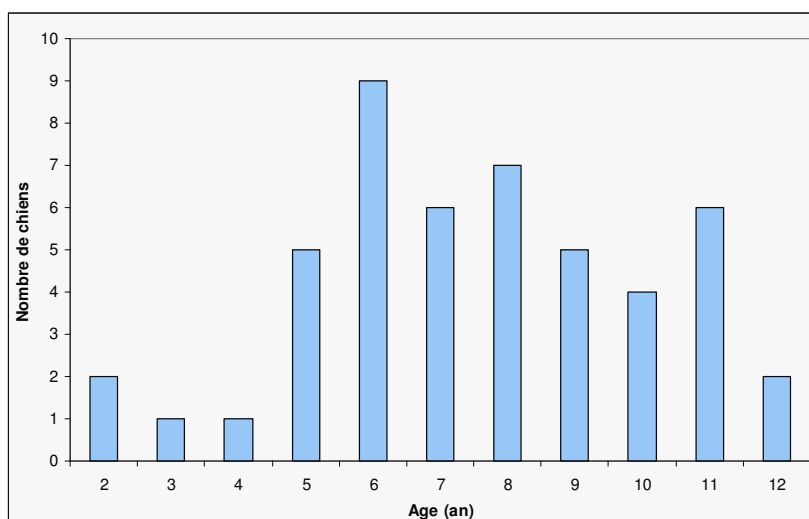


Fig. 1 : Age des chiens au diagnostic.

Parmi les animaux de l'étude, il y a 24 chiens mâles (50%) et 24 chiens femelles, dont 9 stérilisées.

Douze races différentes sont représentées ([Fig.2](#)). Trois chiens seulement (6%) sont des croisés, tous les autres sont de pure race. Les races les plus fréquemment rencontrées sont le Boxer (19 chiens, 40%) et le Labrador (13 chiens, 27%). Puis viennent le Caniche, le Setter et l'Epagneul Breton (2 chiens, 4% chacun) et un représentant de chacune des races suivantes : Golden Retriever, Rottweiler, Sharpeï, Shi-tzu, Pointer, Berger Belge et Doberman.

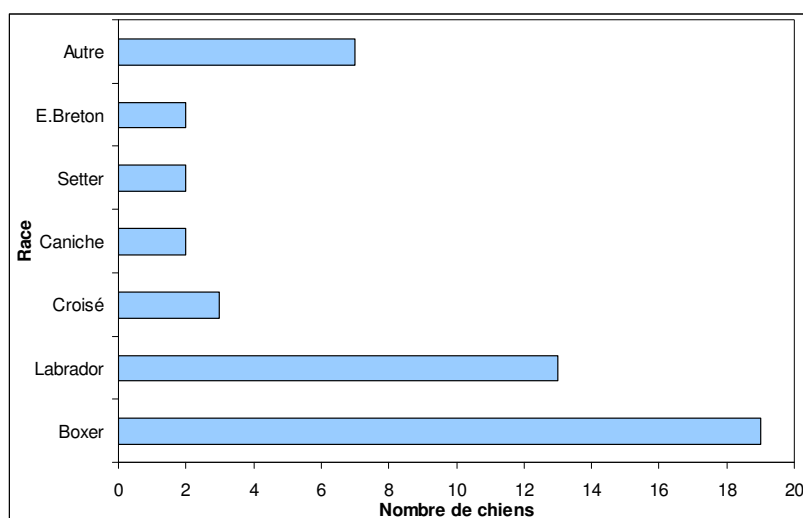


Fig. 2 : Race des chiens.

2) Localisation des mastocytomes

La localisation des tumeurs a été étudiée sur 43 chiens sur 48, présentant 52 tumeurs (deux chiens présentent 3 tumeurs et 5 chiens en présentent 2) : 19 tumeurs (37%) sont localisées au niveau du tronc, 14 en région ano-génitale (27%), 9 au niveau de la tête et du cou (18%) et 10 au niveau des extrémités (19%) (Fig.3).

Cinq chiens ne sont pas pris en compte dans cette analyse : un parce que la tumeur est de localisation inconnue, les quatre autres car ils présentent plus de cinq tumeurs au moment du diagnostic.

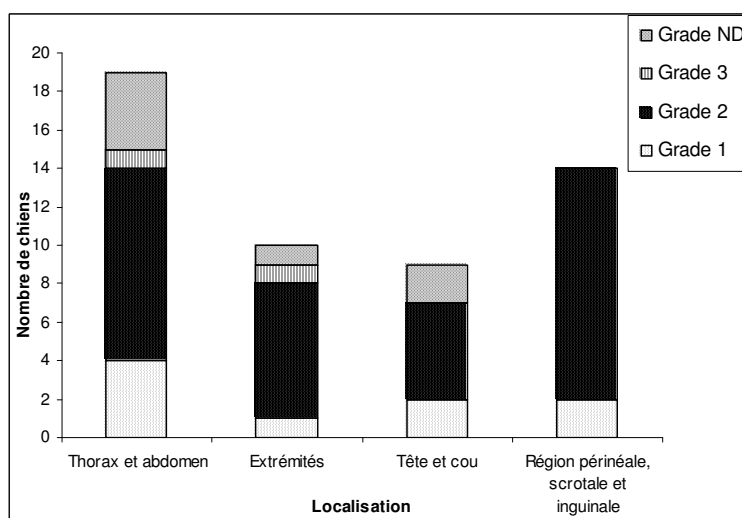


Fig. 3 : Localisation des mastocytomes.

3) Analyse histologique

Attribution d'un grade

L'analyse histologique des tumeurs a conduit à l'attribution d'un grade selon les critères définis par Patnaik *et al.* (74).

Sur les 48 cas, 5 n'ont pas subi de chirurgie et n'ont donc pas eu d'analyse histologique. Pour les chiens présentant plusieurs mastocytomes, seul le grade le plus élevé est pris en compte.

Huit chiens (18%) présentent des tumeurs de grade 1, 33 (77%) des tumeurs de grade 2 et 2 (5%) des tumeurs de grade 3 (Fig.4).

Index Ki-67

Parmi les mastocytomes de grade 1, deux ont été analysés pour l'index Ki-67. Celui-ci est <10% dans les deux cas.

Parmi les mastocytome de grade 3, un seul a été analysé et présente un index Ki-67 >10%.

Parmi les grades 2, quatre n'ont pas été analysés, 10 présentaient un index Ki-67 <10% et 19 un index Ki-67>10% (Fig.4).

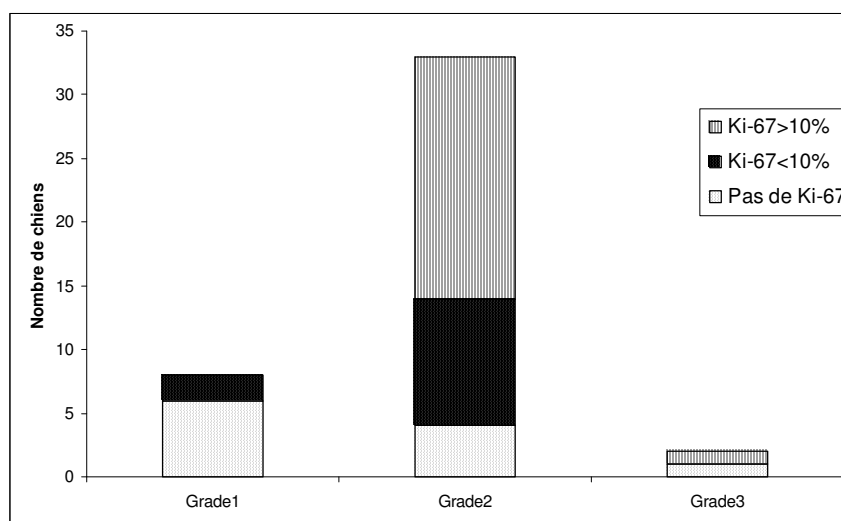


Fig. 4 : Grade histologique des mastocytomes.

Marges d'exérèse

Les marges d'exérèse ont été analysées dans 36 cas : 17 présentent une infiltration par des mastocytes (Fig.5).

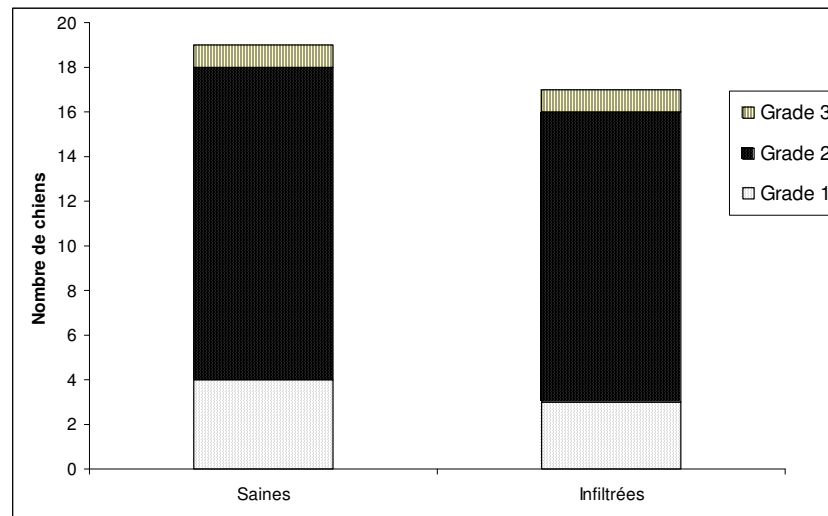


Fig. 5 : Statut des marges d'exérèses des mastocytomes.

4) Traitement

Sur 48 chiens, 5 n'ont subi aucun traitement. Les 43 chiens restant ont tous subi une chirurgie d'exérèse de leur tumeur. Parmi ces chiens, huit ont reçu en plus de la Prednisolone, six une chimiothérapie à base de Vinblastine et de Prédnisolone et un chien a reçu en plus une chimiothérapie à base de Lomustine, qui a été interrompue à cause d'une toxicité hépatique (Fig.6 et Fig.7).

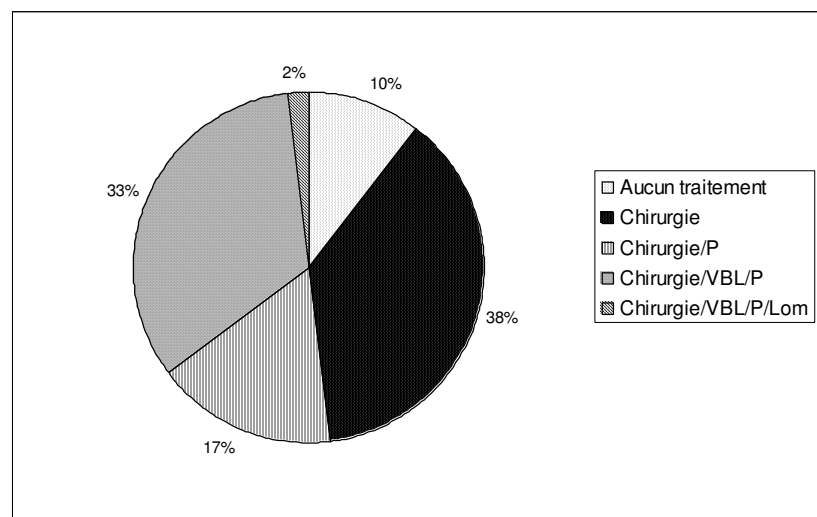


Fig. 6 : Part relative des différents traitements administrés.

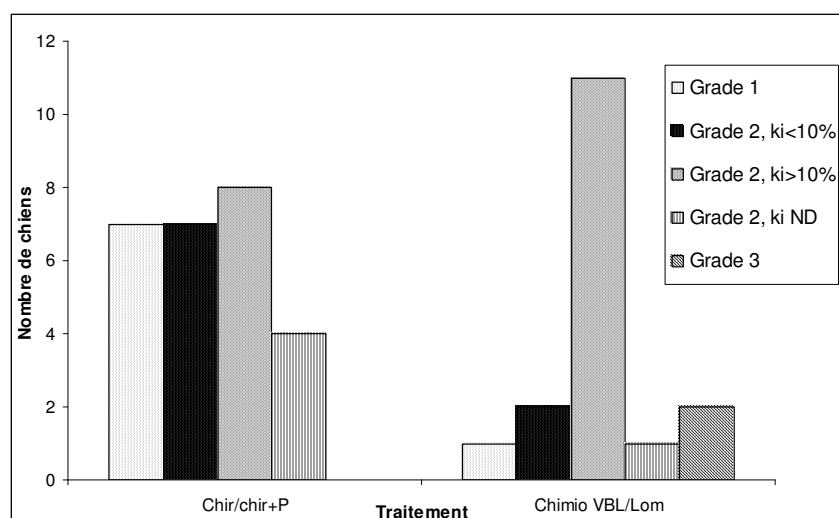


Fig. 7 : Traitement et grade histologique.

5) Résultats du bilan d'extension

Mastocytomes multicentriques

Onze chiens (23%) présentent plusieurs mastocytomes au moment de la première consultation.

Cinq chiens présentent deux mastocytomes, deux chiens présentent trois mastocytomes, deux chiens en présentent cinq, et deux chiens présentent de nombreuses masses.

Un des chiens présentant trois tumeurs n'a pas subi de chirurgie. Pour l'autre, les trois tumeurs sont de grade 2, Ki-67>10%. Sur les cinq chiens présentant deux mastocytomes, deux ont des mastocytomes de grades différents (grade 1 et grade 2), trois ont deux mastocytomes de grade 2, dont un avec des index Ki-67 différents.

Nœuds lymphatiques loco-régionaux

Trente deux chiens sur quarante huit ont fait l'objet d'une analyse cytologique ou histologique du nœud lymphatique de drainage de la tumeur. Sur ces 32 chiens, 17 (52%) ont un nœud lymphatique présentant des métastases. Pour les 16 chiens dont le nœud lymphatique n'a pas été analysé, deux ont été cytoponctionnés mais n'étaient pas conclusifs, les 14 autres n'ont pas été cytoponctionnés (Fig.8).

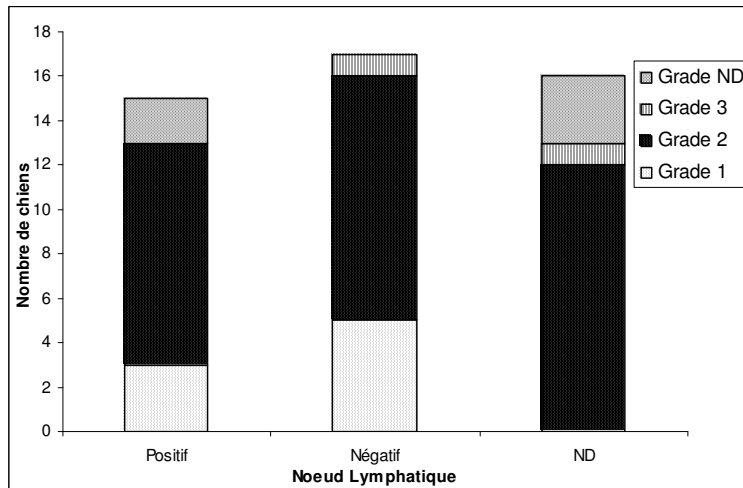


Fig. 8 : Infiltration des nœuds lymphatiques loco-regionaux.

Echographie abdominale

Tous les chiens de cette étude ont subi une échographie abdominale. Huit chiens présentent des images suspectes à l'échographie, dont six ont ensuite subi une cytoponction de foie /rate qui est revenue négative pour la présence de métastases. Les deux autres chiens n'ont pas subi de cytoponction : l'un est considéré comme présentant des métastases car le myélogramme et le buffy-coat étaient positifs aussi, l'autre est considéré comme négatif car il n'a pas présenté de récidives plus de deux ans après la chirurgie.

Examen du buffy-coat

Vingt-sept chiens sur 48 ont subi cet examen qui se révèle positif pour un seul chien, pour lequel la totalité du bilan d'extension est positif.

Cytoponction de foie et/ou de rate

Vingt et un chiens sur 48 ont subi une cytoponction du foie et/ou de la rate lors de leur première consultation. Une était positive au moment du diagnostic. Le chien est mort de sa tumeur 128 jours après le diagnostic sans avoir subi de chirurgie, ni aucun traitement. L'échographie abdominale de ce chien ne montrait rien d'anormal.

Examen du myélogramme

Trente neuf chiens sur 48 ont subi cet examen. Un seul présente une infiltration de la moelle osseuse, celui pour lequel tous les éléments du bilan d'extension sont positifs.

6) *Suivi*

Les chiens ont été suivis en moyenne pendant 744 jours, avec une médiane à 394 jours. Le chien qui a été suivi le plus longtemps l'a été pendant 2343 jours, le moins longtemps pendant 45 jours.

Récidives

Un chien présente une masse sur le flanc dont la nature est inconnue. Il est considéré comme ne présentant pas de récurrence.

Treize chiens sur 48 (27%) ont présenté des récurrences avant la fin de leur suivi : 5 chiens ont présenté une récurrence unique à distance du site de la première tumeur, 4 ont présenté des récurrences locales et 4 ont présenté des récurrences multicentriques.

Métastases

Sept chiens sur 48 (14,5%) ont développé des métastases de leur mastocytome alors que le premier bilan d'extension était négatif. Parmi ces chiens, 4 ont eu des métastases cantonnées au nœud lymphatique loco-régional et 3 ont eu des métastases à distance, atteignant le foie, la rate ou la moelle osseuse.

Décès

Deux chiens ont été perdus de vue et nous ne savons donc pas s'ils sont morts ou vivants. Ces deux chiens ne présentaient ni récurrences ni métastases lors de leur dernière consultation. Vingt-trois chiens sont morts à la fin du suivi, dont 10 (21%) des conséquences de leur mastocytomes et 13 pour d'autres raisons. Les 23 chiens restants (48%) étaient encore vivants (Fig.9).

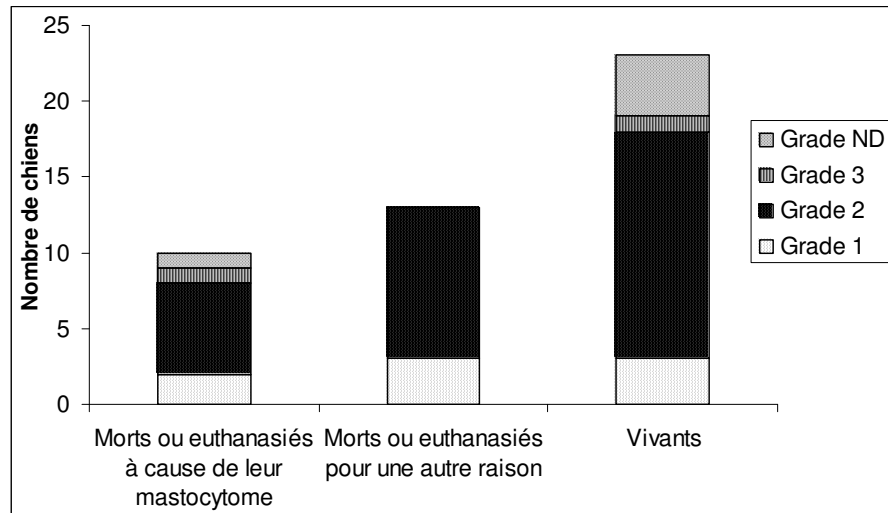


Fig. 9 : Devenir des chiens de l'étude.

7) *Facteurs pronostiques d'un bilan d'extension positif*

Toutes les données ont été analysées pour connaître la répartition des chiens selon les résultats du bilan d'extension. Les chiens ayant un élément du bilan d'extension positif sont considérés comme ayant un bilan d'extension positif.

Le sexe est significativement associé aux résultats du bilan d'extension ($p=0,007$). Les femelles ont 5,9 fois plus de risque dans cette étude d'avoir un bilan d'extension positif par rapport aux mâles (Fig.10).

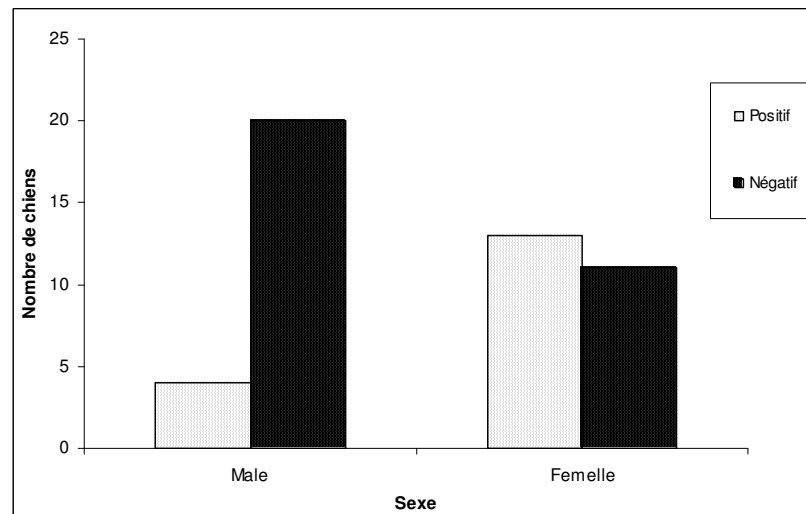


Fig. 10 : Sexe des chiens et bilan d'extension.

Bien qu'aucune association significative ne soit trouvée, les Labradors ont dans cette étude 4 fois moins de risque d'avoir un bilan d'extension positif par rapport aux autres races (Fig. 11).

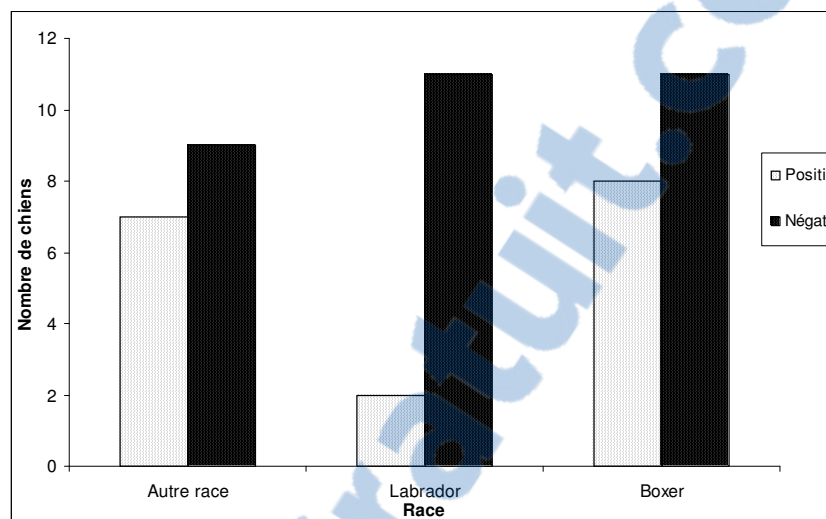


Fig. 11 : Race des chiens et bilan d'extension.

Aucune association n'a été trouvée entre l'âge des chiens au diagnostic et le résultat du bilan d'extension.

Les chiens ayant des tumeurs localisées au niveau des membres ont significativement plus de risque ($P=0,036$) d'avoir un bilan d'extension positif par rapport aux chiens ayant des mastocytomes au niveau génital/périnéal (Fig.12). Les chiens ayant des tumeurs multiples ont 2,7 fois plus de risque d'avoir un bilan d'extension positif par rapport aux chiens présentant des tumeurs isolées bien que la différence ne soit pas statistiquement significative ($p=0,14$) (Fig.13).

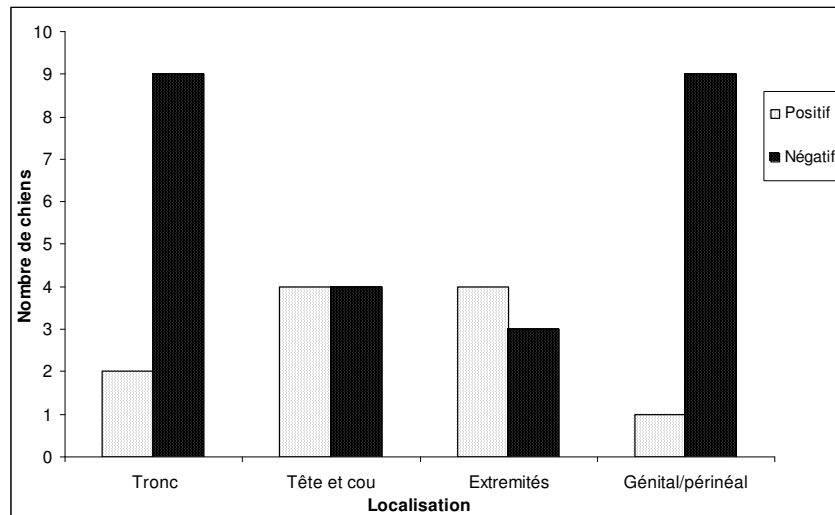


Fig. 12 : Localisation du mastocytome et bilan d'extension.

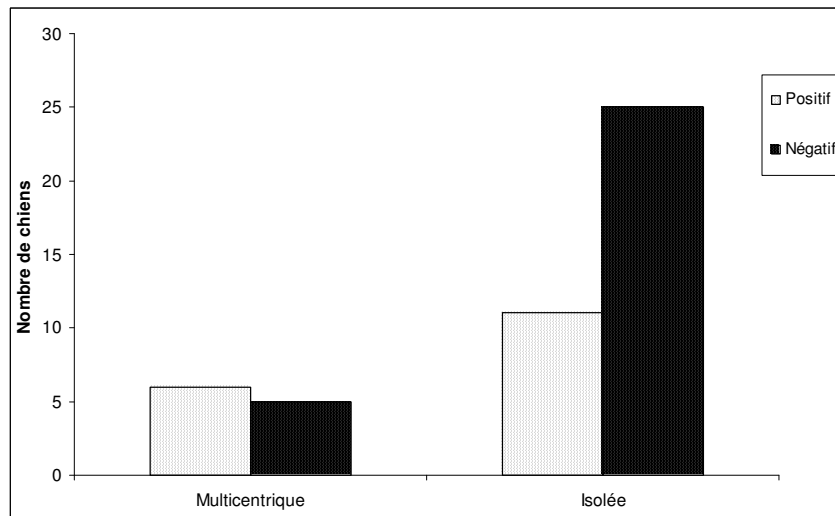


Fig. 13 : Forme multicentrique et bilan d'extension.

Aucune association significative n'est trouvée entre le résultat du bilan d'extension et le grade du mastocytome ($p=0,58$) (Fig.14) ou entre le résultat du bilan d'extension et la valeur de l'index Ki-67 ($p=0,55$) (Fig.15). Cependant, le statut des marges d'exérèse et le résultat du bilan d'extension sont significativement associés ($p=0,018$) : les chiens ayant un bilan d'extension positif ont 6 fois plus de risque d'avoir des marges d'exérèse infiltrées par des cellules tumorales (Fig.16).

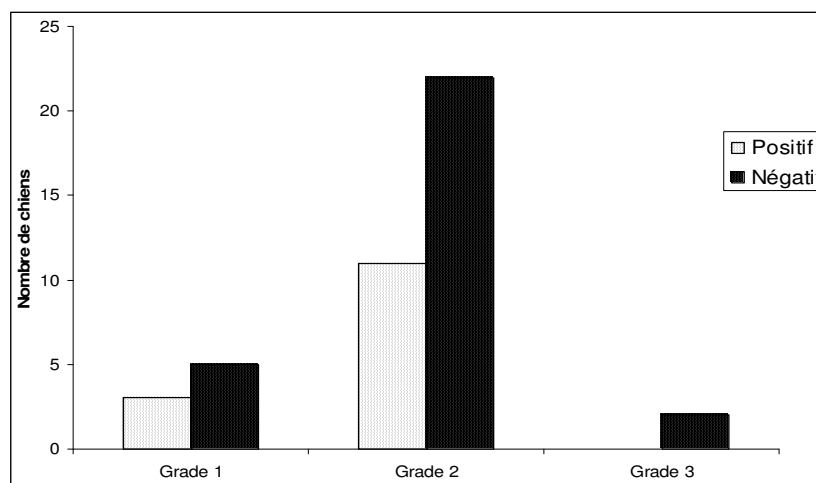


Fig. 14 : Grade du mastocytome et bilan d'extension.

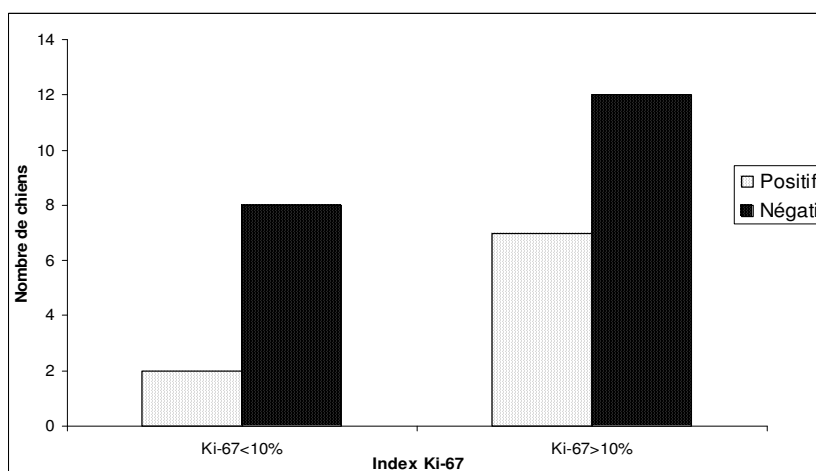


Fig. 15 : Index Ki-67 et bilan d'extension.

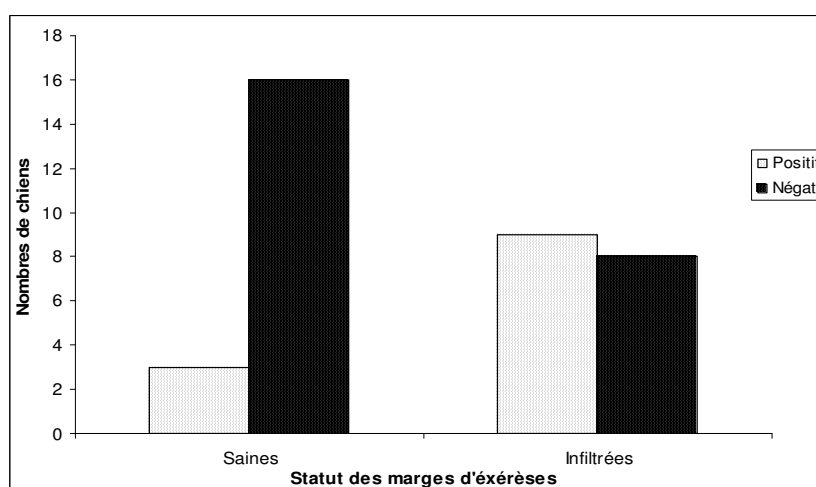


Fig. 16 : Marges d'exérèse et bilan d'extension



Enfin, aucune association n'est trouvée entre le traitement reçu par le chien et le résultat du bilan d'extension ($p=0,131$) (Fig.17).

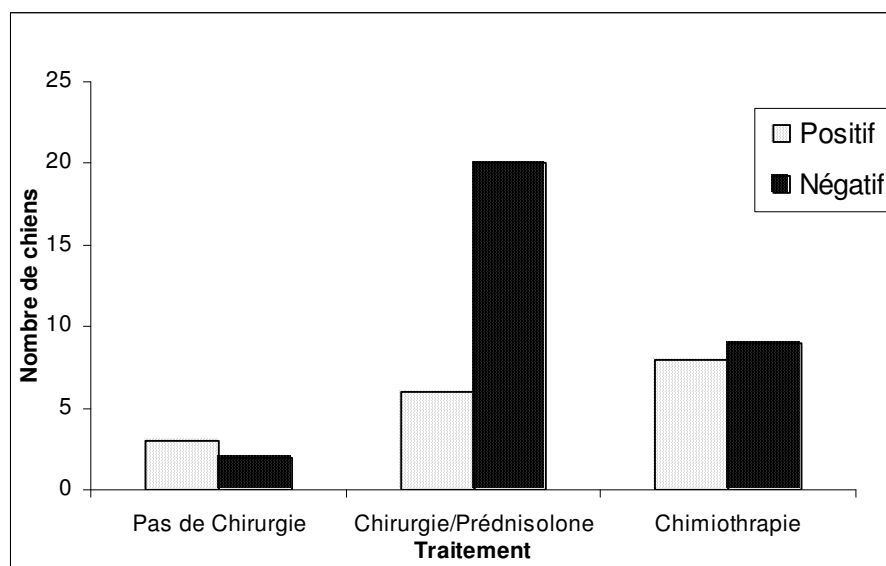


Fig. 17 : Traitements et bilan d'extension.

8) Facteurs pronostiques du mastocytome

Bilan d'extension et pronostic

Le pronostic des chiens est évalué à l'aide de deux indicateurs : la durée de survie et l'intervalle de rémission ou intervalle sans récurrence.

Aucune corrélation significative n'est trouvée entre les décès dus aux mastocytomes et le résultat du bilan d'extension ($p=0,28$) ou entre les chiens présentant des récurrences et le résultat du bilan d'extension ($p=0,343$). Les chiens ayant un bilan d'extension positif ont cependant 2,16 fois plus de risque de mourir de leur mastocytome et 1,8 fois plus de risque de présenter des récurrences par rapport aux chiens ayant un bilan d'extension négatif.

Les courbes de survie ont été établies par la méthode de Kaplan-Meier. La différence entre la courbe de survie de chiens ayant un bilan d'extension positif et celle des chiens ayant un bilan d'extension négatif n'est pas significative ($p=0,074$) (Fig.18).

Les chiens ayant un bilan d'extension négatif ($n=31$) ont une survie moyenne de 843 jours et ceux mourant de leur mastocytome ($n= 5$) meurent en moyenne au bout de 531 jours. Les chiens ayant un bilan d'extension positif ($n=17$) ont une survie moyenne de 562 jours, et ceux mourant de leur mastocytome ($n=5$) meurent en moyenne au bout de 430 jours.

La différence entre les courbes de récurrence n'est pas significative entre les chiens ayant un bilan d'extension positif et un bilan d'extension négatif ($p=0,48$) (Fig.19).

Autres facteurs pronostiques

Les autres facteurs pronostiques identifiés dans cette étude sont le nombre de tumeurs et le traitement. Les chiens ayant des tumeurs multicentriques ont 17 fois plus de risque de récurrence que les chiens présentant des tumeurs isolées ($P<0,0001$) (Fig.20).

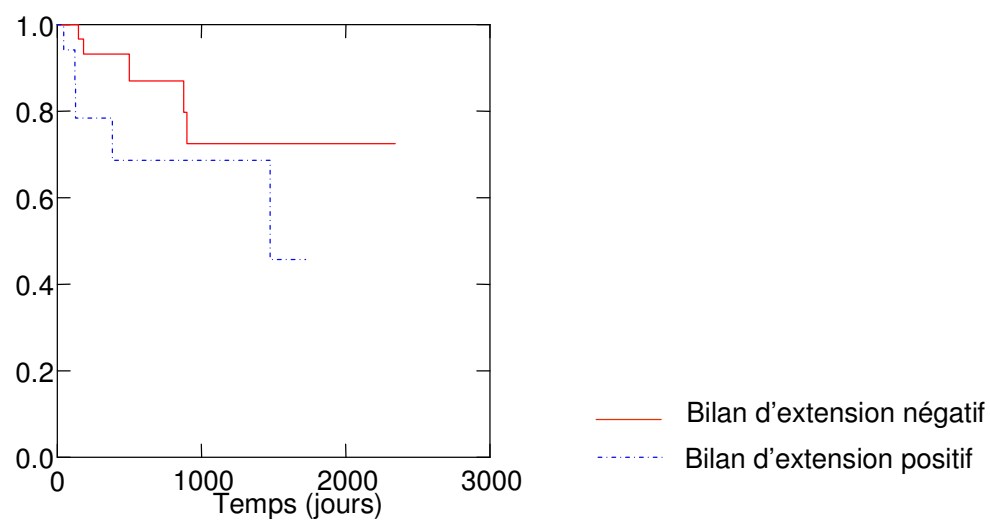


Fig. 18 : Courbe survie de Kaplan Meier montrant la durée de survie en fonction du bilan d'extension.

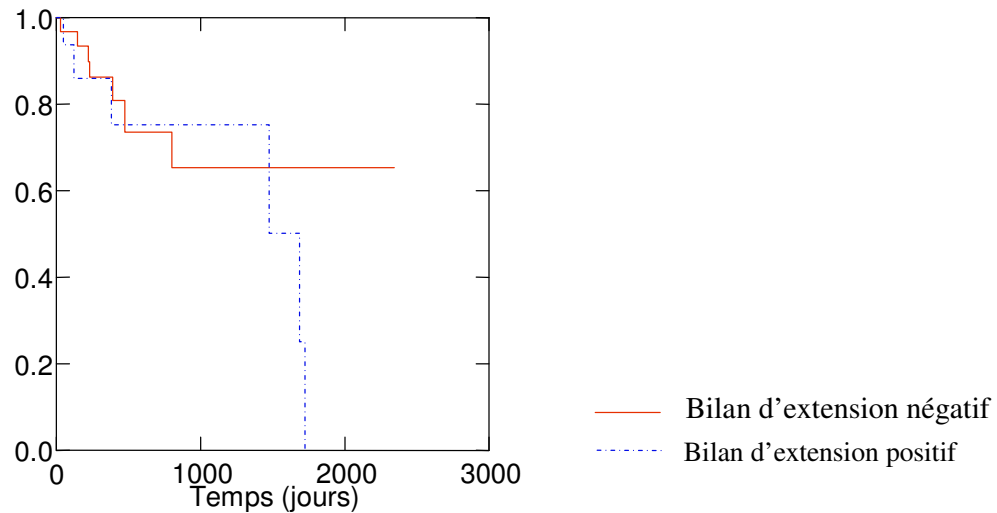


Fig. 19 : Courbe de récurrence en fonction du bilan d'extension

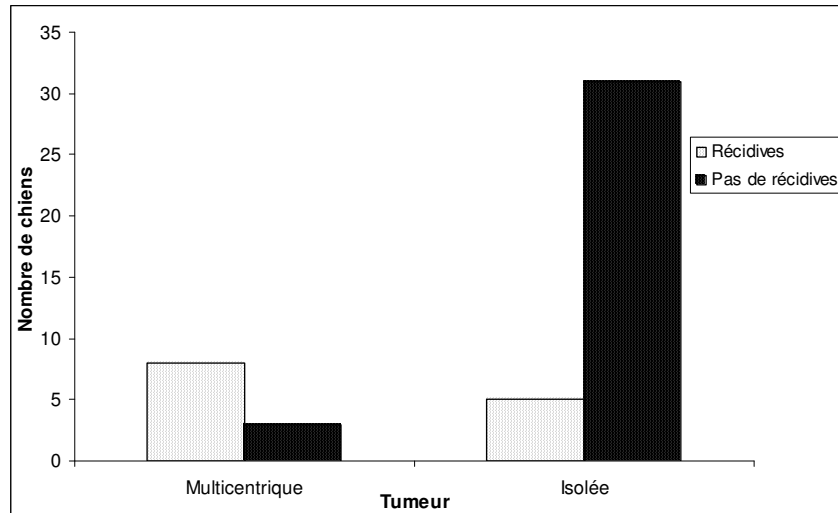


Fig. 20 : Forme multicentrique et pronostic

Les chiens ayant des marges d'exérèses infiltrées ont 3,3 fois plus de risque de récurrence et 4,6 fois plus de risque de décès que les chiens ayant des marges d'exérèses saines, et ce bien que la différence entre les groupes ne soit pas significative (Fig.21). Les chiens ayant reçu une chimiothérapie en complément de la chirurgie ont plus de risque de décès et de récurrences que ceux ayant eu une chirurgie simple (Fig.22).

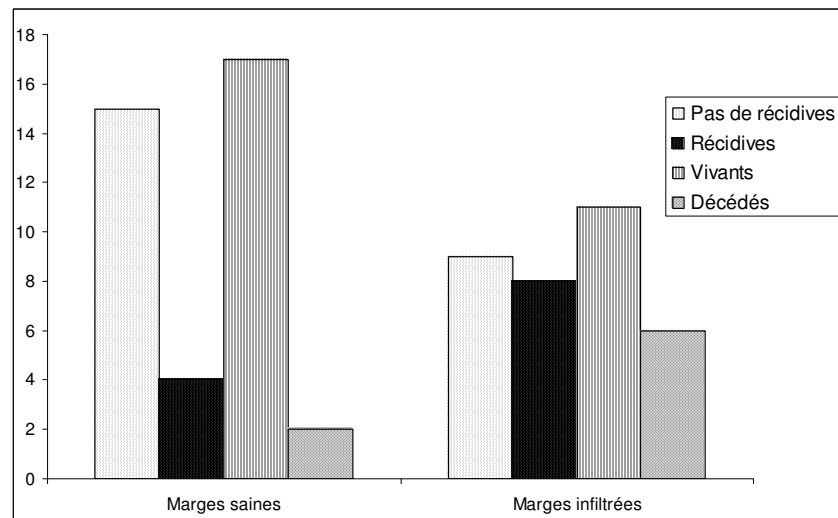


Fig. 21 : Marges d'exérèse et pronostic

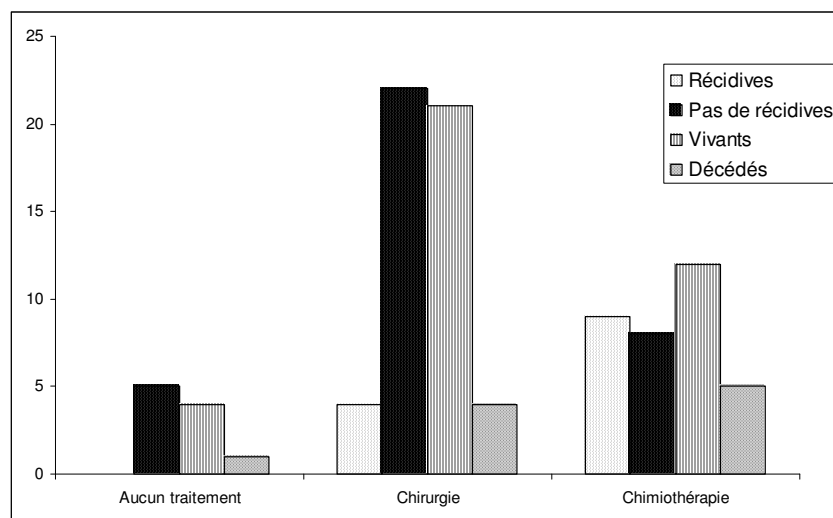


Fig. 22 : Traitement et pronostic

III. Discussion

Dans cette étude, la moyenne d'âge des chiens atteints de mastocytome (7,8 ans) concorde avec celle trouvée dans la littérature (entre 7 et 9 ans selon les études)(3, 12, 29, 34, 46, 48, 50, 74, 81, 85, 86, 89, 91, 107, 108). Aucune prédisposition de sexe n'est mise en évidence (2, 3, 34, 50, 108). Bien que nous ne possédions pas de données sur la population de référence des chiens présentés à l'ENVT pendant la période de l'étude, les races citées comme prédisposées dans d'autres articles sont également très représentées dans cette étude : Boxer et Labrador (12, 34, 37, 46, 48, 50, 62, 64, 81, 107, 113).

On peut remarquer dans cette étude une forte proportion de tumeur de grade 2 (77%) alors que les tumeurs de grade 3 ne représentent que 5%. Cette répartition est différente de celle habituellement rencontrée (43% de grade 2 et 20% de grade 3 dans l'étude de Patnaik *et al.* (74)), sans qu'aucun critère lors de la sélection des cas n'explique cette différence.

Le taux de tumeurs multicentriques de cette étude (23%) est dans la moyenne de ceux trouvés dans d'autres études : de 9% à 44% (29, 64, 77, 85, 89, 94).

De même, le taux de métastases au moment de la première consultation à l'ENVT (52% de métastases au niveau des NL et 4% de métastases à distance), le taux de récurrence (27%) et le nombre de décès dus à la tumeur (21%) sont en accord avec ceux trouvés dans d'autres études (2, 12, 46, 74, 76, 85, 86, 91).

Le but de cette étude était de déterminer si un bilan d'extension positif lors de la première consultation d'un chien était associé à un pronostic plus réservé qu'un bilan d'extension négatif. En effet, peu d'études se sont intéressées à cette question, bien que la classification des mastocytomes en différents stades cliniques soit l'une des plus controversée. Dans cette étude, la différence entre la survie ou l'apparition de récurrence des chiens ayant un bilan d'extension positif et ceux ayant un bilan d'extension négatif n'est pas significative. Cependant, les chiens ayant un bilan d'extension positif ont deux fois plus de chance de mourir de leur tumeur que ceux ayant un bilan d'extension négatif. On peut penser que l'absence de différence significative est due à la petite taille de l'échantillon. En effet, seuls dix chiens (les dix chiens mourant des suites de leur mastocytome) sont pris en compte lors de l'établissement des courbes de survie. Ces résultats vont dans le même sens que ceux de Murphy *et al.* (65) qui trouvent que bien que les chiens ayant des métastases au niveau des

NL ont un moins bon pronostic dans leur étude, 3 chiens sur 8 sont encore vivants à la fin du suivi.

Des relations entre le sexe de l'animal, le statut des marges d'exérèse, la localisation de la tumeur et le bilan d'extension sont également mises en évidence. Les femelles ont significativement plus de risque d'avoir un bilan d'extension positif. Ceci n'a été rapporté dans aucun article à ce sujet à notre connaissance, bien qu'une prédisposition des femelles à développer plus de formes multicentriques a été évoquée (64). Les chiens ayant un bilan d'extension positif ont également plus de risque d'avoir des marges d'exérèses de leur tumeur infiltrées par des mastocytes. Ceci pourrait indiquer que les tumeurs plus étendues localement ont plus de risque de disséminer de façon systémique. On peut cependant relier ceci à la localisation des tumeurs : en effet, les chiens ayant des tumeurs localisées au niveau des extrémités ont plus de risque dans cette étude d'avoir un bilan d'extension positif. Or il est plus difficile d'obtenir des marges d'exérèse saines lorsque les tumeurs sont localisées sur la tête ou les membres.

Aucun lien n'a été trouvé entre le résultat du bilan d'extension et le grade histologique du mastocytome. Ce résultat est à nuancer en raison du faible nombre de mastocytomes de grade 1 et 3. On peut remarquer que les deux mastocytomes de grade 3 de l'étude ont tous deux un bilan d'extension positif.

D'importantes limitations ont été rencontrées dans cette étude à cause de son caractère rétrospectif. De nombreuses informations sont absentes des dossiers des animaux, comme la taille des tumeurs ou leur localisation lors de tumeurs multicentriques. De même, le suivi téléphonique des cas manque également de précision : il est difficile d'obtenir des propriétaires une date ou une cause de décès précise. Certains chiens dans cette étude n'ont pas eu de cytoponction de leur nœud lymphatique ou celle-ci n'était pas conclusive. Dans la plupart des cas, le nœud lymphatique de drainage de la tumeur était intra thoracique ou intra abdominal, ou non hypertrophié et donc non ponctionnable.

Enfin, il est difficile dans certain cas d'être sûr de la cause du décès de l'animal. Certains propriétaires rapportent par téléphone que leur animal est mort « de vieillesse » et aucun examen post-mortem n'a été réalisé. Il est donc difficile d'être certain de l'absence de récurrences ou de métastases lors du décès de l'animal.

Un autre facteur pouvant biaiser les résultats obtenus dans cette étude, est la différence observée dans les traitements administrés aux chiens. Ainsi, certains chiens ont reçu plusieurs séances de chimiothérapie après chirurgie, alors que d'autres n'ont reçu aucun traitement.

Cependant, aucune corrélation statistique n'a été trouvée entre le bilan d'extension et le type de traitement reçu. Ceci nous indique que les chiens ayant un bilan d'extension positif n'ont pas reçu de traitement significativement plus agressif que ceux ayant un bilan d'extension négatif, probablement en raison d'une limite financière posée par le propriétaire. Ainsi, on peut penser que les différences de traitement ont finalement peu d'impact sur les résultats obtenus dans cette étude.

L'autre limite rencontrée dans cette étude concerne l'élaboration du bilan d'extension en lui-même. Celle-ci est en effet sujette à controverse. De nombreux examens sont utilisés pour l'établissement d'un bilan d'extension dans la littérature : cytoponction du nœud lymphatique loco-régional, examen du buffy-coat, radiographie thoracique, radiographie abdominale, échographie abdominale, cytoponction du foie et de la rate, examen de la moelle osseuse. Aucune radiographie n'a été prise durant cette étude, à cause du faible taux de métastases thoraciques rapporté dans la littérature. Le seul examen que tous les chiens aient ici subi est l'échographie abdominale.

L'examen des nœuds lymphatiques est un examen usuel, dans la mesure où les mastocytomes métastasent habituellement par voie lymphatique. Cependant, l'interprétation de la cytologie peut être difficile car des mastocytes peuvent être présents dans les nœuds lymphatiques d'animaux cliniquement sains. L'OMS propose de considérer comme infiltrés les nœuds lymphatiques dès qu'ils contiennent des mastocytes, d'autres proposent de ne considérer positifs que les nœuds lymphatiques où les mastocytes représentent plus de 3% de la population cellulaire (21). Cependant, même en utilisant ce critère, jusqu'à 25% des chiens sains seraient diagnostiqués comme ayant des métastases (11). Il a été avancé que l'utilisation de marquages immunohistochimiques, comme celui de la protéine Kit, permettrait de différencier des mastocytes résidants de mastocytes tumoraux dans les nœuds lymphatiques, la moelle osseuse et d'autres organes de chiens atteints de mastocytome (76). En effet, d'autres auteurs rapportent le même problème concernant les cytologies de foie et de rate : les chiens sains peuvent présenter des mastocytes dans le foie ou la rate, et la présence de ces cellules ne doit pas être considérée comme suffisante pour déterminer la présence de métastases (25).

Quant à l'examen du buffy-coat et de la moelle osseuse, certains auteurs avancent qu'il apparaît inutile car peu fiable (61) et très peu de chiens présentent des mastocytes circulants, bien que cela ait été reporté (70). L'étude de McManus *et al.* (61) indique que dans 95,5% des cas, la détection de mastocytes lors de l'examen du buffy-coat n'est pas due à un mastocytome. Même un grand nombre de mastocytes lors de cet examen ne permet pas de

conclure à un mastocytome. Les désordres les plus fréquents associés à des mastocytes circulants dans cette étude sont : maladie inflammatoire, nécrose, autres néoplasmes, traumatisme des tissus et anémie régénérative sévère. On doit donc s'assurer que le chien ne souffre d'aucun de ces désordres avant de prendre en compte le résultat du buffy-coat.

De même, l'examen échographique de la cavité abdominale peut ne présenter que peu d'intérêt puisque même lorsqu'il est infiltré par des mastocyte, le foie peut garder une apparence échographique normale (84). Ainsi, le seul chien de notre étude ayant une infiltration de la rate ne montrait aucune anomalie échographique.

Nous pouvons donc dire que les résultats d'un bilan d'extension ne sont pas infaillibles, et que tous les éléments de ce bilan doivent être analysés et pris en compte afin de déterminer la pertinence des résultats. Le marquage immunohistochimique des cytoponctions de nœud lymphatique, foie et rate permettrait de différencier des mastocytes normaux de mastocytes tumoraux et ainsi permettre l'établissement d'un bilan d'extension plus fiable.

CONCLUSION

Le mastocytome reste donc, malgré les progrès réalisés et les nombreuses études dont il fait l'objet, l'une des tumeurs les plus difficiles à cerner.

Les différents facteurs pronostiques identifiés ne font pas l'unanimité et tous les auteurs ne leur accordent pas la même valeur. L'examen histologique de la tumeur et l'établissement d'un grade reste à ce jour le meilleur moyen de prédire le devenir des chiens atteints de mastocytomes. On retiendra cependant l'intérêt croissant des nouvelles méthodes de marquage immunohistochimique dans la détermination d'un pronostic, et notamment de l'index Ki-67, bien que le manque de standardisation rende difficile la comparaison des différentes études sur le sujet.

L'établissement d'un bilan d'extension complet reste fondamental pour la mise en place d'un protocole thérapeutique, bien que cette étude ne réussisse pas à montrer qu'un bilan d'extension positif soit associé à un pronostic plus sombre.

Une amélioration pourrait être apportée par le marquage immunohistochimique des cytoponction de nœuds lymphatiques, de foie et de rate, permettant ainsi de différencier les mastocytes tumoraux des mastocytes résidants et l'établissement d'un bilan d'extension plus fiable.

AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, A. MILON, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que

Melle Florence POLLE

a été admis(e) sur concours en : 2002

a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 12 Juillet 2007

n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

Je soussignée, Catherine TRUMEL, Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
autorise la soutenance de la thèse de :

Melle Florence POLLE

intitulée :

« Pronostic du mastocytome cutané canin et bilan d'extension. Etude rétrospective »

Le Professeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Catherine TRUMEL



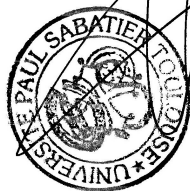
Vu :
Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Alain MILON



Vu :
Le Président de la thèse :
Professeur COURTADE SAIDI



Vu le : 30 AVR. 2008
Le Président
de l'Université Paul Sabatier
Professeur



BIBLIOGRAPHIE

1. **Abadie, J.J.** Les marqueurs de prolifération en oncologie vétérinaire, application à l'étude pronostique du mastocytome cutané canin. *Th. : Méd. Vet.*, Toulouse, 2001.
2. **Abadie, J.J. et al.** Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 in mast cell tumors from dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 215 (11): 1629-34 (1999).
3. **Al-Sarraf, R. et al.** A prospective study of radiation therapy for the treatment of grade 2 mast cell tumors in 32 dogs. *J Vet Intern Med.* 10 (6): 376-8 (1996).
4. **Allan, G.S. & Gillette, E.L.** Response of canine mast cell tumors to radiation. *J Natl Cancer Inst.* 63 (3): 691-4 (1979).
5. **Atkin, N.B. & Kay, R.** Prognostic significance of modal DNA value and other factors in malignant tumours, based on 1465 cases. *Br J Cancer.* 40 (2): 210-21 (1979).
6. **Aubele, M. et al.** Guidelines of AgNOR quantitation. Committee on AgNOR Quantitation within the European Society of Pathology. *Zentralbl Pathol.* 140 (1): 107-8 (1994).
7. **Auer, G. et al.** Prognostic significance of nuclear DNA content in mammary adenocarcinomas in humans. *Cancer Res.* 44 (1): 394-6 (1984).
8. **Ayl, R.D. et al.** Correlation of DNA ploidy to tumor histologic grade, clinical variables, and survival in dogs with mast cell tumors. *Vet Pathol.* 29 (5): 386-90 (1992).
9. **Bensignor, E.** Histopronostic et traitement des tumeurs cutanées du chien. Exemple du mastocytome. *Th. : Med. vet.*, Alfort, 1995.
10. **Bolon, B. et al.** Characteristics of canine melanomas and comparison of histology and DNA ploidy to their biologic behavior. *Vet Pathol.* 27 (2): 96-102 (1990).
11. **Bookbinder, P.F. et al.** Determination of the number of mast cells in lymph node, bone marrow, and buffy coat cytologic specimens from dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 200 (11): 1648-50 (1992).
12. **Bostock, D.E.** The prognosis following surgical removal of mastocytomas in dogs. *J Small Anim Pract.* 14 (1): 27-41 (1973).

13. **Bostock, D.E. et al.** Nucleolar organiser regions as indicators of post-surgical prognosis in canine spontaneous mast cell tumours. *Br J Cancer*. 59 (6): 915-8 (1989).
14. **Brown, D.C. & Gatter, K.C.** Ki67 protein: the immaculate deception? *Histopathology*. 40 (1): 2-11 (2002).
15. **Brugal, G.** Interpretation of proliferation markers. *Comp Cytol Histol Labor* (1994).
16. **Cahalane, A.K. et al.** Prognostic factors for survival of dogs with inguinal and perineal mast cell tumors treated surgically with or without adjunctive treatment: 68 cases (1994-2002). *J Am Vet Med Assoc*. 225 (3): 401-8 (2004).
17. **Cohen, D. et al.** Epidemiological analysis of the most prevalent sites and types of canine neoplasia observed in a veterinary hospital. *Cancer Res*. 34 (11): 2859-68 (1974).
18. **Coulson, P.B. et al.** Prognostic indicators including DNA histogram type, receptor content, and staging related to human breast cancer patient survival. *Cancer Res*. 44 (9): 4187-96 (1984).
19. **Delisle, F. & Devauchelle, P.** Le mastocytome. *Cobalt news*. 1: 1-2 (1991).
20. **Derenzini, M. et al.** Quantity of nucleolar silver-stained proteins is related to proliferating activity in cancer cells. *Lab Invest*. 63 (1): 137-40 (1990).
21. **Dobson, J.M. & Scase, T.J.** Advances in the diagnosis and management of cutaneous mast cell tumours in dogs. *J Small Anim Pract* (2007).
22. **Downing, S. et al.** Prevalence and importance of internal tandem duplications in exons 11 and 12 of c-kit in mast cell tumors of dogs. *Am J Vet Res*. 63 (12): 1718-23 (2002).
23. **Egan, M.J. et al.** Nucleolar organiser regions in fibrous proliferations of childhood and infantile fibrosarcoma. *J Clin Pathol*. 41 (1): 31-3 (1988).
24. **Ellis, P.S. & Whitehead, R.** Mitosis counting-a need for reappraisal. *Hum Pathol*. 12 (1): 3-4 (1981).
25. **Finora, k. et al.** Cytological comparison of fine-needle aspirates of liver and spleen of normal dogs and dogs with cutaneous mast cell tumours and an ultrasonographically normal appearing liver and spleen. *Veterinary and Comparative Oncology*. 4 (3): 178-183 (2006).
26. **Fox, L.E. et al.** Plasma histamine and gastrin concentrations in 17 dogs with mast cell tumors. *J Vet Intern Med*. 4 (5): 242-6 (1990).

27. **Freeman, J. et al.** Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and nucleolar organiser regions in Hodgkin's disease: correlation with morphology. *J Clin Pathol.* 46 (5): 446-9 (1993).
28. **Frimberger, A.E. et al.** Radiotherapy of incompletely resected, moderately differentiated mast cell tumors in the dog: 37 cases (1989-1993). *J Am Anim Hosp Assoc.* 33 (4): 320-4 (1997).
29. **Fulcher, R.P. et al.** Evaluation of a two-centimeter lateral surgical margin for excision of grade I and grade II cutaneous mast cell tumors in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 228 (2): 210-5 (2006).
30. **Furitsu, T. et al.** Identification of mutations in the coding sequence of the proto-oncogene c-kit in a human mast cell leukemia cell line causing ligand-independent activation of c-kit product. *J Clin Invest.* 92 (4): 1736-44 (1993).
31. **Garcia, R.L. et al.** Analysis of proliferative grade using anti-PCNA/cyclin monoclonal antibodies in fixed, embedded tissues. Comparison with flow cytometric analysis. *Am J Pathol.* 134 (4): 733-9 (1989).
32. **Gerdes, J.** Ki-67 and other proliferation markers useful for immunohistological diagnostic and prognostic evaluations in human malignancies. *Semin Cancer Biol.* 1 (3): 199-206 (1990).
33. **Gerritsen, R.J. et al.** Multi-agent chemotherapy for mast cell tumours in the dog. *Vet Q.* 20 (1): 28-31 (1998).
34. **Gieger, T.L. et al.** Biologic behavior and prognostic factors for mast cell tumors of the canine muzzle: 24 cases (1990-2001). *J Vet Intern Med.* 17 (5): 687-92 (2003).
35. **Ginn, P.E. et al.** Immunohistochemical detection of p53 tumor-suppressor protein is a poor indicator of prognosis for canine cutaneous mast cell tumors. *Vet Pathol.* 37 (1): 33-9 (2000).
36. **Goldschmidt, M.H. & Shofer, R.S.** *Skin tumors of the dog and cat.* oxford, Pergamon press, 1992.
37. **Hahn, K.A. et al.** Efficacy of radiation therapy for incompletely resected grade-III mast cell tumors in dogs: 31 cases (1987-1998). *J Am Vet Med Assoc.* 224 (1): 79-82 (2004).
38. **Hall, P.A. & Levison, D.A.** Review: assessment of cell proliferation in histological material. *J Clin Pathol.* 43 (3): 184-92 (1990).

39. **Hall, P.A. et al.** Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunolocalization in paraffin sections: an index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms. *J Pathol.* 162 (4): 285-94 (1990).
40. **Hellmen, E. et al.** Comparison of histology and clinical variables to DNA ploidy in canine mammary tumors. *Vet Pathol.* 25 (3): 219-26 (1988).
41. **Herman, L.H. et al.** Malignant mastocytoma in a dog. *J Am Vet Med Assoc.* 151 (10): 1322-4 (1967).
42. **Hottendorf, G.H. & Nielsen, S.W.** Pathologic report of 29 necropsies on dogs with mastocytoma. *Pathol Vet.* 5 (2): 102-21 (1968).
43. **Hottendorf, G.H. & Nielsen, S.W.** Canine mastocytoma--a review of clinical aspects. *J Am Vet Med Assoc.* 154 (8): 917-24 (1969).
44. **Hung, L.C. et al.** An improved system for quantifying AgNOR and PCNA in canine tumors. *Anticancer Res.* 20 (5A): 3273-80 (2000).
45. **Ishiguro, T. et al.** Relationship of disease progression and plasma histamine concentrations in 11 dogs with mast cell tumors. *J Vet Intern Med.* 17 (2): 194-8 (2003).
46. **Jaffe, M.H. et al.** Immunohistochemical and clinical evaluation of p53 in canine cutaneous mast cell tumors. *Vet Pathol.* 37 (1): 40-6 (2000).
47. **Kitayama, H. et al.** Constitutively activating mutations of c-kit receptor tyrosine kinase confer factor-independent growth and tumorigenicity of factor-dependent hematopoietic cell lines. *Blood.* 85 (3): 790-8 (1995).
48. **Kiupel, M. et al.** Impact of tumour depth, tumour location and multiple synchronous masses on the prognosis of canine cutaneous mast cell tumours. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* 52 (6): 280-6 (2005).
49. **Kravis, L.D. et al.** Frequency of argyrophilic nucleolar organizer regions in fine-needle aspirates and biopsy specimens from mast cell tumors in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 209 (8): 1418-20 (1996).
50. **LaDue, T. et al.** Radiation therapy for incompletely resected canine mast cell tumors. *Vet Radiol Ultrasound.* 39 (1): 57-62 (1998).
51. **Langenbach, A. et al.** Sensitivity and specificity of methods of assessing the regional lymph nodes for evidence of metastasis in dogs and cats with solid tumors. *J Am Vet Med Assoc.* 218 (9): 1424-8 (2001).
52. **Larsen, A.E. & Grier, R.L.** Evaluation of canine mast cell tumors for presence of estrogen receptors. *Am J Vet Res.* 50 (10): 1779-80 (1989).

53. **London, C.A. et al.** Spontaneous canine mast cell tumors express tandem duplications in the proto-oncogene c-kit. *Exp Hematol.* 27 (4): 689-97 (1999).
54. **London, C.A. & Seguin, B.** Mast cell tumors in the dog. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 33 (3): 473-89, v (2003).
55. **Ma, Y. et al.** Clustering of activating mutations in c-KIT's juxtamembrane coding region in canine mast cell neoplasms. *J Invest Dermatol.* 112 (2): 165-70 (1999).
56. **Macy, D.W. & MacEwen, E.G.** Mast cell tumors. In: Co., J.B.L., ed. *Withrow, S.J., MacEwen, E.G.: Veterinary oncology.* Philadelphia, 1989, pp. 156-165.
57. **Madewell, B.R. et al.** DNA flow cytometric study of the hyperplastic and neoplastic canine prostate. *Prostate.* 18 (2): 173-9 (1991).
58. **Magnol, J.-P. et al.** *Cancérologie clinique du chien*, 1998.
59. **Magnol, J.-P. & Toulemonde, N.** Histopronostic du mastocytome cutané canin. Validité du grading de Patnaik. *Revue de médecine vétérinaire.* 138: 125-129 (1987).
60. **McCaw, D.L. et al.** Response of canine mast cell tumors to treatment with oral prednisone. *J Vet Intern Med.* 8 (6): 406-8 (1994).
61. **McManus, P.M.** Frequency and severity of mastocytemia in dogs with and without mast cell tumors: 120 cases (1995-1997). *J Am Vet Med Assoc.* 215 (3): 355-7 (1999).
62. **Michels, G.M. et al.** Prognosis following surgical excision of canine cutaneous mast cell tumors with histopathologically tumor-free versus nontumor-free margins: a retrospective study of 31 cases. *J Am Anim Hosp Assoc.* 38 (5): 458-66 (2002).
63. **Misdorp, W.** Incomplete surgery, local immunostimulation, and recurrence of some tumour types in dogs and cats. *Vet Q.* 9 (3): 279-86 (1987).
64. **Mullins, M.N. et al.** Evaluation of prognostic factors associated with outcome in dogs with multiple cutaneous mast cell tumors treated with surgery with and without adjuvant treatment: 54 cases (1998-2004). *J Am Vet Med Assoc.* 228 (1): 91-5 (2006).
65. **Murphy, S. et al.** Effects of stage and number of tumours on prognosis of dogs with cutaneous mast cell tumours. *Vet Rec.* 158 (9): 287-91 (2006).
66. **Murphy, S. et al.** Relationships between the histological grade of cutaneous mast cell tumours in dogs, their survival and the efficacy of surgical resection. *Vet Rec.* 154 (24): 743-6 (2004).
67. **Nielsen, S.W. & Cole, C.R.** Canine mastocytoma; a report of one hundred cases. *Am J Vet Res.* 19 (71): 417-32 (1958).
68. **Northrup, N.C. et al.** Variation among pathologists in histologic grading of canine cutaneous mast cell tumors. *J Vet Diagn Invest.* 17 (3): 245-8 (2005).

69. **O'Keefe, D.A.** Canine mast cell tumors. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 20 (4): 1105-15 (1990).
70. **O'Keefe, D.A. et al.** Systemic mastocytosis in 16 dogs. *J Vet Intern Med.* 1 (2): 75-80 (1987).
71. **Ofner, D. et al.** Relationship between quantity of silver stained nucleolar organizer regions associated proteins (Ag-NORs) and population doubling time in ten breast cancer cell lines. *Pathol Res Pract.* 188 (6): 742-6 (1992).
72. **Ogura, S. et al.** Correlation between nucleolar organizer regions visualized by silver staining and the growth rate in lung adenocarcinoma. *Cancer.* 70 (1): 63-8 (1992).
73. **Owen, L.** TNM Classification of Tumor in Domestic Animals. Geneva, World Health Organization, 1980.
74. **Patnaik, A.K. et al.** Canine cutaneous mast cell tumor: morphologic grading and survival time in 83 dogs. *Vet Pathol.* 21 (5): 469-74 (1984).
75. **Peters, J.A.** Canine mastocytoma: excess risk as related to ancestry. *J Natl Cancer Inst.* 42 (3): 435-43 (1969).
76. **Preziosi, R. et al.** Expression of the KIT protein (CD117) in primary cutaneous mast cell tumors of the dog. *J Vet Diagn Invest.* 16 (6): 554-61 (2004).
77. **Preziosi, R. et al.** Multivariate survival analysis of histological parameters and clinical presentation in canine cutaneous mast cell tumours. *Vet Res Commun.* 31 (3): 287-96 (2007).
78. **Quinn, C.M. & Wright, N.A.** The clinical assessment of proliferation and growth in human tumours: evaluation of methods and applications as prognostic variables. *J Pathol.* 160 (2): 93-102 (1990).
79. **Reguera, M.J. et al.** Canine mast cell tumors express stem cell factor receptor. *Am J Dermatopathol.* 22 (1): 49-54 (2000).
80. **Rogers, K.S.** Mast cell tumors: dilemmas of diagnosis and treatment. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 26 (1): 87-102 (1996).
81. **Romansik, E.M. et al.** Mitotic index is predictive for survival for canine cutaneous mast cell tumors. *Vet Pathol.* 44 (3): 335-41 (2007).
82. **Ruschoff, J.** [Nucleolus organizer regions in pathomorphologic tumor diagnosis]. *Veroff Pathol.* 139: 1-144 (1992).
83. **Sagartz, J.E. et al.** p53 tumor suppressor protein overexpression in osteogenic tumors of dogs. *Vet Pathol.* 33 (2): 213-21 (1996).

84. **Sato, A.F. & Solano, M.** Ultrasonographic findings in abdominal mast cell disease: a retrospective study of 19 patients. *Vet Radiol Ultrasound*. 45 (1): 51-7 (2004).
85. **Scase, T.J. et al.** Canine mast cell tumors: correlation of apoptosis and proliferation markers with prognosis. *J Vet Intern Med*. 20 (1): 151-8 (2006).
86. **Seguin, B. et al.** Recurrence rate, clinical outcome, and cellular proliferation indices as prognostic indicators after incomplete surgical excision of cutaneous grade II mast cell tumors: 28 dogs (1994-2002). *J Vet Intern Med*. 20 (4): 933-40 (2006).
87. **Seguin, B. et al.** Clinical outcome of dogs with grade-II mast cell tumors treated with surgery alone: 55 cases (1996-1999). *J Am Vet Med Assoc*. 218 (7): 1120-3 (2001).
88. **Serve, H. et al.** Differential roles of PI3-kinase and Kit tyrosine 821 in Kit receptor-mediated proliferation, survival and cell adhesion in mast cells. *Embo J*. 14 (3): 473-83 (1995).
89. **Sfiligoi, G. et al.** Outcome of dogs with mast cell tumors in the inguinal or perineal region versus other cutaneous locations: 124 cases (1990-2001). *J Am Vet Med Assoc*. 226 (8): 1368-74 (2005).
90. **Siitonen, S.M. et al.** Proliferating cell nuclear antigen immunohistochemistry using monoclonal antibody 19A2 and a new antigen retrieval technique has prognostic impact in archival paraffin-embedded node-negative breast cancer. *Am J Pathol*. 142 (4): 1081-9 (1993).
91. **Simoës, J.P. et al.** Prognosis of canine mast cell tumors: a comparison of three methods. *Vet Pathol*. 31 (6): 637-47 (1994).
92. **Simpson, A.M. et al.** Evaluation of surgical margins required for complete excision of cutaneous mast cell tumors in dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 224 (2): 236-40 (2004).
93. **Strefezzi Rde, F. et al.** Morphometry of canine cutaneous mast cell tumors. *Vet Pathol*. 40 (3): 268-75 (2003).
94. **Thamm, D.H. et al.** Prednisone and vinblastine chemotherapy for canine mast cell tumor--41 cases (1992-1997). *J Vet Intern Med*. 13 (5): 491-7 (1999).
95. **Thinet.** Intérêts diagnostique et pronostique de la détection immunohistochimique du produit d'expression du proto-oncogène c-kit dans les tumeurs cutanées à mastocytes du chien et du chat. Nantes, 2004.
96. **Trere, D.** AgNOR staining and quantification. *Micron*. 31 (2): 127-31 (2000).
97. **Trere, D. et al.** The silver-stained proteins of interphasic nucleolar organizer regions as a parameter of cell duplication rate. *Exp Cell Res*. 184 (1): 131-7 (1989).

98. **Trere, D. et al.** AgNOR protein expression and tumor growth rate of human carcinoma xenografts growing subcutaneously in nude mice. *Eur J Histochem.* 41 Suppl 2: 153-4 (1997).
99. **Tsujimura, T. et al.** Ligand-independent activation of c-kit receptor tyrosine kinase in a murine mastocytoma cell line P-815 generated by a point mutation. *Blood.* 83 (9): 2619-26 (1994).
100. **Tsujimura, T. et al.** Substitution of an aspartic acid results in constitutive activation of c-kit receptor tyrosine kinase in a rat tumor mast cell line RBL-2H3. *Int Arch Allergy Immunol.* 106 (4): 377-85 (1995).
101. **Tsujimura, T. et al.** Constitutive activation of c-kit in FMA3 murine mastocytoma cells caused by deletion of seven amino acids at the juxtamembrane domain. *Blood.* 87 (1): 273-83 (1996).
102. **Turin, L. et al.** Expression of c-kit proto-oncogene in canine mastocytoma: a kinetic study using real-time polymerase chain reaction. *J Vet Diagn Invest.* 18 (4): 343-9 (2006).
103. **Turrel, J.M. et al.** Prognostic factors for radiation treatment of mast cell tumor in 85 dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 193 (8): 936-40 (1988).
104. **Vail, D.M.** Mast Cell Tumors. In: Withrow, S.J. & McEwen, E.G., eds. *Small Animal Oncology*, 2 ed. Philadelphia, W.B. Saunders, 1995, pp. 192-210.
105. **Volante, M. et al.** Prognostic factors of clinical interest in poorly differentiated carcinomas of the thyroid. *Endocr Pathol.* 15 (4): 313-7 (2004).
106. **Webster, J.D. et al.** The use of KIT and tryptase expression patterns as prognostic tools for canine cutaneous mast cell tumors. *Vet Pathol.* 41 (4): 371-7 (2004).
107. **Webster, J.D. et al.** Cellular proliferation in canine cutaneous mast cell tumors: associations with c-KIT and its role in prognostication. *Vet Pathol.* 44 (3): 298-308 (2007).
108. **Weisse, C. et al.** Recurrence rates and sites for grade II canine cutaneous mast cell tumors following complete surgical excision. *J Am Anim Hosp Assoc.* 38 (1): 71-3 (2002).
109. **Wolf, J.C. et al.** Immunohistochemical detection of p53 tumor suppressor gene protein in canine epithelial colorectal tumors. *Vet Pathol.* 34 (5): 394-404 (1997).
110. **Wong, N.A. et al.** Prognostic indicators for gastrointestinal stromal tumours: a clinicopathological and immunohistochemical study of 108 resected cases of the stomach. *Histopathology.* 43 (2): 118-26 (2003).

111. **Yu, C.C. et al.** A comparison of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunostaining, nucleolar organizer region (AgNOR) staining, and histological grading in gastrointestinal stromal tumours. *J Pathol.* 166 (2): 147-52 (1992).
112. **Zavodovskaya, R. et al.** Use of kit internal tandem duplications to establish mast cell tumor clonality in 2 dogs. *J Vet Intern Med.* 18 (6): 915-7 (2004).
113. **Zemke, D. et al.** Mutations in the juxtamembrane domain of c-KIT are associated with higher grade mast cell tumors in dogs. *Vet Pathol.* 39 (5): 529-35 (2002).

ANNEXES

Annexe 1 :

Fiche de suivi d'un animal

Etiquette de l'animal

L'animal

- Nom de l'animal :
- Date de naissance :
- Sexe : ☐ Male ☐ Femelle ☐ Stérilisé(e)
- Age à l'apparition de la tumeur :
- Race :

La tumeur

- Localisation :
- Taille :
- Aspect :

Le bilan d'extension

Positif pour :

- ☐ Nœuds lymphatiques loco-régionaux
- Aspect échographique : ☐ foie ☐ rate ☐ nœuds lymphatiques
- Cytoponction : ☐ foie ☐ rate
- ☐ Myélogramme

L'analyse histologique

- Grade :
- Valeur de l'index Ki-67 :
- Infiltration des marges : ☐ Saines ☐ Infiltrées

Autres tumeurs présentes

Traitements

Suivi

- Récidives : ☐ Oui ☐ Non
 - Date :
 - Traitement :
- Métastases : ☐ Oui ☐ Non
 - Organes touchés :
 - Date :
- Décès : ☐ Oui ☐ Non
 - Cause :
 - Date :

Annexe 2 :

Questionnaire de suivi

Historique :

Etiquette de l'animal

Appel	Date	Heure	Réponse
1			
2			
3			
4			

☐ Y a-t-il eu des récurrences : (sur le site de chirurgie ou à proximité)

☐ **Oui**

☐ **Non**

☐ Date d'apparition :

☐ Traitement des récurrences :

☐ Y a-t-il eu des métastases :

☐ **Oui**

☐ **Non**

☐ Date d'apparition :

☐ Y a-t-il eu de nouvelles tumeurs :

☐ **Oui**

☐ **Non**

☐ De quelle nature :

☐ Le chien est-il toujours vivant :

☐ **Oui**

☐ **Non**

☐ Date et cause de la mort :

Annexe 3 : Données de l'étude

	Age	Race	Sexe	Localisation	Résultat du bilan d'extension					Analyse histologique			Suivi					
					NL	Buffy-coat	Echographie abdominale	Cytoponction Foie/Rate	Myelogramme	Grade	X 67	Marges d'exérèse	Traitement	Récidive	Intervalle sans récurrences	Métastases	Decès	Survie
1	10,5	Golden Retriever	F St	Thorax, AG, Inguinal	Positif	ND	Négatif	Négatif	ND	2	>10%	Infiltrées	VBL/P	Oui	49	Non	Adénocarcinome gastrique	99
2	8,5	abrador	F	Oreille droite	ND	ND	Négatif	Négatif	ND	2	ND	Saines		Non	392	Non	Non	392
3	6,5	Labrador	F St	Mandibule gauche	Positif	ND	Négatif	Négatif	Négatif	2	>10%	Infiltrées		Non	86	Non	Non	86
4	7	Labrador	M	Flanc gauche	ND	ND	Négatif	Négatif	Négatif	2	>10%	Saines		Non	82	Non	Non	82
5	11,5	Croisé	F	Flanc droit	ND	ND	Douteux	Négatif	Négatif	2	>10%	Saines	Prédnisolone	Multi	475	Oui NL	Tumeur	900
6	11	Labrador	M	Scrotum	ND	ND	Négatif	Négatif	Négatif	2	<10%	Saines		Non	170	Non	Non	170
7	2,5	Croisé	M	Ars gauche	Positif	ND	Négatif	Négatif	Négatif	2	>10%	Saines	VBL/P	Non	352	Non	Non	352
8	9	Labrador	M	AG	ND	ND	Douteux	Négatif	Négatif	2	<10%	Infiltrées	Prédnisolone	? Flanc	254	Non	Non	254
9	5,5	Boxer	M	Cuisse D	NC	ND	Négatif	ND	Négatif	2	>10%	Saines	VBL/P	Oui	390	Oui NL	Non	705
10	2,5	Croisé	M	Flanc droit	ND	ND	Négatif	Négatif	Négatif	3	>10%	Saines	VBL/P	Non	374	Non	Non	374
11	6,5	Boxer	M	Scrotum	ND	ND	Douteux	Négatif	Négatif	2	<10%	Saines		Non	433	Non	Non	433
12	7	Labrador	M	Scrotum, Thorax	NC	ND	Négatif	Négatif	NC	2	>10%	Saines	VBL/P	Non	315	Non	Non	315
13	8	Rottweiler	F	Mamelle	ND	ND	Négatif	Négatif	Négatif	2	>10%	Saines	VBL/P	Non	393	Non	Non	393
14	6,5	Boxer	M	Scrotum	ND	ND	Négatif	Négatif	Négatif	2	>10%	Saines		Non	433	Non	Non	433
15	6,5	Labrador	M	Multicentrique	ND	ND	Négatif	Négatif	Négatif	2	>10%	ND	VBL/P, lomustine	Oui	222	Oui NL, foie, rate	Tumeur	876
17	9	Boxer	F St	AD	Positif	ND	Négatif	Négatif	Négatif	2	>10%	Saines	VBL/P	Non	840	Non	Non	840
16	11	Caniche	F St	Cou	Positif	ND	Négatif	Négatif	Négatif	ND	ND	ND	Pas de chirurgie	Non	77	Non	Non	77
18	6,5	Sharpei	F	Paupière	ND	ND	Négatif	Positif	Négatif	ND	ND	ND	Pas de chirurgie	Non	128	Non	Tumeur	128
19	5,5	Labrador	M	Poitrail	ND	ND	Négatif	Négatif	Négatif	ND	ND	ND	Pas de chirurgie	Non	299	Non	Non	299
20	9,5	Labrador	F St	Thorax, Abdomen	ND	ND	Douteux	Négatif	ND	ND	ND	ND	Pas de chirurgie	Non	299	Non	Non	299
21	6,5	Boxer	F	PD	Positif	ND	Négatif	Négatif	Négatif	ND	ND	ND	Pas de chirurgie	Non	247	Non	Non	247
22	5,5	Boxer	M	Scrotum	Négatif	Négatif	Négatif	ND	ND	1	ND	Saines		Non	500	?	Tumeur	500

23	7	Boxer	F	Vulve, mamelle	Positif	Négatif	Négatif	ND	Négatif	2	>10%	Infiltrées	VBL/P	Non	1177	Non	Carcinome mammaire	1177
24	6,5	Labrador	F	Base queue	Négatif	Négatif	Négatif	ND	Négatif	1	ND	Saines		Non	2158	Non	Non	2158
25	6,5	Boxer	M	Joue, scrotum	Négatif	Négatif	Négatif	ND	Négatif	2	<10%	Infiltrées	VBL/P	locale	800		Perdu de vue	800
26	3,5	Shi-tzu	M	Abdomen, pattes, dos	Négatif	Négatif	Négatif	ND	ND	2	>10%	Infiltrées		Multi	28	Non	Non	1897
27	8,5	Boxer	M	Scrotum	Négatif	Négatif	Négatif	ND	Négatif	2	>10%	Infiltrées	Prédnisolone	Non	1455	Non	Ostéosarcome	1455
28	7	Setter	F	Thorax	Négatif	Négatif	Négatif	ND	Négatif	1	<10%	Infiltrées		Non	1083	Non	Métastases tumeurs mammaires	1083
29	10	Berger Belge	M	Scrotum	Négatif	Négatif	Négatif	ND	ND	2	>10%	ND		Non	275		Euth	275
30	7	Boxer	M	Cou	Négatif	Négatif	Négatif	ND	Négatif	1	ND	Saines	VBL/P	Multi	231	Oui NL	Non	1771
31	11,5	E.breton	F St	JCM buccale	Négatif	Négatif	Négatif	ND	Négatif	2	<10%	Infiltrées		Non	183	Oui NL	Tumeur	183
32	11,5	E.breton	F	Dos	Positif	Négatif	Négatif	ND	Négatif	2	<10%	ND		Non	88		Euth	88
33	11	Labrador	F St	Flanc antérieur	Négatif	Négatif	Négatif	ND	Négatif	2	>10%	ND	VBL/P	Non	244		Euth	244
34	10	Boxer	F	Face	Positif	Négatif	Négatif	ND	Négatif	2	ND	Infiltrées	VBL/P	Oui	1475	Oui Rate	Tumeur	1475
35	5	Doberman	F St	Postérieur	Positif	Positif	Positif	ND	Positif	2	>10%	Infiltrées	VBL/P	Non	45		Tumeur	45
36	12	Caniche	M	Cuisse G	Négatif	Négatif	Négatif	ND	ND	3	ND	Infiltrées	VBL/P	Oui	147	Oui	Tumeur	147
37	8	Boxer	F	Cou	Négatif	Négatif	Négatif	ND	Négatif	2	<10%	Saines		Non	362	Non	Perdu de vue	362
38	12	Boxer	M	Scrotum	Positif	Négatif	Négatif	ND	ND	2	ND	Infiltrées		Non	640		Euth	640
39	9	Boxer	M	Auge (2), cou, dos	Positif	Négatif	Négatif	ND	ND	1	<10%	Infiltrées	Prédnisolone	Multi	1723	Non	Vieillesse	1723
40	9,5	Setter	M	Base fourreau	Négatif	Négatif	Négatif	ND	Négatif	2	<10%	ND	Prédnisolone	Non	2134	Non	Vieillesse	2134
41	4	Boxer	M		Négatif	Négatif	Négatif	ND	Négatif	1	ND	Saines		Non	2343	Non	Non	2343
42	8	Boxer	M	Flanc gauche	Positif	Négatif	Négatif	ND	Négatif	1	ND	ND		Non	395		Mort	395
43	8,5	Boxer	F	Grasset, thorax	Positif	Négatif	Négatif	ND	Négatif	1	ND	Infiltrées		locale	382	?	Tumeur	382
44	7	Pointer	F	Partout	Positif	Négatif	Négatif	ND	Négatif	2	>10%	Infiltrées	VBL/P	locale	122		Tumeur	122
45	5	Boxer	F	Dos	Négatif	Négatif	Négatif	ND	Négatif	2	>10%	Infiltrées	Prédnisolone	Non	1705	Non	Non	1705
46	10	Labrador	M	Mamelle	Négatif	Négatif	Négatif	ND	Négatif	2	<10%	Saines	Prédnisolone	Non	2142	Non	Non	2142
47	8,5	Labrador	F	Postérieur D, mamelle	Positif	Négatif	Négatif	ND	Négatif	2	<10%	Saines	VBL/P	locale	1687	Non	Mort	1687
48	6,5	Boxer	F St	Vulve	Négatif	Négatif	Négatif	ND	ND	2	ND	ND	Prédnisolone	Non	1020	Non	Mort brutale	1020

Toulouse, 2008

NOM : POLLE

Prénom : Florence

TITRE : PRONOSTIC DU MASTOCYTOME CUTANE CANIN ET BILAN D'EXTENSION. Etude rétrospective.

RESUME : Le mastocytome cutané canin est une des tumeurs les plus rencontrées par le vétérinaire praticien. Cette tumeur est imprévisible et peut se comporter de façon bénigne comme maligne. Un bilan d'extension est souvent réalisé lors de la première consultation du chien. Celui-ci comprend une cytoponction des nœuds lymphatiques, une échographie abdominale et une cytoponction du foie et de la rate ainsi qu'un examen du buffy-coat et de la moelle osseuse. Cette étude fait en première partie le bilan des moyens recensés dans la bibliographie pouvant aider à affiner le pronostic. En seconde partie, est étudiée l'influence des résultats du bilan d'extension sur le devenir de 48 chiens. Aucune différence significative n'est trouvée entre la survie des chiens ayant un bilan d'extension négatif et celle des chiens ayant un bilan positif, bien que ces derniers aient, dans cette étude, deux fois plus de risque de mourir de leur tumeur.

MOTS-CLES : MASTOCYTOME, PRONOSTIC, BILAN D'EXTENSION, CHIEN, CARNIVORE

ENGLISH TITLE : PROGNOSIS AND METASTASIS OF DOGS WITH MAST CELL TUMOURS. A retrospective study.

ABSTRACT : Mast cell tumour is one of the most common tumours of the dog. This tumour is often unpredictable and can be benign or malignant. A staging procedure is often done during the first consultation. The staging protocol includes fine-needle aspiration of lymph nodes, abdominal ultrasound, fine-needle aspiration of spleen and liver and examination of buffy-coat and bone marrow. The first part of this study reviews the prognostic factors for the outcome of dogs with mast cell tumours. In the second part, effects of metastasis on prognosis of 48 dogs with mast cell tumours are studied. No differences were found between survival dogs with metastasis and survival dogs without metastasis, although in this study, the death-rate for dogs with metastasis was twice as high, due to their tumour.

KEYWORDS : MAST CELLS TUMOUR, PROGNOSIS, STAGING, METASTASIS, DOG.